

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

FORSIKTIG: Bare til amerikansk eksport

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

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

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

TILTENKT BRUK

NeuMoDx EBV Quant Assay er en automatisert *in vitro* nukleinsyre-amplifikasjonstest for kvantifisering av humant Epstein-Barr-virus (EBV) DNA i plasma. NeuMoDx EBV Quant Assay som er implementert på NeuMoDx 288 Molecular System og NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)), inkorporerer automatisert DNA-ekstraksjon for å isolere målnukleinsyren fra plasma og sanntidspolymerasekjedereaksjon (Polymerase Chain Reaction, PCR) rettet mot to sterkt konserverte regioner i Epstein-Barr-virusgenomet.

NeuMoDx EBV Quant Assay er beregnet på *in vitro*-deteksjon og kvantifisering av Epstein-Barr-virus-DNA i ferske og frosne humane plasmaprøver ved bruk av NeuMoDx 288 og NeuMoDx 96 Molecular Systems. NeuMoDx EBV Assay er beregnet for bruk til diagnostisering og overvåking av EBV-infeksjoner. Analysen kan brukes til å måle EBV-DNA-nivåer for å vurdere respons på antiviral behandling. Denne analysen er beregnet for bruk sammen med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører for sykdomsforløp for klinisk håndtering og overvåking av EBV-infeksjon. Analysen er ikke beregnet for bruk som en screeningtest for tilstedeværelse av EBV i blod eller blodprodukter.

SAMMENDRAG OG FORKLARING

Humant fullblod samlet i sterile blodoppsamlingsrør som inneholder EDTA som et antikoagulasjonsmiddel, kan brukes til fremstilling av plasma. For å sette i gang testingen, blir plasma i et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System plassert i en prøverørstransportør og plassert på NeuMoDx Systems arbeidsbord. For hver prøve blir en 250 µl alikvot av plasmaprøven blandet med NeuMoDx Lysis Buffer 5, og NeuMoDx System utfører automatisk alle trinnene som er nødvendige for å ekstrahere målnukleinsyren, forberede det isolerte DNA-et for sanntids-PCR-amplifikasjon og, hvis til stede, amplifisere og detektere amplifikasjonsproduktene (to høyt konserverte regioner i EBV-genomet). NeuMoDx EBV Quant Assay er en DNA-prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1) som skal være med på å overvåke tilstedeværelse av potensielt hemmende stoffer, samt NeuMoDx System- eller reagenssvikt som kan oppstå under ekstraherings- og amplifikasjonsprosessen.

EBV er et vanlig dobbeltstrengt DNA-virus tilhørende den humane herpesvirusfamilien, som smitter mennesker i alle aldre. Det anslås at > 90 % av individer over hele verden er eller har blitt smittet med EBV.¹ EBV spres gjennom kroppsvæsker som spytt, blod, sæd og organtransplantasjoner. Mange blir smittet med EBV i barndommen. Disse individene er typisk asymptomatiske mens de er smittet med EBV. Immunkompromitterte mennesker kan utvikle mer alvorlige symptomer og komplikasjoner fra EBV-infeksjonen. Latent EBV-infeksjon utgjør den største risikoen for pasienter etter en transplantasjon. Lymfoproliferative lidelser (Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders, PTLDs) etter transplantasjon inkluderer EBV-drevet tumordannelse i B-celler på grunn av effekten av immunsuppressive midler på immunkontrollen av EBV, en av de viktigste årsakene til sykdom og dødelighet hos pasienter som gjennomgår noen form for organtransplantasjon.²

Bruken av EBV-viral belastningsovervåking letter diagnostiseringen og håndteringen av EBV-assosiert PTLD. Deteksjon av EBV-nukleinsyre i blod er imidlertid ikke tilstrekkelig for diagnosen av EBV-assosiert PTLD. Nukleinsyretesting (Nucleic Acid Testing, NAT) skal bare brukes i forbindelse med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører for sykdomsutvikling for klinisk behandling og overvåking av EBV-infiserte pasienter. Mens gjeldende retningslinjer for håndtering og behandling av EBV-infeksjoner hos immunkompromitterte individer er tvetydige når det gjelder *når* man skal starte antiviral terapi, krever de alle konstant overvåking av virusbelastningen når antiviral terapi er startet, for å hjelpe til med å dempe de alvorlige bivirkningene av medisiner i slike populasjoner.^{3,4}

PROSEDYREPRINSIPPER

NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx System bruker NeuMoDx EBV Quant Test Strip, NeuMoDx EBV Calibrators, NeuMoDx EBV External Controls, NeuMoDx Lysis Buffer 5 og NeuMoDx-reagenser til generell bruk for å utføre analysen. NeuMoDx EBV Quant Assay kombinerer automatisert DNA-ekstraksjon, -amplifikasjon og -deteksjon ved sanntids-PCR. Prøver av fullblod blir tatt i EDTA-rør for fremstilling av plasma. Plasmaprøven, i et prøverør kompatibelt med NeuMoDx System, blir plassert i en prøverørstransportør og plassert på NeuMoDx Systems arbeidsbord for behandling. Operatøren trenger ikke å gjøre noe mer.

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

NeuMoDx EBV Quant Assay retter seg mot to høyt konserverte regioner i EBV-genomet, BALF5 og BXFL1. Det doble måldesignet reduserer risikoen for falske negativiteter i tilfelle mutasjon, og øker dermed analysens robusthet. De amplifiserte målene detekteres i sanntid ved hjelp av hydrolyseprotektjemi (vanligvis kalt TaqMan®-kjemi) ved bruk av fluorogene oligonukleotidprotektjemi som er spesifikke for applikasjonene for deres respektive mål.

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

TaqMan-prober er utformet slik at de hybridiserer innenfor en DNA-region amplifisert av et spesifikt sett primere. Etter hvert som Taq DNA-polymerase forlenger primere og syntetiserer den nye tråden, bryter Taq DNA-polymerasens 5'- til 3'-eksonukleaseaktivitet ned proben som har hybridisert til målet. Degradering av proben frigjør fluorofor og forårsaker tap av nærhet til slukker, og overvinnet derved den slukkende effekten på grunn av FRET og tillater fluorescensdeteksjon av fluorofor. Det resulterende fluorescerende signalet som er detektert, er direkte proporsjonalt med fluorofor som frigjøres og kan korreleres med mengden mål-DNA som er til stede.

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

REAGENSER/FORBRUKSARTIKLER

Medfølgende materiale

REF	Innhold	Tester per enhet	Tester per pakke
201500	NeuMoDx EBV Quant Test Strip Tørkede PCR-reagenser som inneholder EBV- og SPC1-spesifikk TaqMan-probe og -primere.	16	96

Ytterligere materialer som er nødvendige, men ikke følger med (tilgjengelig separat fra NeuMoDx)

REF	Innhold
100200	NeuMoDx Extraction Plate Tørkede paramagnetiske partikler, lytisk enzym og prøveprosesskontroller
800500	NeuMoDx EBV Calibrators Engangssett med EBV høye og lave kalibratorer for å fastslå gyldigheten av standardkurven
900501	NeuMoDx EBV External Controls Engangssett med EBV positive og negative kontroller for å fastslå daglig gyldighet av NeuMoDx EBV Quant Assay
400900	NeuMoDx Lysis Buffer 5
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (300 µl) med filtre
235905	Hamilton CO-RE / CO-RE II Tips (1000 µl) med filtre

Nødvendige instrumenter

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

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

- NeuMoDx EBV Quant Assay er bare for *in vitro*-diagnostikk med NeuMoDx Systems.
- Prøver skal alltid håndteres som om de er smittefarlige og i samsvar med sikre laboratorieprosedyrer, f.eks. de som er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵ og i CLSI-dokument M29-A4.⁶
- Et positivt resultat indikerer forekomst av EBV-DNA.
- NeuMoDx EBV Quant Assay skal kun brukes av personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System og i håndtering av smittefarlige materialer.
- Bruk aldri reagensene eller forbruksartiklene etter angitt utløpsdato.

- Ikke bruk reagenser hvis sikkerhetsforseglingen er brutt, eller hvis emballasjen er skadet ved ankomst.
- Ikke bruk forbruksartikler eller reagenser hvis beskyttelsesposen er åpen eller brutt ved ankomst.
- En gyldig testkalibrering (generert ved behandling av høye og lave NeuMoDx EBV Calibrators [REF 800500]) må være tilgjengelig før testresultater kan genereres for kliniske prøver.
- NeuMoDx EBV External Controls (REF 900501) må behandles hver 24. time under hele testingen med NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Minste prøvevolum av sekundære alikvoter er avhengig av prøverørstørrelsen/prøverørstransportøren som definert nedenfor. Volum under spesifisert minimum kan føre til feilen «Quantity Not Sufficient» (Mengde ikke tilstrekkelig).
- Bruk av prøver som er oppbevart ved feil temperatur eller lenger enn de angitte lagringstidene, kan gi ugyldige eller feilaktige resultater.
- Unngå alltid mikrobiell og deoksyribonuklease (DNase) kontaminering av alle reagenser og forbruksartikler. Det anbefales bruk av sterile DNase-frie engangsoverføringspipetter. Bruk en ny pipette for hver prøve.
- For å unngå kontaminering må du ikke håndtere eller bryte fra hverandre eventuell NeuMoDx Cartridge etter amplifikasjon. NeuMoDx Cartridges skal ikke hentes opp fra beholderen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 288 Molecular System) eller boksen for biologisk farlig avfall (NeuMoDx 96 Molecular System) under noen omstendigheter. NeuMoDx Cartridge er beregnet på å hindre kontaminering.
- Hvis PCR-tester med åpne rør også blir utført av laboratoriet, må det påses at NeuMoDx EBV Quant Test Strip, samt ytterligere forbruksartikler og reagenser som kreves for testing, personlig verneutstyr som hansker og laboratoriefrakker, og NeuMoDx System ikke er kontaminert.
- Bruk rene, pulverfrie nitrilhansker ved håndtering av NeuMoDx-reagenser og -forbruksartikler. Vær forsiktig så du ikke berører den øverste overflaten på NeuMoDx Cartridge, folietetningsoverflaten på NeuMoDx EBV Quant Test Strip eller NeuMoDx Extraction Plate, eller den øverste overflaten av NeuMoDx Lysis Buffer 5-beholderen. Håndtering av forbruksvarer og reagenser skal kun gjøres ved berøring av sideflatene.
- Sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) kan fås på anmodning.
- Vask hendene grundig når testen er fullført.
- Ikke pipetter gjennom munnen. Ikke røyk, drikk eller spis i områder der prøver eller reagenser blir håndtert.
- Kasser ubrukte reagenser og avfall i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.

PRODUKTLAGRING, -HÅNDTERING OG -STABILITET

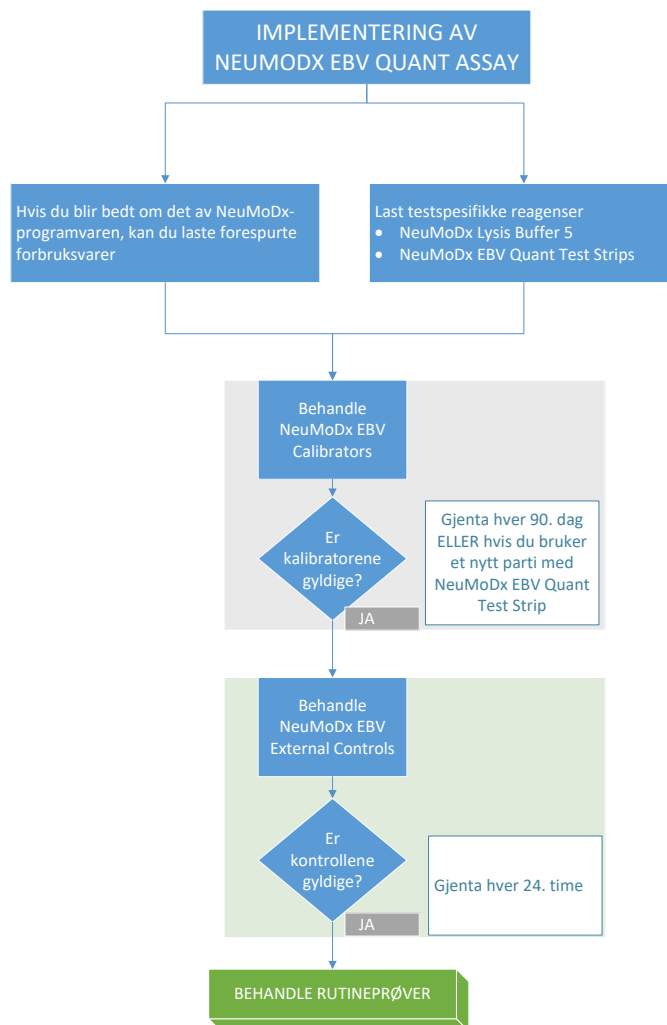
- NeuMoDx EBV Quant Test Strips er stabile i primæremballasjen innenfor angitt utløpsdato på produktetiketten når de lagres mellom 18 og 23 °C.
- Ikke bruk forbruksartikler og reagenser etter angitt utløpsdato.
- Ikke bruk testprodukt hvis primær- eller sekundæremballasjen er visuelt kompromittert.
- Ikke last inn igjen testprodukter som tidligere er lastet inn på et annet NeuMoDx System.
- Når NeuMoDx EBV Quant Test Strip er lastet inn, kan den forbli på NeuMoDx System i 14 dager. Gjenværende holdbarhet for innlastede teststrimler spores av programvaren og rapporteres til brukeren i sanntid. Systemet varsler når en teststrimmel som har vært i bruk utover tillatt periode, må fjernes.
- Selv om NeuMoDx EBV Calibrators og NeuMoDx EBV External Controls er ikke-infeksiøse må alt dette kasseres i beholderen for biologisk farlig avfall etter bruk for å redusere risikoen for kontaminering fra målnukleinsyren.

INNSAMLING, TRANSPORT OG OPPBEVARING AV PRØVE

Håndter alle prøver som om de kan overføre smittestoffer.

- Aldri frys fullblod eller prøver oppbevart i primærrør.
- Til klargjøring av plasmaprøver skal det tas fullblod i sterile rør, og EDTA skal brukes som antikoagulant. Følg anvisningene fra produsenten av prøvetakingsrøret.
- Fullblod samlet inn i enheter angitt ovenfor kan lagres og/eller transporteres i opptil 24 timer ved 2–25 °C før plasmaklargjøring. Plasmaklargjøring skal utføres ifølge produsentens anvisninger.
- Klargjorte plasmaprøver kan bli værende på NeuMoDx System i opptil 8 timer før behandling. Hvis ytterligere lagringstid er nødvendig, anbefales det at prøvene enten nedkjøles eller fryses.
- Klargjorte plasmaprøver skal lagres ved 2–8 °C i høyst 7 dager før testing og høyst 8 timer ved romtemperatur.
- Klargjorte plasmaprøver kan oppbevares ved < -20 °C i opptil 8 uker før behandling. Plasmaprøver bør ikke utsettes for mer enn 2 fryse-/tinesykluser før bruk.
 - Hvis prøver fryses, må disse få tine fullstendig ved romtemperatur (15–30 °C). Roter for å generere en jevnt fordelt prøve.
 - Når fryste prøver tines, skal testing skje innen 8 timer.
- Hvis prøver sendes, må de være pakket og merket i samsvar med gjeldende nasjonale og/eller internasjonale bestemmelser.
- Merk prøver tydelig og indiker at prøver er beregnet for EBV-testing.
- Gå videre til avsnittet Testklargjøring.

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



Figur 1: NeuMoDx EBV Quant Assay implementeringsarbeidsflyt

BRUKSANVISNING

Testklargjøring

1. Sett prøvestrekkodeetiketten på et prøverør som er kompatibelt med NeuMoDx System.
2. Overfør en delmengde av plasma til prøverøret med strekkoden som er kompatibel med NeuMoDx System i henhold til volumene angitt nedenfor:
 - Prøverørstransportør (32-rørs): 11–14 mm i diameter og 60–120 mm i høyde, minste fyllevolum ≥ 400 ml
 - Prøverørstransportør (24-rørs): 14,5–18 mm i diameter og 60–120 mm i høyde, minste fyllevolum ≥ 850 ml

Bruk av NeuMoDx System

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

1. Fyll én eller flere NeuMoDx System-teststrimmeltransportører med NeuMoDx EBV Quant Test Strips, og bruk trykkskjermen til å sette inn teststrimmeltransportøren(e) i NeuMoDx-systemet.
2. Hvis NeuMoDx System-programvaren ber deg om det, tilsetter du de nødvendige forbruksartiklene på NeuMoDx System-forbruksartikkeltransportører og bruker trykkskjermen til å laste transportørene inn i NeuMoDx System.
3. Hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren, må du erstatte NeuMoDx Wash Reagent, NeuMoDx Release Reagent, tømme primingavfallet eller beholderen for biologisk farlig avfall etter behov.
4. Hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvaren, behandler du Calibrators [REF 800500] og/eller External Controls [REF 900501] etter behov. Du finner mer informasjon vedrørende kalibratorer og kontroller i avsnittet *Resultatbehandling*.
5. Last prøve/kalibrator/kontrollrør(ene) inn i en standard 32-rørs transportør, og sikre at hettene fjernes fra alle prøverørene.
6. Plasser prøverørstransportøren i hvilken som helst tom posisjon på autoinnlasterhyllen, og bruk trykkskjermen til å laste transportøren inn i NeuMoDx System. Dette vil starte behandling av de lastede prøvene for de identifiserte testene.

BEGRENSNINGER

- NeuMoDx EBV Quant Test Strip kan bare brukes på NeuMoDx Systems.
- Ytelsen til NeuMoDx EBV Quant Test Strip er etablert for plasmaprøver fremstilt av helblod samlet med EDTA som antikoagulant. Bruk av NeuMoDx EBV Quant Test Strip sammen med andre kliniske prøvetyper er ikke vurdert, og ytelseegenskapene til testen er ukjent for andre prøvetyper.
- Siden deteksjon av EBV er avhengig av antall virus som er tilstede i prøven, er pålitelige resultater avhengig av riktig prøveinnsamling, håndtering og lagring.
- Kalibratorer og eksterne kontroller må behandles som anbefalt i pakningsvedleggene, og hvis du blir bedt om det av NeuMoDx System-programvare før rutinemessige kliniske prøver behandles.
- Feilaktige resultater kan oppstå som følge av feil innsamling, håndtering, lagring, teknisk feil eller feilidentifikasjon av prøverør. I tillegg kan falskt negative resultater forekomme fordi antallet virale partikler i prøven er under grensen for deteksjon av NeuMoDx EBV Quant Assay.
- Bruk av NeuMoDx System er begrenset til personell som har fått opplæring i bruk av NeuMoDx System.
- Hvis både EBV-målene og SPC1-målet ikke amplifiseres, rapporteres et ugyldig resultat (Indeterminate (ubestemt) eller Unresolved (uløst)) og testen bør gjentas.
- Hvis NeuMoDx EBV Quant Assay-resultatet er positivt, men kvantifiseringsverdien er over kvantifiseringsgrensene, vil NeuMoDx System rapportere hvorvidt detektert EBV var *under* nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) eller *over* øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- Hvis den detekterte EBV var under LLoQ, kan NeuMoDx EBV Quant Assay gjentas (hvis ønskelig) med en annen delmengde av prøven.
- Hvis den detekterte EBV er over ULoQ, kan NeuMoDx EBV Quant Assay gjentas med en fortennet delmengde av den originale prøven. Det anbefales en 1:100 eller 1:1000 fortykning i EBV-negativt plasma, eller Basematrix 53 Diluent (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). Systemet vil automatisk beregne konsentrasjonen av den originale prøven som følger: Opprinnelig prøvekonsentrasjon = Log_{10} (fortynningsfaktor) + rapportert konsentrasjon av den fortynnede prøven, så lenge fortynningsfaktoren er valgt riktig i programvaren før den gjentas.
- Sporadisk tilstedeværelse av PCR-hemmere i plasma kan føre til systemkvantifiseringsfeil. Hvis dette inntreffer, anbefales det å gjenta testen med samme prøve fortynnet i Basematrix 1:10 eller 1:100.
- Et positivt resultat indikerer ikke nødvendigvis tilstedeværelsen av en aktiv virusinfeksjon. Snarere er et positivt resultat antagelig for tilstedeværelsen av Epstein-Barr Virus DNA.
- Selv om muligheten er veldig liten, kan sletting eller mutasjoner i begge de bevarte områdene av EBV-genomet som NeuMoDx EBV Quant Assay rettes mot, påvirke deteksjon eller kan føre til et feilaktig resultat ved bruk av NeuMoDx EBV Quant Test Strip.
- Resultater fra NeuMoDx EBV Quant Assay bør brukes som et supplement til kliniske observasjoner og andre opplysninger tilgjengelig for legen. Testen skal ikke brukes til å diagnostisere infeksjon.
- God laboratoriepraksis, herunder skifte av hansker mellom håndtering av pasientprøver, anbefales for å unngå kontaminering.

RESULTATBEHANDLING

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

NeuMoDx EBV Quant Assay-resultater genereres automatisk av NeuMoDx System-programvaren ved å bruke beslutningsalgoritmen og resultatbehandlingsparametrene spesifisert i NeuMoDx EBV analysedefinisjonsfil (EBV ADF). Et NeuMoDx EBV Quant Assay-resultat kan rapporteres som Negative (Negativt), Positive (Positivt) med en rapportert EBV-konsentrasjon, Positive (Positiv) over ULoQ, Positive (Positiv) under LLoQ, Indeterminate (Ubestemt) eller Unresolved (Uløst) basert på amplifikasjonsstatus for målet og prøveprosesseringskontrollen. Resultater rapporteres basert på beslutningsalgoritmen i *tabell 1*.

Tabell 1: NeuMoDx EBV Quant Assay Beslutningsalgoritme

Resultat	EBV	Prøveprosesskontroll (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positiv)	$[2 \leq Ct \leq 9 \text{ AND (OG) } EPR > 2$ AND (OG) $EP \geq 1500]$ OR (ELLER) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (OG) } EP \geq 1500]$	I/R
Positive (Positiv), over øvre kvantifiseringsgrense [Upper Limit of Quantitation, ULoQ] (Log_{10} IE/ml)	[CONC] (KONS) $> 8,0 \text{ Log}_{10}$ IE/ml, NO QUANT (INGEN QUANT)	I/R
Positive (Positiv), under nedre kvantifiseringsgrense [Lower Limit of Quantitation, LLoQ] (Log_{10} IE/ml)	[CONC] (KONS) $< 2,3 \text{ Log}_{10}$ IE/ml, NO QUANT (INGEN QUANT)	I/R
Negative (Negativ)	I/R OR (ELLER) $[2 \leq Ct < 9 \text{ AND (OG) } EPR \leq 2]$ OR (ELLER) $[9 \leq Ct \leq 38 \text{ AND (OG) } EP < 1500]$ OR (ELLER) $Ct > 38$	AMPLIFIED (AMPLIFISERT) ($29 \leq Ct \leq 35$) and (og) $EP \geq 2000$
Indeterminate (Ubestemt)	NOT AMPLIFIED (IKKE AMPLIFISERT) / System Errors Noted (Systemfeil oppdaget)	
Unresolved (Uløst)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (IKKE AMPLIFISERT / ingen systemfeil oppdaget)	

EP = End Point Fluorescence (endepunktsfluorescens) (etter baselinekorrigerings); EPR = End Point Fluorescence Ratio (endepunktsfluorescensforhold); C_t = Cycling Threshold (Syklusterskel);

Quant = beregnet mengde EBV til stede uttrykt i Log_{10} IE/ml. Se Testberegning nedenfor.

Testberegning

- For prøver innenfor kvantifiseringsområdet for NeuMoDx EBV Quant Assay, blir konsentrasjonen av EBV-DNA i prøvene beregnet ved bruk av den lagrede standardkurven i forbindelse med kalibreringskoeffisienten.
 - En «kalibreringskoeffisient» er beregnet basert på resultatene fra NeuMoDx EBV Calibrators behandlet for å fastslå gyldigheten av standardkurven, for hvert parti av NeuMoDx EBV Quant Test Strips, på et spesifikt NeuMoDx System.
 - Kalibreringskoeffisienten blir automatisk integrert av systemet i den endelige bestemmelsen av konsentrasjonen av EBV-DNA.
- Resultatene av NeuMoDx EBV Quant Assay blir rapportert i Log_{10} IE/ml.
- Den resulterende kvantifiseringen av de ukjente prøvene kan spores til den første internasjonale WHO-standarden for Epstein-Barr Virus for nukleinsyre-amplifikasjonsteknikker.

Testkalibrering

For å kvantifisere EBV-DNA i prøvene er det nødvendig med en gyldig kalibrering basert på standardkurven. For å generere gyldige resultater må en testkalibrering fullføres ved hjelp av kalibratorer fra NeuMoDx Molecular, Inc.

Kalibratorer

- NeuMoDx EBV Calibrators leveres i et sett [REF 800500] og inneholder ikke-smittsomt innkapslet EBV-mål tilberedt i Basematrix.
- Et sett EBV Calibrators må behandles med hvert nye parti med NeuMoDx EBV Quant Test Strips, hvis en ny EBV-analysedefinisjonsfil blir lastet opp til NeuMoDx System, hvis det nåværende settet med kalibratorer har passert gyldighetsperioden (satt til 90 dager) eller hvis NeuMoDx System-programvaren er endret.
- NeuMoDx System-programvaren vil varsle brukeren når kalibratorene må behandles. Et nytt parti med teststrimler kan ikke brukes til testing før kalibratorene er blitt behandlet.

4. Kalibreringsgyldighet etableres på følgende måte:
 - a) Et sett med to kalibratorer – høy og lav – må behandles for å fastslå gyldighet.
 - b) For å generere gyldige resultater må minst 2 av de 3 replikatene gi resultater innenfor forhåndsdefinerte parametere. Det nominelle målet for lav kalibrator er $4 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ og det nominelle målet for høy kalibrator er $6 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$.
 - c) En kalibreringskoeffisient beregnes for å gjøre rede for forventet variasjon mellom teststrimmelpartier. Denne kalibreringskoeffisienten blir brukt til å bestemme den endelige EBV-konsentrasjonen.
5. Hvis en eller begge kalibratorer ikke klarer gyldighetskontrollen, gjentas behandlingen av de mislykkede kalibratorene ved å bruke et nytt hetteglass. I tilfelle en kalibrator mislykkes i gyldigheten, er det mulig å bare gjenta den mislykkede kalibratoren, da systemet ikke krever at brukeren kjører begge kalibratorene igjen.
6. Hvis kalibratorene ikke godkjennes i gyldighetskontrollen en andre etterfølgende gang, må du kontakte NeuMoDx Molecular, Inc.

Kvalitetskontroll

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

Eksterne kontroller

1. Eksternt kontrollmateriale, som inneholder ikke-smittsomt innkapslet EBV-mål i Basematrix for positive kontroller, er levert av NeuMoDx Molecular, Inc. i et sett som inneholder NeuMoDx EBV External Controls [REF 900501].
2. Positive og negative eksterne kontroller må behandles én gang hver 24. time. Hvis det ikke finnes et sett med gyldige eksterne kontroller, vil NeuMoDx System-programvaren gi brukeren beskjed om at disse kontrollene må behandles før prøveresultater rapporteres.
3. Hvis det er nødvendig med eksterne kontroller, kan du hente et sett med eksterne kontroller fra fryseren og la hetteglassene tine ved romtemperatur ($15\text{--}30 \text{ }^\circ\text{C}$). Roter forsiktig for å sikre homogenitet.
4. Bruk trykkskjermen og en prøverørstransportør plassert på autoinnlasterhyllene, og last de positive og negative kontrollhetteglassene inn i NeuMoDx System. NeuMoDx System vil gjenkjenne strekkoden og begynne å behandle prøverørene med mindre reagenser eller forbruksmaterieell som er nødvendig for testing ikke er tilgjengelig.
5. Gyldigheten til eksterne kontroller vil vurderes av NeuMoDx System basert på det forventede resultatet. Den positive kontrollen bør gi et EBV Positive (Positivt) resultat, og den negative kontrollen bør gi et EBV Negative (Negativt) resultat.
6. Håndtering av uoverensstemmende resultater for eksterne kontroller skal utføres på følgende måte:
 - a) Testresultatet Positive (Positivt) rapportert for en negativ kontrollprøve angir et prøvekontamineringsproblem.
 - b) Testresultatet Negative (Negativt) rapportert for en positiv kontrollprøve kan indikere at det er et reagens- eller instrumentrelatert problem.
 - c) I begge tilfeller over skal mislykket NeuMoDx EBV external control gjentas med et nytt hetteglass av kontrollen(e) som ikke klarer gyldighetstesten.
 - d) Hvis positiv NeuMoDx EBV External Control fortsetter å rapportere et Negative (Negativt) resultat, må du kontakte NeuMoDx kundeservice.
 - e) Hvis negativ NeuMoDx EBV External Control fortsetter å rapportere et Positive (Positivt) resultat, kan du forsøke å eliminere alle kilder til potensiell kontaminering, inkludert å erstatte ALLE reagenser og forbruksartikler før du kontakter NeuMoDx kundeservice.

(Interne) prøveprosesskontroller

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

Hvis en NeuMoDx EBV Quant Assay utført på NeuMoDx System ikke klarer å produsere et gyldig resultat, rapporteres det som enten Indeterminate (Ubestemt) (IND) eller Unresolved (Uløst) (UNR) basert på typen feil som oppsto.

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

Et UNR-resultat vil bli rapportert hvis ingen gyldig amplifikasjon av EBV-DNA eller SPC1 blir detektert, noe som indikerer mulig reagenssvikt eller tilstedeværelsen av hemmere. Hvis et UNR-resultat rapporteres, kan en ny test utføres på nytt som et første trinn. Hvis en ny test svikter, kan en fortennet prøve brukes til å dempe effektene av eventuell prøvehemming.

YTELSEEGENSKAPER

Analytisk sensitivitet – Deteksjonsgrense ved bruk av WHO-standarden

Den analytiske sensitiviteten til NeuMoDx EBV Quant Assay ble bekreftet ved å teste EBV-negative plasmaprøver tilsatt en lav fortykning av den første internasjonale WHO-standarden for EBV for nukleinsyre-amplifikasjonsteknikker. Denne bekreftelsestesten ble utført på den forventede deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) for NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx Systems ved 200 IE/ml. LoD ble definert som det laveste målnivået som ble oppdaget med en hastighet på $\geq 95\%$. Studien ble utført på tvers av flere systemer med kvalifiserte mengder NeuMoDx-reagenser. Deteksjonsrater vises i *tabell 2*.

Tabell 2: NeuMoDx EBV Quant Assay LoD Bestemmelse; Positiv deteksjonsrate for plasmaprøver

Målkonsentrasjon [IE/ml]	PLASMA		
	Antall gyldige tester	Antall positive	Deteksjonsrate
200	120	117	97,5 %
0	60	0	0 %

Analytisk sensitivitet - Nedre kvantifiseringsgrense (Lower Limit of Quantitation, LLoQ)

Den nedre kvantifiseringsgrensen (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) er definert som det laveste målnivået der $> 95\%$ deteksjon oppnås OG den totale analytiske feilen er (Total Analytical Error, TAE) $\leq 1,0$. For å bekrefte 200 IE/ml som både LoD og LLoQ for EBV Quant Assay, ble treffsatsstudien referanser brukt til å bestemme TAE. Denne beregnede TAE ble definert:

$$TAE = \text{skjevhet} + 2 * SD \text{ [Westgard-statistikk]}$$

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

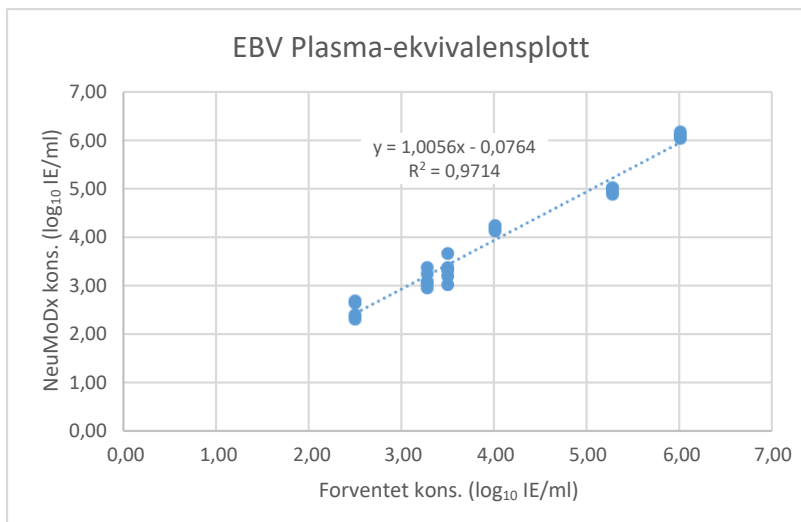
Tabell 3: NeuMoDx EBV Quant Assay LLoQ, med skjevhet og TAE

Målkons. [IE/ml]	Målkons. [Log_{10} IE/ml]	Plasma				
		Gjennomsnittlig kons. [Log_{10} IE/ml]	Deteksjon (%)	SD	Skjevhet	TAE
200	2,30	2,35	97,5	0,28	0,05	0,61

Basert på utfallet av disse studiene ble både LoD og LLoQ for NeuMoDx EBV Quant Assay bestemt til å være 200,0 IE/ml [$2,30 \text{ log}_{10}$ IE/ml].

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

Linearitet og bestemmelse av øvre kvantifiseringsgrense (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) for NeuMoDx EBV Quant Assay ble etablert i plasma ved å fremstille en fortykningsserie ved bruk av NeuMoDx innkapslet EBV-mål og nøyaktig EBV positiv kontroll (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) med etablert sporbarhet til den første internasjonale WHO-standarden for EBV. Et panel med 10 medlemmer ble fremstilt i samlet EBV-negativt plasma for å lage et panel som ville spenne over et konsentrasjonsområde på $2,0\text{--}8,0 \text{ Log}_{10}$ IE/ml. ULoQ for NeuMoDx EBV Quant Assay ble bestemt til å være $8,0 \text{ Log}_{10}$ IE/ml. Et bekreftelsespanel for å vurdere lineariteten til standardkurven ble utarbeidet, og EBV-analysekonsentrasjonene rapportert av NeuMoDx System sammenlignet med de forventede verdiene er presentert i *figur 2*.



Figur 2: Linearitet for NeuMoDx EBV Quant Assay

Analytisk spesifisitet – Kryssreaktivitet

Analytisk spesifisitet ble vist ved screening av 35 organismer som kan forekomme i blod-/plasmaprøver samt arter fylogenetisk tilsvarende EBV for kryssreaktivitet. Organismer med høy konsentrasjon ble fremstilt i grupper med 5–6 organismer. De testede organismene vises i *tabell 4*. Ingen kryss-reaktivitet ble observert med noen av organismene som ble testet, og bekreftet 100 % analytisk spesifisitet for NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabell 4: Patogener for visning av analytisk spesifisitet

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

Analytisk spesifisitet – Interfererende stoffer, kommensale organismer

NeuMoDx EBV Quant Assay ble evaluert for interferens i nærvær av ikke-målorganismer ved hjelp av de samme organismegruppene klargjort for kryssreaktivitetstesting angitt ovenfor i *tabell 4*. Negativt EBV-plasma ble tilsatt organismer samlet i grupper på 4–7, og disse gruppene ble deretter tilsatt EBV-mål i en konsentrasjon på 3 Log₁₀ IE/ml. Ingen signifikant interferens ble observert i nærvær av disse organismer som indikert ved minimal avvikelse av kvantifisering fra kontrollprøver som ikke inneholdt noe interfererende middel.

Analytisk spesifisitet – Forstyrrende stoffer, endogene og eksogene stoffer

NeuMoDx EBV Quant Assay ble evaluert i nærvær av typiske eksogene og endogene interfererende stoffer detektert i kliniske EBV-plasmaprøver. Disse inkluderte unormalt høye nivåer av blodkomponenter samt vanlige antiviralia og immunsuppressiva, klassifisert i *tabell 5*. Hvert stoff ble tilsatt screenet EBV-negativt humant plasma tilsatt 3 Log₁₀ IE/ml EBV, og prøvene ble analysert for interferens. I tillegg ble vanlig sykdomsstatus plasma assosiert med EBV-infeksjon testet for potensiell interferens. Gjennomsnittlig konsentrasjon og skjevhet for alle testede stoffer sammenlignet med kontrollprøver tilsatt samme nivå av EBV, er rapportert i *tabell 6*. Ingen av de eksogene og endogene stoffene påvirket spesifisiteten til NeuMoDx EBV Quant Assay.

Tabell 5: Interferenstesting – Eksogene stoffer (legemiddelklassifiseringer)

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

Tabell 6: Interferenstesting – eksogene og endogene stoffer

Endogene	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Hemoglobin	3,20	0,23
Triglyserider	3,15	0,28
Bilirubin	3,48	-0,05
Albumin	3,2	0,22
Eksogene (legemidler)	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Gruppe 1: Azatioprin, ciklosporin, foscarnet, gansiklovir, valgansiklovirhydroklorid	3,30	0,13
Gruppe 2: Prednison, cidofovir, cefotetan, cefotaksim, flukonazol	3,22	0,21
Gruppe 3: Mykofenolatmofetil, mykofenolatnatrium, piperacillin, sirolimus/rapamycin, tazobaktam	3,36	0,07
Gruppe 4: Trimetoprim, vankomycin, takrolimus, everolimus, klavulanatkalium	3,32	0,11
Gruppe 5: Famotidin, sulfametoksazol, letermovir, valgansiklovir, ticarcillin-dinatrium, leflunomid	3,47	-0,10
Sykdomsstatus	Gjennomsnittlig kons.	Skjevhet
	Log ₁₀ IE/ml	Log ₁₀ IE/ml
Systemisk lupus erythematosus (SLE)	3,23	0,20
Antinukleært antistoff (ANA)	3,33	0,10
Revmatoid artritt (RA)	3,19	0,24

Presisjon innenfor laboratoriet

Presisjonen til NeuMoDx EBV Quant Assay ble bestemt ved å teste 3 replikater av et 4-medlemspanel av EBV-prøver fremstilt med EBV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) tre ganger per dag ved bruk av to NeuMoDx 288-systemer og ett NeuMoDx 96 System over to dager. Presisjon innen kjøring, innen dag og innen system ble karakterisert, og det samlede standardavviket ble bestemt til å være $\leq 0,33 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$. Utmerket presisjon ble demonstrert på tvers av systemer, dager og kjøring som vist i *tabell 7*. Presisjon mellom operatører ble ikke karakterisert, ettersom operatøren ikke spiller noen vesentlig rolle i behandlingen av prøver på NeuMoDx System.

Tabell 7: Presisjon innenfor laboratoriet – NeuMoDx EBV Quant Assay på NeuMoDx Systems

Mål EBV kons. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	Gjennomsnittlig EBV kons. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	SD innen system	Innen dag-SD	Innen kjøring-SD	Totalt (innenfor laboratoriet) SD
5,2	5,30	0,27	0,25	0,25	0,27
4,2	4,25	0,21	0,21	0,12	0,21
3,2	3,38	0,22	0,20	0,20	0,22
2,7	3,03	0,30	0,30	0,30	0,33

Reproduserbarhet mellom partier

Reproduserbarhet mellom partier for NeuMoDx EBV Quant Assay ble bestemt ved å evaluere tre partier av viktige reagenser – NeuMoDx EBV Quant Test Strips og Lysis Buffer 5 – som en del av kvalifikasjonstesting (Qualification Testing, QT). Et panel med 4 medlemmer EBV-positivt plasma ble brukt til å vurdere ytelse (*tabell 8*). Variasjonen innen og på tvers av partier ble analysert og resultatene ble presentert i *tabell 8–9*. Maksimal total skjevhet var $0,03 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$, og maksimal samlet SD var $0,20 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ for NeuMoDx EBV Quant Assay-strimler. Maksimal total skjevhet var $0,12 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ og maksimal samlet SD var $0,41 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$ for NeuMoDx Lysis Buffer 5. Tilsvarende ytelse ble demonstrert på tvers av partier da kvantifisering av alle panelmedlemmer var innenfor toleransespesifikasjonen.

Tabell 8: Reproduserbarhet mellom partier – NeuMoDx EBV Quant Assay, Test Strip

Mål EBV kons. [IE/ml]	Gjennomsnittlig EBV kons. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	N (Gyldige resultater per parti)	Skjevhet	SD mellom partier	SD innen parti	Samlet SD
5,0	4,98	18	0,02	0,06	0,08	0,10
4,0	3,98	18	0,02	0,08	0,09	0,12
3,0	3,02	18	0,02	0,06	0,10	0,12
2,0	2,03	18	0,03	0,05	0,20	0,20

Tabell 9: Reproduserbarhet mellom partier – NeuMoDx EBV Quant Assay, Lysis Buffer 5

Mål EBV kons. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	Gjennomsnittlig EBV kons. [$\text{Log}_{10} \text{ IE/ml}$]	N (Gyldige resultater per parti)	Skjevhet	SD mellom partier	SD innen parti	Samlet SD
5,0	4,97	5	0,03	0,05	0,03	0,06
4,0	3,96	5	0,04	0,22	0,10	0,24
3,0	3,03	5	0,03	0,09	0,11	0,15
2,0	2,12	5	0,12	0,39	0,13	0,41

Effektivitet av prøveprosesskontroll

Prøveprosesskontrollen (Sample Process Control, SPC1) er inkludert i NeuMoDx EBV Quant Assay for å rapportere prosesstrinnsfeil eller hemming som påvirker analysens ytelse. Ved å bruke NeuMoDx CMV Quant Assay som modell ble effektiviteten til SPC1 testet for plasmaprøver under forhold som var representative for kritiske prosesseringstrinnfeil som potensielt kan oppstå under prøveprosessering og som *kanskje ikke blir oppdaget* av NeuMoDx Systems overvåkningssensorer. Cytomegalovirus-positiv prøver (ved $3 \text{ Log}_{10} \text{ IE/ml}$) og negative prøver ble utfordret under følgende betingelser: forekomst av hemmer, ingen wash-løsning levert og ingen vaskeutblåsning. Prosessineffektiviteter som hadde en negativ effekt på viral måldeteksjon/-kvantifisering ble speilet av ytelsen til SPC1-målet som vist i *tabell 10*. I alle testede tilfeller ble det demonstrert at prøveprosesskontrollen overvåket prosessineffektiviteten og tilstedeværelsen av hemmere tilstrekkelig, eller at den forventede prosessineffektiviteten ikke hadde en signifikant negativ effekt på SPC1-deteksjon eller viral måldeteksjon og kvantifisering. Derfor demonstrerte SPC1 suksess med å effektivt overvåke analyseprestasjoner på NeuMoDx System.

Tabell 10: Effektiviteten av prøveprosesskontrollen for viralt DNA i plasma*

Prosesstrinnsvikt testet	Amplifikasjonsstatus for prøveprosesskontroll 1	CMV-målampifikasjonsstatus	Analyseresultat
Presence of Inhibitor (Forekomst av hemmer)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Delivered (Ingen vaskeløsning levert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Not Amplified (Ikke amplifisert)	Unresolved (Uløst)
No Wash Blowout (Ingen vaskeutblåsning)	Amplified (Amplifisert)	Amplified (Amplifisert)	Positive (Positiv) med kvantifisering innenfor 0.3 Log ₁₀ IE/mL av kontroll

*Cytomegalovirus (CMV) i plasmaprøver ble brukt som modellsystem for prøveprosesskontrolleffektivitetsvurdering.

Krysskontaminering

Krysskontamineringshastigheten for plasmaprøver ble bestemt ved å behandle vekslende høye positive og negative prøver av et lignende blodbåret DNA-virus, Cytomegalovirus (CMV). Tre sett med slik sjakkbrett-testing ble utført med totalt 108 replikater av CMV-negativt plasma og 108 replikater av tilsatt CMV-plasma ved 6,0 Log₁₀ IE / ml. Alle 108 replikater av den negative prøven ble rapportert som negative, noe som viste at ingen krysskontaminering forekom under plasmaprøveprosessering på NeuMoDx System.

Prøvematriseekvivalens

Testing ble utført for å demonstrere ekvivalens mellom ferske og frosne plasmaprøver ved å bruke et lignende blodbåret virus, CMV, som modell. Ferske prøver ble holdt ved 4 °C inntil de ble tilsatt tre nivåer av CMV og testet for likeverdighet. Deretter ble prøvene fryst i minimum 24 timer ved -20 °C. Etter denne perioden med fryst oppbevaring ble prøvene tint og testet på nytt. Resultatene fra ferske kontra frosne plasmaprøver ble sammenlignet for ekvivalens ved regresjonsanalyse. Dataene viste en utmerket ekvivalens mellom ferske og frosne plasmaprøver med en helning på 1,0 og veldig lav skjævhets (skjæringspunkt), som presentert i *tabell 11* nedenfor.

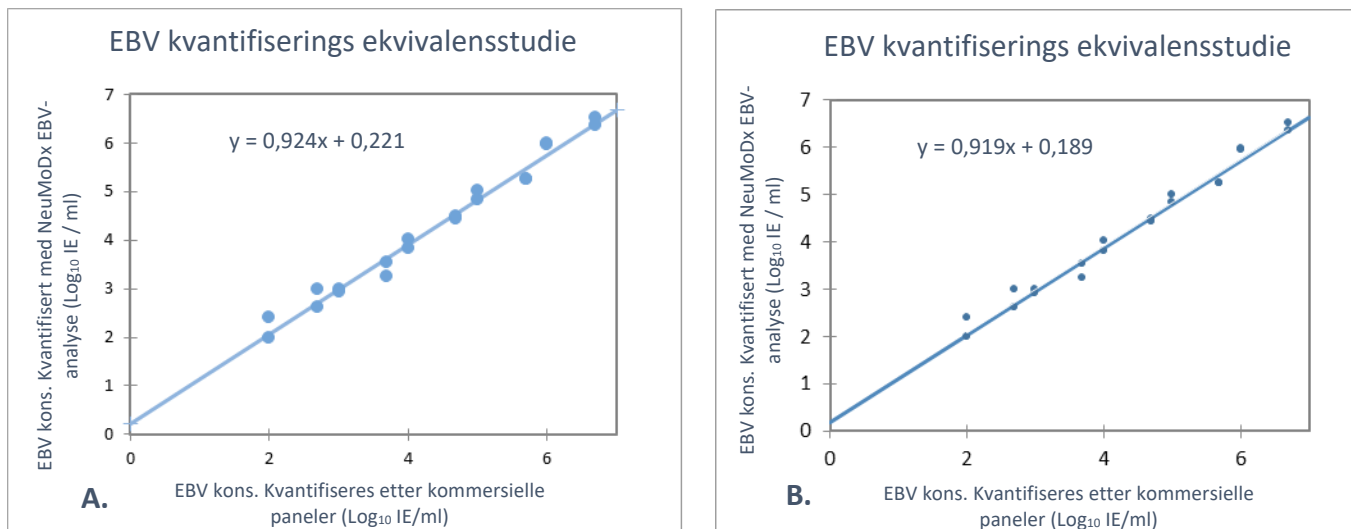
Tabell 11: Prøvematriseekvivalens

Parameterkrav	Fersk kontra fryst EDTA
Helling [0,9–1,1]	1,000
Skjæringspunkt < 0,5 Log ₁₀ IE/ml	0,020
p-verdi > 0,05	0,631

Karakterisering av kvantifiseringsytelsen

Den kvantitative ytelsen til NeuMoDx EBV Quant Assay ble karakterisert ved å behandle to kommersielle EBV-verifiseringspaneler fra AcroMetrix og Exact Diagnostics (sporbar til den første internasjonale WHO-Standarden for EBV) på NeuMoDx Molecular Systems.

Utmerket korrelasjon ble oppnådd mellom NeuMoDx EBV Quant Assay og de to kommersielle EBV-verifiseringspanelene (*figur 3*) når de ble analysert med enten Deming Regression (*figur 3A*) eller Passing-Bablok-metoden (*figur 3B*).



Figur 3. Ekvivalensplott mellom AcroMetrix og Exact Diagnostics verifikasjonspaneler og NeuMoDx EBV Quant Assay.
A. Lineær regresjonsanalyse ved bruk av Deming-metoden. B. Lineær regresjonsanalyse ved bruk av Passing-Bablok-metoden.

Kvaliteten på Deming Regression-passformen er illustrert med en samlet hellingskoeffisient på 0,92 og et skjæringspunkt (skjevhet) på 0,22, noe som viser at konsentrasjonsresultatene oppnådd mellom NeuMoDx EBV Quant Assay og EBV-verifikasjonspaneler er korrelert med akseptable skjevheter. Passing-Bablok lineær passform støtter også betydningen av korrelasjonen mellom resultatene oppnådd fra NeuMoDx EBV Quant Assay og EBV-verifikasjonspanelene med en samlet hellingskoeffisient på 0,92 og et skjæringspunkt (skjevhet) på 0,19. *P*-verdien av Passing-Bablok-analysen ble beregnet til å være 0,40.

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

Deming-analyse		Passing-Bablok-analyse	
Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient	Skjæringspunkt	Hellingskoeffisient
0,22	0,92	0,19	0,92
95 % CI (-0,11, 0,55)	95 % CI (0,86, 0,99)	95 % CI (-0,08, 0,41)	95 % CI (0,87, 0,99)

REFERANSER

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

VAREMERKER















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

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

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

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

SYMBOLER

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



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

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



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



Teknisk støtte / overvåkingsrapportering: support@qiagen.com

Patent: www.neumodx.com/patents