

Aptima® CMV Quant Assay

Til *in vitro*-diagnostisk brug

Kun til eksport fra USA

Generel information	2
Tilsløget anvendelse	2
Resume og forklaring af testen	2
Procedurens principper	2
Advarsler og forsigtighedsregler	3
Reagensopbevaring og håndteringskrav	6
Prøvetagning og -forberedelse	7
Prøver på det integrerede Panther-system	10
Prøvetransport	10
Panther System	11
Vedlagte reagenser og materialer	11
Påkrævede materialer, der fås separat	13
Valgfri materialer	14
Testprocedure til Panther System	14
Procedurenoter	20
Kvalitetskontrol	21
Kalibrering af assayet	21
Negative og positive kontroller	21
Intern kalibrator/intern kontrol	21
Fortolkning af resultater	22
Begrænsninger	23
Præstation	24
Detektionsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard	24
Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper	26
Lineært område	27
Linearitet på tværs af CMV-genotyper	29
Nedre kvantificeringsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard	31
Bestemmelse af den nedre kvantificeringsgrænse på tværs af CMV-genotyper	34
Reproducerbarhed	38
Potentielt interfererende stoffer	39
Specificitet	40
Analytisk specificitet	41
Korrelation mellem metoder	42
Overførsel	43
Bibliografi	44

Generel information

Tilsvaret anvendelse

Aptima CMV Quant Assay er en in vitro nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af humant cytomegalovirus-DNA i humant EDTA-plasma og fuldblod på det fuldautomatiske Panther-system.

Aptima CMV Quant Assay er beregnet til brug for at hjælpe med diagnosen og til at hjælpe med håndtering af organtransplanteret patienter og hæmatopoietiske stamcelletransplantationspatienter.

Aptima CMV Quant Assay er ikke beregnet til brug som screeningassay for tilstedeværelsen af CMV i blod eller blodprodukter.

Resume og forklaring af testen

Humant CMV er et almindeligt forekommende, lineær dobbeltstrenget DNA-virus på 240 kb, der hører til herpesfamilien. Afhængig af den undersøgte population og den geografiske region varierer CMV-seroprævalens fra 45 til 100 %¹² på verdensplan. I immunkompetente værter er CMV-infektion generelt asymptomatisk og selvbegrænset. Hos immunkompromitterede individer, såsom transplantatmodtagere og personer, der er inficeret med human immundefektvirus, er CMV imidlertid en vigtig årsag til sygdom og dødelighed.

I lighed med andre herpesviraer etablerer CMV efter primær infektion en livslang latent infektion, der sporadisk kan genaktiveres. Hos transplantatmodtagere kan overførsel af latent CMV i transplantat eller genaktivering af latent CMV-infektion i værten resultere i udbredt viral replikation og spredning til flere organer, hvilket ofte er livstruende.³

Kvantitativ nukleinsyreamplifikationstest er den foretrukne metode til overvågning af CMV-infektion og sygdom hos transplantationsmodtagere, fordi den er hurtig og følsom.⁴ Nylige retningslinjer anbefaler mindst ugentlig overvågning af CMV-virusbelastning for at styre beslutninger om at starte anti-CMV-terapi og for at overvåge respons på terapi.^{5,6,8} Generelt er højere virale belastningsværdier korreleret med øget risiko for CMV-sygdom.^{4,9} CMV-DNA i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører er afgørende i behandlingen af patienter med CMV-infektion.

Procedurens principper

Aptima CMV Quant-analysen er en in vitro-nukleinsyreamplifikationstest, der bruger realtidsbaseret transkriptionsmedieret amplifikationsteknologi (TMA) på Panther-systemet* til at kvantificere CMV-DNA, genotype 1, 2, 3 og 4. Primer-designet retter sig mod det stærkt konserverede UL56-gen for at sikre nøjagtig kvantificering af CMV-DNA'et. Analysen er standardiseret til 1. WHO International Standard (NIBSC-kode: 09/162) til humant cytomegalovirus²¹.

Aptima CMV Quant-analysen involverer tre hovedtrin, som finder sted i et enkelt rør på Panther-systemet: target capture, target amplifikation ved TMA og påvisning af amplifikationsprodukterne (amplikon) af de fluorescerende mærkede prober (torches).

*Inklusive varianter af Panther-systemet.

Under target capture isoleres virus DNA fra prøverne. Prøven behandles med detergent for at opløse viruskappen, denaturere proteiner og frigøre viralt genomisk DNA. Capture-oligonukleotider hybridiserer til stærkt konserverede områder af CMV DNA, hvis de er til stede, i testprøven. Det hybridiserede target indfanges derefter på magnetiske mikropartikler, der separeres fra prøven i et magnetisk felt. Vasketrinene fjerner uvedkommende komponenter fra reaktionsrøret.

Targetamplifikation sker via TMA, som er en transkriptionsbaseret nukleinsyreamplifikationsmetode, der benytter to enzymer, Moloney murint leukæmivirus (MMLV) reverse transkriptase og T7 RNA-polymerase. Reverse transkriptase bruges til at danne en DNA-kopi (indeholdende en promotersekvens for T7 RNA-polymerase) af targetsekvensen. T7 RNA-polymerase producerer flere kopier af RNA-amplikon fra DNA-kopiskabelonen.

Detektion opnås ved brug af enkeltstrengede nukleinsyre-torches, som er til stede under amplifikation af targetet, og som hybridiserer specifikt til amplikonet i realtid. Hver torch har en fluorofor og en quencher. Når torch'en ikke er hybridiseret til amplikonet, ligger quencheren tæt på fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når torchen binder sig til amplikonet, bevæges quencheren længere væk fra fluoroforen, som udsender et signal ved en bestemt bølgelængde, når den exciteres af en lyskilde. Samtidig med at flere torches hybridiserer til amplikonet, dannes der et højere fluorescenssignal. Den tid, det tager for fluorescenssignalet at nå en specificeret tærskel, er proportional med den startende CMV-koncentration. Hver reaktion har en intern kalibrator/intern kontrol (IC), der kontrollerer variationer i prøvebehandling, amplifikation og detektion. Koncentrationen af en prøve bestemmes af Panther-systemsoftwaren ved hjælp af CMV- og IC-signalerne for hver reaktion og sammenligner dem med kalibreringsinformation.

Analyseresultater konverteres fra kopier/ml til IE/ml ved hjælp af en konverteringsfaktorligning indlejret i Panther-softwaren. Den samme konverteringsfaktorligning bruges til både fuldblod- og plasmaprøver. En fortyndingsfaktor på 4 anvendes til CMV-virale belastningsresultater for fuldblodsprøver, når fuldblodskonverteringsfaktor er valgt på Panther.

Advarsler og forsigtighedsregler

- A. Til *in vitro* diagnostisk brug.
- B. Til professionel brug.
- C. For at reducere risikoen for ugyldige resultater, skal du læse hele indlægssedlen og den relevante betjeningsvejledning til Panther/Panther Fusion System, før du udfører denne analyse.

Laboratoriesrelateret

- D. **FORSIGTIG:** Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1- og HIV-2- og HIV-antigen ved testning med procedurer godkendt af USA's Food and Drug Administration. Derudover er plasmaet ikke-reaktivt for CMV DNA, HBV DNA, HCV RNA og HIV-1 RNA, når det testes med licenserede nukleinsyretest ved hjælp af samlede prøver. Alt materiale fra humant blod skal betragtes som potentielt smitsomt og skal håndteres med universelle forholdsregler.^{10,11,12}

- E. Kun personale, der er tilstrækkeligt uddannet i brugen af Aptima CMV Quant-analyse og i håndtering af potentielt infektiøse materialer, må udføre denne procedure. Hvis der forekommer spild, skal området straks desinficeres ifølge gældende procedurer på stedet.
- F. Brug kun medfølgende eller specificeret laboratoriemateriale til engangsbrug.
- G. Rutinemæssige laboratorieforholdsregler skal følges. Der må ikke pipetteres med munden. Der må hverken spises, drikkes eller ryges i arbejdsområdet. Brug engangshandsker uden puder, beskyttelsesbriller og laboratoriekittel ved håndtering af prøver og kitreagenser. Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser.
- H. Arbejdsflader, pipetter og andet udstyr skal regelmæssigt dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning.
- I. Bortskaf alt materiale, der er kommet i kontakt med prøver og reagenser i henhold til lokale, statslige og føderale regler.^{10,11,12,13} Rengør og desinficér alle arbejdsflader grundigt.
- J. Kontrollerne indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Brug ikke metalrør til overførsel af reagens. Hvis opløsninger, der indeholder natriumazidforbindelser, skal bortskaffes i en vvs-installation, skal de fortyndes og skylles med rigelige mængder vand fra hanen. Disse forholdsregler anbefales for at undgå ophobning af aflejringer i metalrør, hvor der kan opstå eksplosionsfarlige forhold.
- K. God standardpraksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervågning. Til overvågning af miljøet på laboratoriet anbefales følgende:
 - 1. Benyt en podepind med vatspids og Aptima rør til prøvealiquot (SAT).
 - 2. Forsyn hvert SAT med en etiket.
 - 3. Fyld hvert SAT med 1 ml Aptima-prøvefortynder.
 - 4. Til indsamling af overfladeprøver fugtes en podepind let med nukleasefrit demineraliseret vand.
 - 5. Pod den pågældende overflade med en lodret bevægelse fra top til bund. Drej podepinden ca. en halv omgang, samtidig med at stedet podes.
 - 6. Placér straks prøven i røret, og hvirvl forsigtigt podepinden i fortynderen for at ekstrahere potentielt podede materialer. Klem podepinden op imod siden af transportrøret for at klemme så meget væske ud af den som muligt. Bortskaf podepinden, og sæt hætte på røret.
 - 7. Gentag disse trin for de resterende podninger.
 - 8. Test podningen med et molekylært assay.





Prøverelateret

- L. Prøver kan være infektiøse. Brug universelle forholdsregler^{10,11,12} ved udførelse af denne analyse. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder skal etableres i henhold til lokale regler.¹¹ Kun personale, der er tilstrækkeligt uddannet i brugen af Aptima CMV Quant-assayet og uddannet i håndtering af infektiøse materialer, må udføre denne procedure.
- M. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.
- N. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

Assay-relateret

- O. Brug ikke reagenskittet, kalibratoren eller kontrollerne efter udløbsdatoen.
- P. Assayreagenser fra kit med forskellige hovedlotnumre må ikke udskiftes, blandes eller kombineres. Assayvæsker kan være fra forskellige lotnumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra forskellige lotnumre.
- Q. Undgå mikrobiel og nukleasekontaminering af reagenser.
- R. Sæt hætte på, og opbevar alle assayreagenser ved de specificerede temperaturer. Assayets præstation kan påvirkes, hvis der anvendes forkert opbevarede assayreagenser. Se *Reagensopbevaring og håndteringskrav* og *Testprocedure til Panther System* for flere oplysninger.
- S. Kombinér ikke assayreagenser og væsker uden specifikke anvisninger. Tilføj ikke yderligere reagens eller væske. Panther System verificerer reagensniveauerne.
- T. Undgå at TER kommer i kontakt med hud, øjne og slimhinder. Vask med vand, hvis kontakt med dette reagens forekommer. Fortynd med vand, og følg gældende procedurer på stedet, hvis der forekommer spild af dette reagens.
- U. Visse af reagenserne i dette kit er mærket med risiko- og faresymboler.

Bemærkning: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For oplysninger om farekommunikation, der er specifikke for din region, henvises til det regionspecifikke sikkerhedsdatablad på sikkerhedsdatabladbiblioteket på www.hologicsds.com

EU-fareoplysninger	
	<p>CMV Kit-kontroller <i>Humant plasma 95-100 %</i> <i>Natriumazid < 1 %</i></p>
	<p>ADVARSEL H312 – skadeligt ved kontakt med huden H412 – skadeligt for vandlevende organismer, med langvarige virkninger EUH032 - Ved kontakt med syrer frigøres meget giftig gas P273 – undgå udledning til miljøet P280 - Brug øjenværn/ansigtsværn.</p>
	<p>Target Enhancer-reagens (TER) <i>Lithiumhydroxid monohydrat 5-10 %</i></p>
	<p>FARE H302 – farlig ved indtagelse H314 – forårsager svære hudforbrændinger og øjenskader P260 - Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P280 – bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse P303 + P361 + P353 – HVIS DET KOMMER PÅ HUDEN (eller i håret): Fjern/tag straks alt kontamineret tøj af. Skyl huden under rindende vand P305 + P351 + P338 – HVIS DET KOMMER I ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern kontaktlinser, hvis de stadig er i øjnene og er nemme at fjerne. Fortsæt med at skylle. P310 – ring omgående til GIFTLINJEN, eller søg læge</p>

Reagensopbevaring og håndteringskrav

- A. Følgende tabel viser opbevaringsbetingelser og stabilitet for reagenser, kontroller og kalibrator.

Reagens	Opbevaring i uåbnet stand	Åbnet kit (rekonstitueret)	
		Opbevaring	Stabilitet
qCMV-amplifikationsreagens	2 °C til 8 °C		
qCMV-amplifikationsrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qCMV-enzymreagens	2 °C til 8 °C		
qCMV-enzymrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qCMV-promotorreagens	2 °C til 8 °C		
qCMV-promotorrekonstitutionsopløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qCMV Target Capture-reagens	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dage ^a
qCMV PCAL (positiv kalibrator)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 24 timer
qCMV NC CONTROL – (negativkontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 24 timer
qCMV LPC CONTROL + (lav positivkontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 24 timer
qCMV HPC CONTROL + (høj positivkontrol)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hætteglas til engangsbrug Bruges inden for 24 timer
qCMV Target Enhancer-reagens	15 °C til 30 °C	15 °C til 30 °C	30 dage ^a

^a Når reagenserne fjernes fra Panther System, skal de straks returneres til deres korrekte opbevaringstemperaturer.

- B. Kassér ubrugte rekonstituerede reagenser, target capture-reagens (TCR) og target enhancer-reagens (TER) efter 30 dage eller efter Master Lot-udløbsdatoen, alt efter hvad der kommer først.
- C. Reagenser opbevaret i Panther System er stabile i 96 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther System op til 8 gange. Panther System registrerer hver gang, der isættes reagenser.
- D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklar eller have udfældninger.
- E. Det lyofiliserede promotorreagens og rekonstituerede promotorreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.
- F. QCMV Target Enhancer-reagens skal være ved 15 °C til 30 °C inden brug.

Prøvetagning og -forberedelse

Bemærkning: Håndtér alle prøver, som om de indeholder potentielt smitsomme stoffer. Overhold de generelle forholdsregler.

Bemærkning: Udvis forsigtighed for at undgå krydskontaminering under prøvehåndtering. Bortskaf fx brugte materialer uden at føre dem hen over åbne rør.

Bemærkning: Kun sekundære plastrør anbefales til opbevaring af prøver.

fuldblodsprøver opsamlet i følgende glas- eller plastrør kan bruges til at fremstille plasma:

- Rør indeholdende EDTA-antikoagulantia
- Plasma-forberedelsesglas (Plasma Preparation Tubes, PPT'er).

A. Prøvetagning

1. Plasma: Fuldblod kan opbevares ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer efter prøvetagning. Adskil plasmaet fra de pelletterede røde blodlegemer ved at følge producentens instruktioner for det anvendte rør. Plasma kan testes på Panther-systemet i et primært rør eller overføres til et sekundært rør, såsom et Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT). For at opnå 500 µL prøvevolumen er minimumsvolumen af plasma for primære opsamlingsrør op til 1200 µL. For sekundære rør er minimumsvolumenet 700 µL for at opnå 500 µL prøvevolumen. Nedenstående tabel angiver kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør.

Rør (størrelse og type)	Dødvolumen på Panther
Aptima-rør til prøvealiquot (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm med gel	0,3 mL
16 x 100 mm med gel	0,7 mL

Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma lægges til opbevaring i overensstemmelse med nedenstående specifikationer. Hvis plasma overføres til et sekundært rør, kan det nedfryses ved -20 °C eller -70 °C. Overskrid ikke 3 nefrysningsoptøningscyklusser. Nedfrys ikke plasmaprøver i EDTA-primære opsamlingsrør.

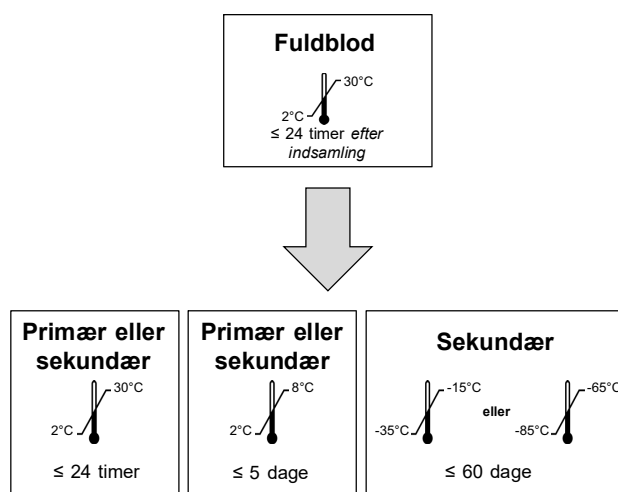
2. Fuldblod skal behandles ved hjælp af forudfyldte fuldblodfortyndende rør, før de testes på Panther-systemet. Overskrid ikke 3 fryse-optøningscyklusser for uforarbejdede helblodsprøver.

B. Betingelser for opbevaring af prøver

1. EDTA-plasmaprøver

Fuldblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Plasma kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

- I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer
- I primærprøvetagningsrør eller sekundærrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I sekundærrør ved -20 °C eller -70 °C i op til 60 dage.

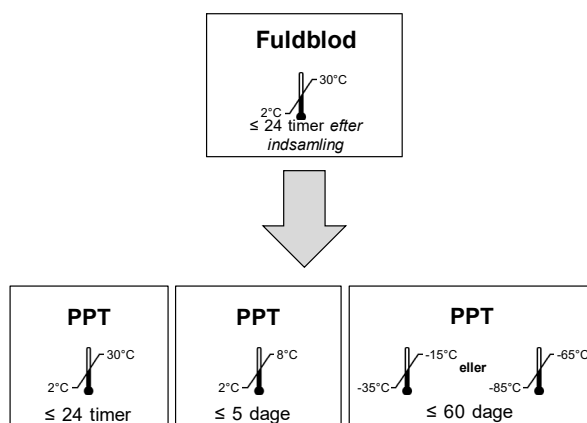


Figur 1. Opbevaringsbetingelser for EDTA-rør

2. PPT-prøver

Fuldblod kan lagres ved 2 °C til 30 °C og skal centrifugeres inden for 24 timer fra prøvetagningen. Plasma kan derefter opbevares under én af de følgende betingelser:

- I PPT eller SAT ved 2 °C til 30 °C i op til 24 timer,
- I PPT ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I PPT ved -20 °C eller -70 °C i op til 60 dage.

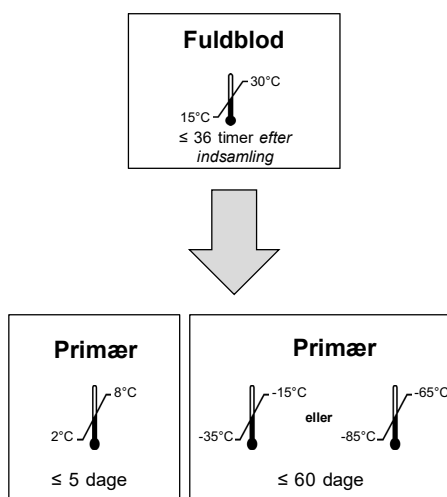


Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er

3. Fuldblodsprøver

Fuldblod kan lagres ved 15 °C til 30 °C i op til 36 timer fra prøvetagningen. Fuldblodsprøver kan opbevares under én af de følgende betingelser:

- I det primære opsamlingsrør ved 2 °C til 8 °C i op til 5 dage eller
- I det primære opsamlingsrør ved -20 °C eller -70 °C i op til 60 dage.



Figur 3. Opbevaringsbetingelser for helblodsprøver

Prøver på det integrerede Panther-system

Plasme og behandlede fuldblodsprøver kan efterlades på Panther System uden hætte i op til 8 timer i alt. Prøver kan fjernes fra Panther System og testes, så længe den samlede tid på systemet ikke overstiger 8 timer, før Panther System pipetterer prøven.

Prøvetransport

Overhold betingelserne for opbevaring af prøver, som beskrevet i *Prøvetagning og -forberedelse*.

Bemærkning: *Prøver skal forsendes i henhold til gældende nationale, internationale og regionale transportregulativer.*

Panther System

Reagenserne til Aptima CMV Quant Assay er angivet herunder for Panther System.
Reagensidentifikationssymbolerne er ligeledes angivet ved siden af reagensbetegnelsen.

Vedlagte reagenser og materialer

Aptima CMV Quant Assay Kit,, 100 tests (kat. nr. PRD-05074)
(1 assayæske, 1 kalibratorkit og 1 kontrolkit og 1 æske med Target Enhancer-reagens)

Aptima CMV Quant Assay-æske
(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
A	qCMV-amplifikationsreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
E	qCMV-enzymreagens <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørret i HEPES bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
PRO	qCMV-promotorreagens <i>Ikke-infektiose nukleinsyrer tørret i bufferopløsning.</i>	1 hætteglas
AR	qCMV-amplifikationsrekonstitutionsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qCMV-enzymrekonstitutionsopløsning <i>HEPES bufferopløsning, der indeholder et overfladeaktivt stof og glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qCMV-promotorrekonstitutionsopløsning <i>Vandig opløsning indeholdende glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qCMV Target Capture-reagens <i>Nukleinsyrer i en buffersaltopløsning indeholdende fastfase, ikke-infektiose nukleinsyrer og intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitueringsmanchetter	3
	Stregkodeliste for hovedlot	1 liste

Aptima CMV Quant Calibrator Kit (kat. nr. PRD-05075)
(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
PCAL	qCMV positiv kalibrator <i>Plasmid DNA i bufferopløsning</i>	5 x 2,5 ml
	Kalibratorens stregkode	—

Aptima CMV Quant Controls Kit (kat. nr. PRD-05076)

(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
NC	qCMV negativ kontrol <i>CMV-negativt defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qCMV lav positiv kontrol <i>Inaktiveret CMV-negativt defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qCMV høj positiv kontrol <i>Inaktiveret CMV-negativt defibrineret humant plasma indeholdende gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
	Kontrollens stregkode	—

Æske med Aptima CMV Quant Target Enhancer-reagens

(opbevares ved 15 °C til 30 °C ved modtagelsen)

Symbol	Komponent	Kvantitet
TER	qCMV Target Enhancer-reagens <i>En koncentreret opløsning af lithiumhydroxid.</i>	1 x 46,0 ml

Påkrævede materialer, der fås separat

Bemærkning: For materialer, der fås fra Hologic, er katalognummeret anført, medmindre andet er angivet.

Materiale	Kat. nr.
Panther® System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (Panther-kørselskit til realtids-assays) (kun til realtids-assays)	PRD-03455 (5000 tests)
<i>Aptima® Assay Fluids Kit (også kendt som Universal Fluids Kit)</i> <i>indeholder Aptima Wash Solution (skylleopløsning, Aptima Buffer for</i> <i>Deactivation Fluid (buffer til deaktiveringsvæske),</i> <i>Aptima Oil Reagent (Aptima oliereagens)</i>	303014 (1000 tests)
<i>Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU'er)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit (affaldsposekit)</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover (Panther affaldsbin-afdækning)</i>	504405
Eller Panther System Run Kit (Panther System kørselskit) (ved kørsel af ikke-realtids TMA assays parallelt med realtids TMA assays) <i>indeholder MTU'er, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder,</i> <i>automatisk detektion og assayvæsker</i>	303096 (5000 tests)
Rør til fuldblodsfortynder (kun til behandling af fuldblodsprøver)	PRD-06783 (100 fyldte rør pr. pose)
Spidser, 1000 µl ledende, væskeregistrerende	10612513 (Tecan)
Blegemiddel 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker uden pudder	—
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Massive udskiftningshætter fra Hologic (rørhætte til engangsbrug til behandling af fuldblod)	PRD-06720
Udskiftningshætter til reagens <i>Amplifikations-, enzym- og promotorreagens</i> <i>Rekonstitutionsflasker CL0041 (100 hætter)</i> <i>TCR-flaske CL0040 (100 hætter)</i> <i>TER-flaske 903302 (100 hætter)</i>	
Beskyttelsepapir til laboratoriebord med plastikbagside	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—
Indstillinger for primær opsamlingsrør (EDTA og PPT): <i>13 mm x 100 mm</i> <i>13 mm x 75 mm</i> <i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Der kan anvendes følgende sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-rør til prøvealiquot (SATs) (100 stk.)	503762
Hætte til transportrør (100 stk.) hætte til SAT	504415
Aptima prøvefortynder	PRD-03003
Aptima prøvefortynderkit indeholder Aptima prøvefortynding, 100 SAT'er og 100 hætter	PRD-03503
Overførselspipetter	—
Podepinde med vatspids	—
Reagensglasryster	—

Testprocedure til Panther System

Bemærkning: Se Brugervejledning til Panther System Panther Fusion System for yderligere oplysninger om proceduren.

A. Forberedelse af arbejdsområde

1. Rengør de arbejdsoverflader, hvor reagenser skal klargøres. Tør arbejdsoverfladerne af med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypochloritopløsning. Lad natriumhypochloritopløsningen blive på overfladerne i mindst 1 minut, og skyl dernæst efter med deioniseret (DI) vand. Natriumhypochloritopløsningen må ikke tørre. Dæk bordoverfladen med rene, absorberende afdækningsstykker med plastbagbeklædning til laboratoriebord.
2. Rengør en separat arbejdsflade, hvor prøverne skal klargøres. Følg proceduren, beskrevet herover (trin A.1).
3. Rengør eventuelle pipetter. Følg rengøringsproceduren, beskrevet herover (trin A.1).

B. Klargøring af kalibrator og kontroller

Lad kalibratoren og kontrollerne nå 15 °C til 30 °C før følgende behandling:

1. Fjern kalibrator og kontroller fra opbevaring (-15 °C til -35 °C), og placér dem i temperaturer fra 15 °C til 30 °C. Vend forsigtigt op og ned på hvert rør under optøningen, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørens indhold er tørt helt op inden brug.

Valgmulighed. Kalibrator og kontrolrør kan lægges i et vendeapparat, så de blandes grundigt. Sørg for, at rørens indhold er tørt helt op inden brug.

Bemærkning: Sørg for, at der ikke dannes for kræftigt skum, når kalibratoren og kontrollerne vendes op og ned. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther System.

2. Når rørets indhold er tørt op, skal ydersiden af røret tørres af med en ren og tør engangsserviet.
3. Åbn ikke rørene endnu for at undgå kontamination.

C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

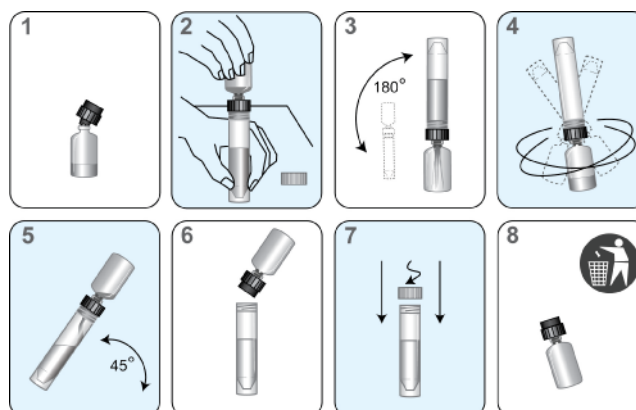
Bemærkning: Rekonstituering af reagenser bør udføres, inden der påbegyndes arbejde på Panther System.

1. Target capture reagens (TCR) klargøres på følgende måde:
 - a. Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Kontrollér lotnummeret på TCR-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
 - b. Omryst straks TCR-flasken kraftigt 10 gange. Lad TCR-flasken blive i temperaturer på 15 °C til 30 °C for at varme flasken op i mindst 45 minutter. Inden for dette tidsrum skal TCR-flasken vendes op og ned mindst hver 10. minutter.

Valgmulighed. TCR-flasken kan klargøres på et vendeapparat på følgende måde: Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C), og ryst straks omhyggeligt 10 gange. Placér TCR-flasken i et vendeapparat, og efterlad TCR-flasken ved 15 °C til 30 °C til opvarmning i mindst 45 minutter.
 - c. Sørg for, at alle udfældninger opløses, og at de magnetiske partikler suspenderes før brug.
2. Til rekonstituering af amplifikations-, enzym- og promoterreagens gøres følgende:
 - a. Fjern de frysetørrede reagenser og tilhørende rekonstitueringsopløsninger fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Anbring hver enkelt rekonstitutionsopløsning parvist med det tilhørende frysetørrede reagens.
 - b. Kontrollér, at rekonstitueringsopløsningen og det frysetørrede reagens har matchende etiketfarver. Kontrollér lotnumrene på stregkodelisten for hovedlot for at sikre, at de korrekte reagenser er grupperet.
 - i. Åbn hætteglasset med frysetørret reagens ved at fjerne metalforseglingen og gummiproppen.
 - ii. Indsæt enden af rekonstitueringsmanchetten (sort) med fordybningen med et fast tryk på hætteglasset (Figur 4, trin 1).
 - iii. Åbn den tilhørende flaske med rekonstitutionsopløsning, og læg låget på et rent, afdækket arbejdsbord.
 - iv. Placér flasken med rekonstitueringsopløsning på en stabil flade (dvs. et arbejdsbord). Vend derpå hætteglasset med frysetørret reagens over flasken med rekonstitueringsopløsning, og sæt manchetten fast på flasken med rekonstitueringsopløsning (Figur 4, trin 2).
 - v. Vend langsomt de samlede flasker (hætteglas sat på flasken med opløsning), så opløsningen kan løbe ned i hætteglasset (Figur 4, trin 3).
 - vi. Tag fat i de samlede flasker, og hvirvl dem rundt i mindst 10 sekunder (Figur 4, trin 4).
 - vii. Vent i mindst 30 minutter på, at det frysetørrede reagens blandes med opløsningen.
 - viii. Efter det frysetørrede reagens er blevet blandet med opløsningen, hvirvles de samlede flasker i mindst 10 sekunder, og derpå vippes opløsningen let frem og tilbage i hætteglasset, så indholdet blandes grundigt.
 - c. Vend langsomt de samlede flasker igen, så hele opløsningen kan løbe tilbage i flasken med rekonstitueringsopløsning (Figur 4, trin 5).

- d. Fjern forsigtigt rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 4, trin 6).
- e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (Figur 4, trin 7).
- f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (figur 5, trin 8).

Advarsel: Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne rekonstitueres. Skum påvirker niveauregistreringen i Panther System.



Figur 4. Reagensrekonstitutionsproces

3. Tag qCMV Target Enhancer-reagenset ud fra opbevaring (15 °C til 30 °C). Skriv operatørinitialer og åbningsdato på etiketten. Kontrollér lotnummeret på TER-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på strejkodelisten for hovedlot.

D. Klargøring af reagens for tidligere klargjorte reagenser

1. Tag de tidligere klargjorte reagenser ud fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Tidligere klargjort amplifikation, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før start af assayet.
2. Tag TER ud fra opbevaring (15 °C til 30 °C).
3. For tidligere klargjort TCR udføres trin C.1 ovenfor før isætning i systemet.
4. Hvirvl og vend amplifikations-, enzym- og promoterreagens op og ned for at blande det grundigt før isætning i systemet. Undgå, at der dannes kraftigt skum, når reagenserne vendes op og ned.

Valgmulighed. De foreberedte reagenser kan klargøres på et vendeapparat på følgende måde: Fjern reagenserne fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Placér reagenserne i et vendeapparat, og efterlad dem ved 15 °C til 30 °C til opvarmning i mindst 30 minutter.

5. Der må ikke tilføjes reagens til reagensflaskerne. Panther System registrerer og afviser flasker, der har fået tilføjet reagens.

E. Håndtering af plasmaprøver

1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufartyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til *Prøvetagning og -forberedelse*.
2. Sørg for, at frosne prøver er tørt helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.

3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på det integrerede Panther-system* for yderligere oplysninger.
4. Kontrollér, at hvert primærprøvetagningsrør indeholder op til 1200 µL prøve, eller at hvert sekundærrør indeholder mindst 700 µL prøve. Se tabellen i *Prøvetagning* vedrørende kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør.
5. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Fjern ikke hætteerne på dette trin.

Se trin G.2 herunder for oplysninger om isætning i stativet og fjernelse af hætter.

F. Håndtering af fuldblodsprøver

1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør er opbevaret korrekt i henhold til *Prøvetagning og -forberedelse*.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på det integrerede Panther-system* for yderligere oplysninger.
4. Vend forsigtigt fuldblodsrør mindst 3 gange, eller bland forsigtigt på et vendeapparat, indtil blodet er homogent.
5. Inden prøvebehandlingen skal du udføre følgende procedure på hver prøve.
 - a. Blod i primærrørene skal blandes grundigt ved inversion, og prøven skal straks overføres til røret, der indeholder fortyndingsmiddel til fuldblod.
 - b. Tilføj 500 µL helblodsprøve til det fyldte helblodfortyndingsrør.
 - c. Sæt hætte på og bland prøven i en vortexmixer i mindst 5 sekunder.

Se trin G.2 herunder for oplysninger om isætning i stativet og fjernelse af hætter.

G. Klargøring af systemet

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* og *Procedurenoter*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adaptorer af passende størrelse.
2. Sæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøverør (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
 - a. Løsn én prøverørshætte, men tag den ikke helt af.

Bemærkning: Vær især forsigtig med at undgå kontamination fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hætteerne på prøverne.
 - b. Sæt prøverøret i prøvestativet.
 - c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.
 - d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hvert prøverørs hætte i ét prøvestativ. For at undgå kontamination må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøverør.
 - e. Brug om nødvendigt en ny engangs overførselspipette til at fjerne eventuelle bobler eller skum. Bobler i rørene påvirker niveaumålingen i Panther System.
 - f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i prøvebåsen.

Bemærkning: Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen (retainer) sikres, før prøvestativet sættes i prøvebåsen.
 - g. Gentag trin 2.a og 2.f for det næste prøvestativ.

H. Prøveforberedelse. Anvendelse af konverteringsfaktor for helblodsprøve

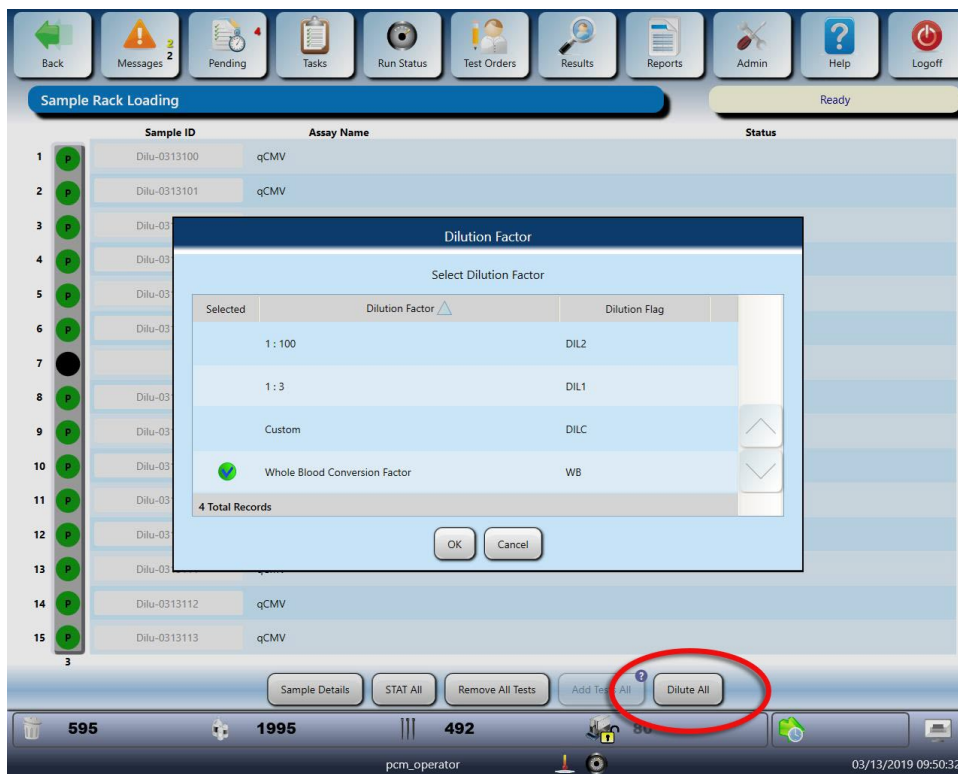
1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *brugervejledning til Panther System* og.
2. Fyld prøvestativet
3. Anvend fuldblodskonverteringsfaktor til at analysere testbestillinger for fuldblodsprøver.

Bemærkning: Fuldblodskonverteringsfaktor kan anvendes på et helt stativ eller en enkelt testordre.

Anvend fuldblodskonverteringsfaktor til at analysere testbestillinger for fuldblodsprøver.

- a. Fra skærmen *Sample Rack Bay* (Prøvestativbås) dobbeltklikkes på det ønskede præparat. Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte stativ.
- b. Vælg **Dilute All (fortynd alle)**.

Vinduet Dilution Factor (Fortyndingsfaktor) åbnes.



Figur 5. Vinduet Dilution Factor på skærmen Sample Rack Loading (isætning af prøvestativ)

- c. Vælg **Whole Blood Conversion Factor (fuldblodskonverteringsfaktor)**.
- d. Vælg Ok.

Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (indstil fortyndingsfaktor for stativ)

- e. Vælg Yes (ja) for at anvende fuldblodskonverteringsfaktormarkeringen til at analysere testbestillinger for fuldblodsprøver.

Sådan anvendes fuldblodskonverteringsfaktoren til en enkelt testordre (for eksempel fjerde prøve i stativet, se nedenstående illustration):

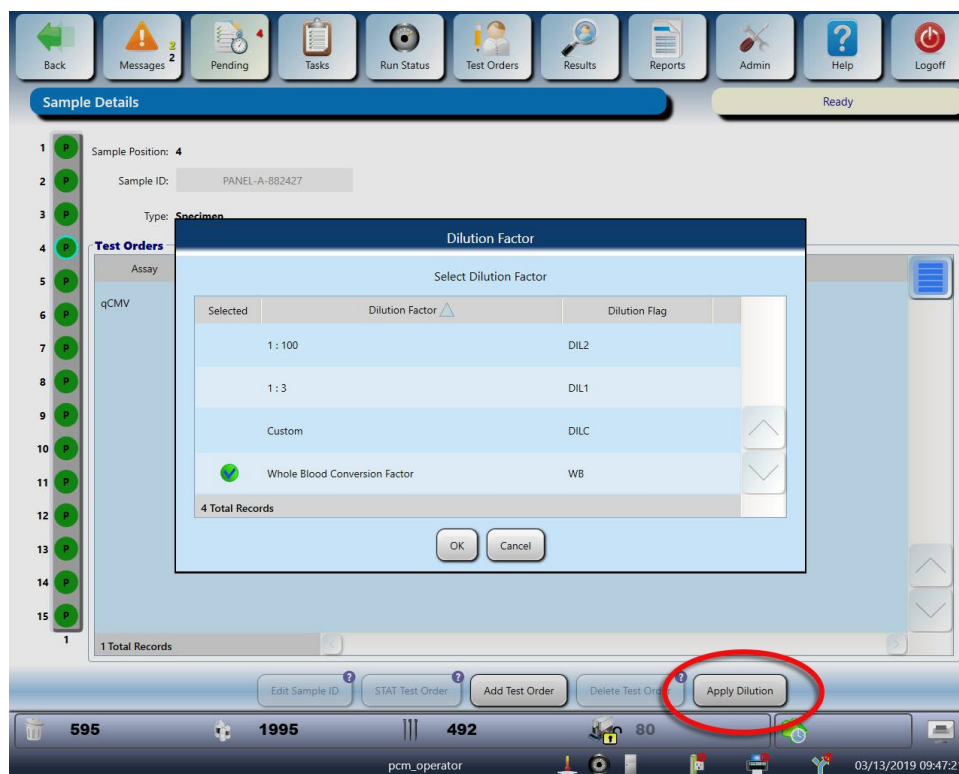
- a. Fra skærbilledet *Sample Rack Bay* (prøvestativbås) dobbeltklikkes på det isatte stativ, der inkluderer præparatet/præparaterne af interesse.

Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte prøvestativ.

- b. Fra skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativer) dobbeltklikkes på det ønskede præparat.

Skærmen *Sample Details* (Prøvedetaljer) åbnes sammen med de aktuelle testbestillinger for det valgte præparat.

- c. Vælg den relevante testbestilling fra panelet *Test Orders* (Testbestillinger).
- d. Vælg **Apply Dilution (anvend fortynding)**



Figur 6. Vinduet Dilution Factor (fortyndingsfaktor) på skærmen Sample Details (prøvedetaljer)

- e. Vælg **Whole Blood Conversion Factor (fuldblodskonverteringsfaktor)**.
 - f. Vælg OK for at anvende fuldblodskonverteringsfaktormarkeringen på alle valgte testbestillinger.
4. Om nødvendigt kan fuldblodsfaktoren fjernes fra testbestillinger inden behandlingens start.

Sådan slettes fuldblodskonverteringsfaktoren fra et helt stativ:

1. Fra skærmen *Sample Rack Bay* (Prøvestativbås) dobbeltklikkes på det ønskede præparat.
Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte stativ.
2. Vælg **Dilute All (fortynd alle)**.
3. I vinduet *Dilution Factor* (fortyndingsfaktor) fravælges **Whole Blood Conversion Factor (fuldblodskonverteringsfaktor)**.

4. Vælg Ok.

Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (indstil fortyndingsfaktor for stativ) åbnes.

5. Vælg Yes (ja) for at slette fuldblodskonverteringsfaktoren fra et helt stativ:

Sådan slettes assay-testbestillinger på fuldblodskonverteringsfaktoren:

1. Fra skærbilledet *Sample Rack Bay* (prøvestativbås) dobbeltklikkes på det isatte stativ, der inkluderer præparatet/præparaterne af interesse.

Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte prøvestativ.

2. Fra skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativer) dobbeltklikkes på det ønskede præparat.

Skærmen *Sample Details* (Prøvedetaljer) åbnes sammen med de aktuelle testbestillinger for det valgte præparat.

3. Vælg den relevante testbestilling fra panelet *Test Orders* (Testbestillinger).

4. Vælg **Apply Dilution (anvend fortynding)**

5. I vinduet *Dilution Factor* (fortyndingsfaktor) fravælges **Whole Blood Conversion Factor (fuldblodskonverteringsfaktor)**.

6. Vælg **OK** for at slette fuldblodskonverteringsfaktoren fra testbestillingen.

Procedurenoter

A. Kalibrator og kontroller

1. Rørene til qCMV positiv kalibrator, qCMV lav positiv kontrol, qHBV høj positiv kontrol og qCMV negativ kontrol kan sættes i en vilkårlig position i prøvestativet og i et vilkårligt prøvebåsspor på Panther System. Pipettering af prøver begynder, når ét af de to følgende forhold er blevet opfyldt:
 - a. Kalibratoren og kontrollerne behandles aktuelt af systemet.
 - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollerne er blevet registreret på systemet.
2. Når kalibrator- og kontrolrørene er blevet pipetteret og behandles til Aptima HBV Quant Assay-reagenskittet, kan prøver testes med det tilhørende, rekonstituerede kit i op til 24 timer, **medmindre**:
 - a. Kalibratorresultatet eller kontrolresultaterne er ugyldige.
 - b. Det tilknyttede assayreagenskit fjernes fra systemet.
 - c. Det tilknyttede assayreagenskit har overskredet stabilitetsgrænserne.
3. Kalibratoren og hvert kontrolrør kan anvendes én gang. Forsøg på at bruge reagensglasset mere end én gang kan føre til fejl i behandlingen.

B. Handskepulver

Som i alle reagenssystemer kan for meget pudder på visse handsker forårsage kontaminering af åbnede reagensglas. Det anbefales at bruge handsker uden pudder.

Kvalitetskontrol

En kørsel eller et prøveresultat kan blive ugyldiggjort af en operatør, hvis der observeres tekniske problemer, problemer hos operatøren eller med instrumentet under udførelsen af assayet, og de er dokumenteret. Hvis det er tilfældet, skal prøverne gentestes.

Prøver med ugyldige resultater skal gentestes for at få et gyldigt resultat.

Kalibrering af assayet

For at få gyldige resultater skal en assaykalibrering være afsluttet. En enkelt, positiv kalibrator køres i tripliket, hver gang et reagenskit sættes i Panther System. Når kalibreringen er fastsat, gælder den op til 24 timer. Software i Panther System giver operatøren en meddelelse, når en kalibrering er nødvendig. Operatøren scanner en kalibreringskoefficient fundet på stregkodelisten for hovedlot, der følger med hvert reagenskit.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kalibratoren automatisk af softwaren i Panther System. Hvis færre end to kalibratorreplikater er gyldige, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Negative og positive kontroller

For at skabe gyldige resultater er det nødvendigt at teste et sæt assaykontroller. Ét replikat af den negative kontrol, af den lave positive kontrol og af den høje positive kontrol skal testes hver gang et reagenskit sættes i Panther System. Når kontrollerne er fastsat, gælder de op til 24 timer. Software i Panther System giver operatøren en meddelelse, når der kræves kontroller.

Under behandlingen verificeres kriterierne for godkendelse af kontrollerne automatisk af softwaren i Panther System. For at opnå gyldige resultater skal den negative kontrol udvise resultatet "Not Detected" (Ikke detekteret), og de positive kontroller skal udvise resultater, der ligger inden for de foruddefinerede parametre. Hvis en af kontrollerne udviser et ugyldigt resultat, ugyldiggør softwaren automatisk kørslen. Prøver i en ugyldiggjort kørsel skal testes igen med en netop klargjort kalibrator og netop klargjorte kontroller.

Intern kalibrator/intern kontrol

Hver prøve indeholder en intern kalibrator/intern kontrol (IC). Under behandlingen verificeres IC-godkendelseskriterierne automatisk af Panther Systemsoftware. Hvis et IC-resultat er ugyldigt, bliver prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldigt IC-resultat skal testes igen for at opnå et gyldigt resultat.

Panther-systemsoftwaren er designet til nøjagtigt at verificere processer, når procedurer udføres i henhold til instruktionerne i denne indlægsseddel og betjeningsvejledningen til Panther/Panther Fusion System.

Fortolkning af resultater

Panther System bestemmer automatisk koncentrationen af CMV DNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. CMV DNA koncentrationer rapporteres i IE/ml og \log_{10} IE/ml. Fortolkningen af resultater er vist i Tabel 1 og Tabel 2.

Tabel 1: Fortolkning af plasmaresultat

Rapporteret Aptima CMV Quant Assay-resultat		Fortolkning
IE/ml	Log ₁₀ værdi	
Ikke detekteret	Ikke detekteret	CMV DNA ikke detekteret.
< 53 detekteret	< 1,72	CMV DNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantificeringsgrænse (LLoQ)
53 til 10.000.000	1,72 til 7,00	CMV DNA koncentrationen ligger inden for det lineære område mellem LLoQ to ULoQ IU/mL.
> 10.000.000	> 7,00	CMV DNA-koncentration er over den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ).
Ugyldig ^a	Ugyldig ^a	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.

^aUgyldige resultater vises med blå skrift.

Tabel 2: Fortolkning af helblodsresultat

Rapporteret Aptima CMV Quant Assay-resultat		Fortolkning
IE/ml	Log ₁₀ værdi	
Ikke detekteret	Ikke detekteret	CMV DNA ikke detekteret.
< 176 detekteret	< 2,24	CMV DNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantificeringsgrænse (LLoQ)
176 til 10.000.000	2,24 til 7,00	CMV DNA koncentrationen ligger inden for det lineære område mellem LLoQ to ULoQ IU/mL.
> 10.000.000	> 7,00	CMV DNA-koncentration er over den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ).
Ugyldig ^a	Ugyldig ^a	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.

^aUgyldige resultater vises med blå skrift.

Begrænsninger

- A. Kun personale, som er oplært i fremgangsmåden, må anvende dette assay. Hvis anvisningerne på denne indlægsseddel ikke følges, kan det føre til fejlagtige resultater.
- B. Pålidelige resultater er afhængige af tilstrækkelig prøvetagning og korrekt transport, opbevaring og behandling af prøver.
- C. Selv om det er sjældent, kan mutationer i de højt konserverede regioner af virusgenomet, der er dækket af primere og/eller prober i Aptima CMV Quant Assay, resultere i underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virusset.

Præstation

Detektionsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard

Detektionsgrænsen (LoD) for dette assay defineres som koncentrationen af CMV DNA, der detekteres med 95 % eller større sandsynlighed ifølge CLSI EP17-A2.¹⁴

Detektionsgrænse ved brug af WHO-standarder i plasma

LoD blev bestemt ved testpaneler af 1. WHO International Standard (NIBSC kode 09/162) for CMV fortyndet i CMV-negativt²¹ humant plasma. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD-værdierne, som vises i Tabel 3, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Aptima Aptima CMV Quant ved brug af WHO's 1. internationale standard er 40,7 IE/ml for plasma.

Tabel 3: Detektionsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard for CMV

Forventet detektionsgrænse	Koncentration (IE/ml)
10 %	1,9
20 %	2,9
30 %	4,0
40 %	5,3
50 %	6,9
60 %	9,1
70 %	12,2
80 %	17,1
90 %	27,5
95 %	40,7

Detektionsgrænse ved brug af WHO-standarder i helblod

LoD blev bestemt ved testpaneler af 1. WHO International Standard (NIBSC for CMV fortyndet i CMV-negativt humant plasma. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD-værdierne, som vises i Tabel 4, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Aptima Aptima CMV Quant ved brug af WHO's 1. internationale standard er 131,0 IE/ml for helblod.

Tabel 4: Detektionsgrænse for fuldblod ved brug af WHO's 1. internationale standard for CMV

Forventet detektionsgrænse	Koncentration (IE/ml)
10 %	8,8
20 %	13,2
30 %	17,7
40 %	22,7
50 %	28,7
60 %	36,2
70 %	46,5
80 %	62,4
90 %	93,7
95 %	131,0

Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper

Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper i plasma

LoD blev verificeret for tre forskellige genotyper baseret på glycoprotein B-sekvens⁷ (gB-2, gB-3 og gB-4) ved at teste forskellige koncentrationer af CMV omkring den etablerede LoD for plasma ved hjælp af WHO-standarden (genotype gB-1). Test blev udført med 30 replikater pr. panelmedlem pr. reagenslot under anvendelse af to lot Aptima CMV Quant-reagenser. Den højeste LoD verificeret for alle tre genotyper var 40 IE/ml ved brug af begge reagenslot.

Tabel 5: Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper i plasma

Genotype	Koncentration (IE/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35

Den samlede LoD i plasma er 40,7 IE/ml.

Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper i helblod

LoD blev verificeret for tre forskellige Glycoprotein B-genotyper (gB-2, gB-3 og gB-4) ved at teste forskellige koncentrationer af CMV omkring den etablerede LoD for helblod ved hjælp af WHO-standarden (genotype gB-1). Test blev udført med 30 replikater pr. panelmedlem pr. reagenslot under anvendelse af to lot Aptima CMV Quant-reagenser. Den højeste LoD verificeret for alle tre genotyper var 150 IE/ml ved brug af begge reagenslot.

Tabel 6: Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper i helblod

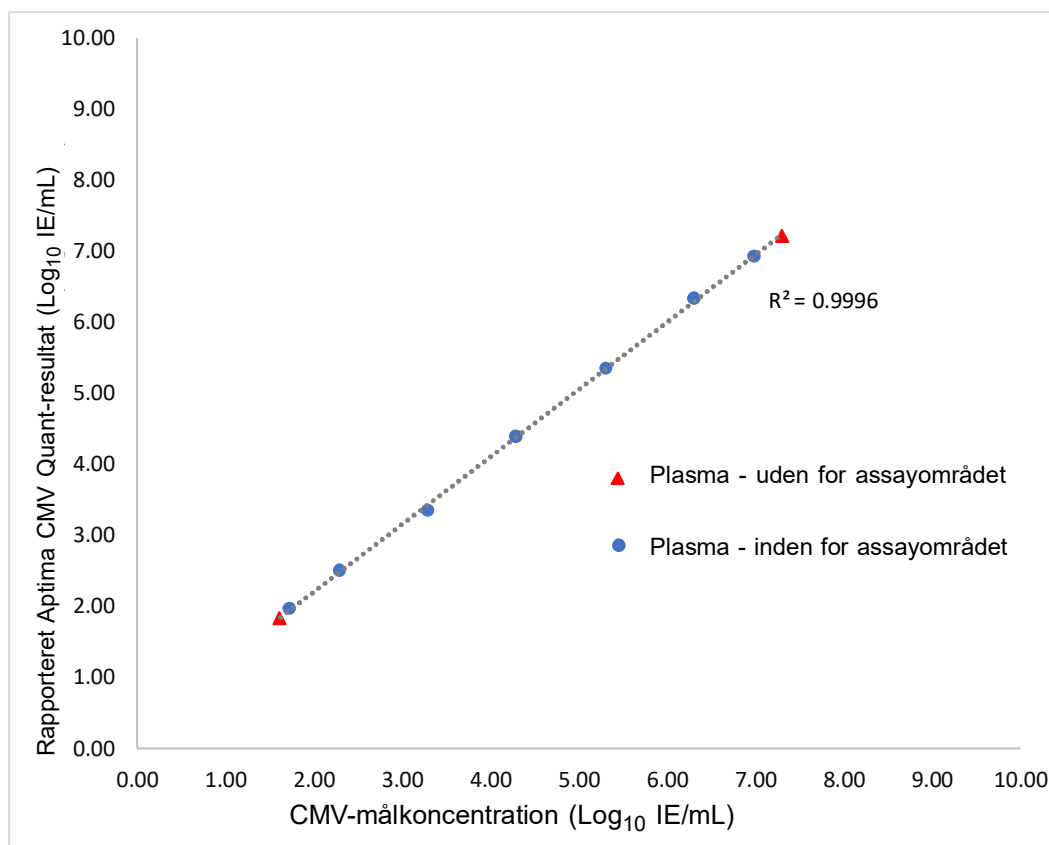
Genotype	Koncentration (IE/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Den samlede LoD i helblod er 150 IE/ml.

Lineært område

Lineært område i plasma

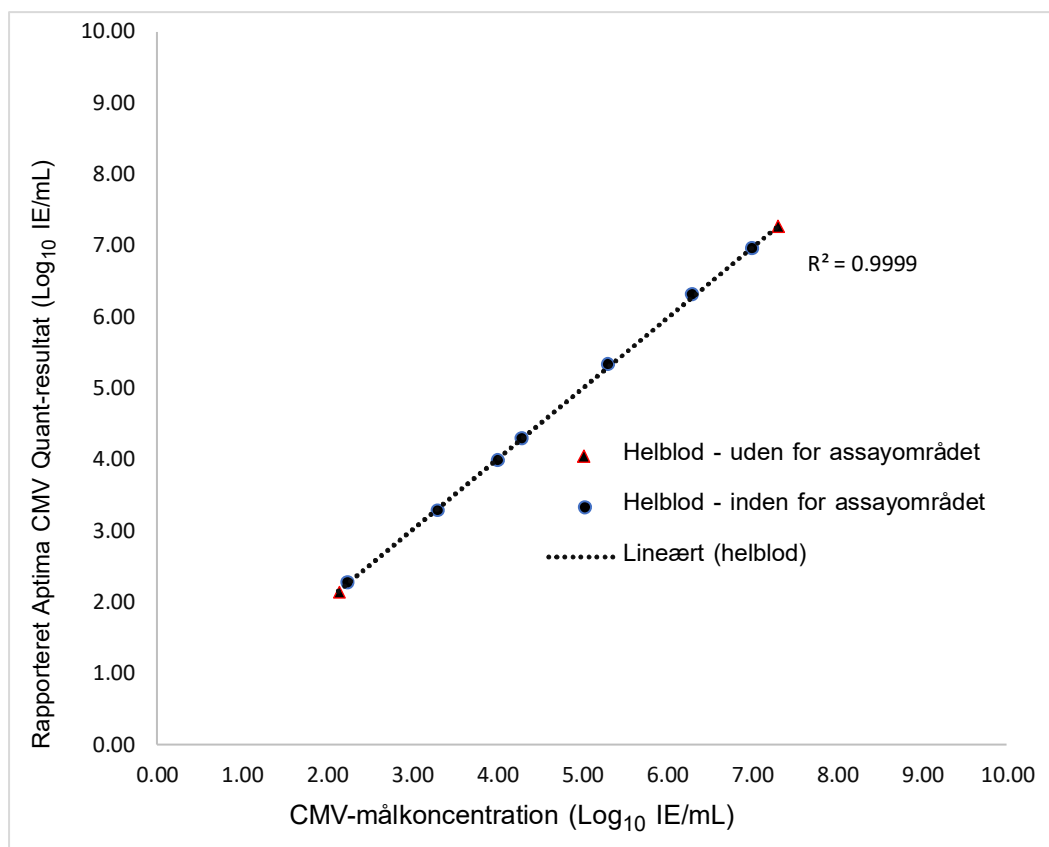
Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af CMV DNA fortyndet i CMV-negativt humant plasma ifølge CLSI EP06-A.¹⁵ Paneler varierede i koncentration fra 1,62 log IE/ml til 7,30 log IE/ml. Aptima CMV Quant-analysen viste linearitet i det testede område. Den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen er 7 Log IE/ml som vist i Figur 7.



Figur 7. Linearitet i plasma

Lineært område i helblod

Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af CMV DNA fortyndet i CMV-negativt humant fuldblod ifølge CLSI EP06-A.¹⁵ Paneler varierede i koncentration fra 2,15 log IE/ml til 7,3 log IE/ml for fuldblod. Aptima CMV Quant-analysen viste linearitet i det testede område. Den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen er 7 Log IE/ml som vist i Figur 8.

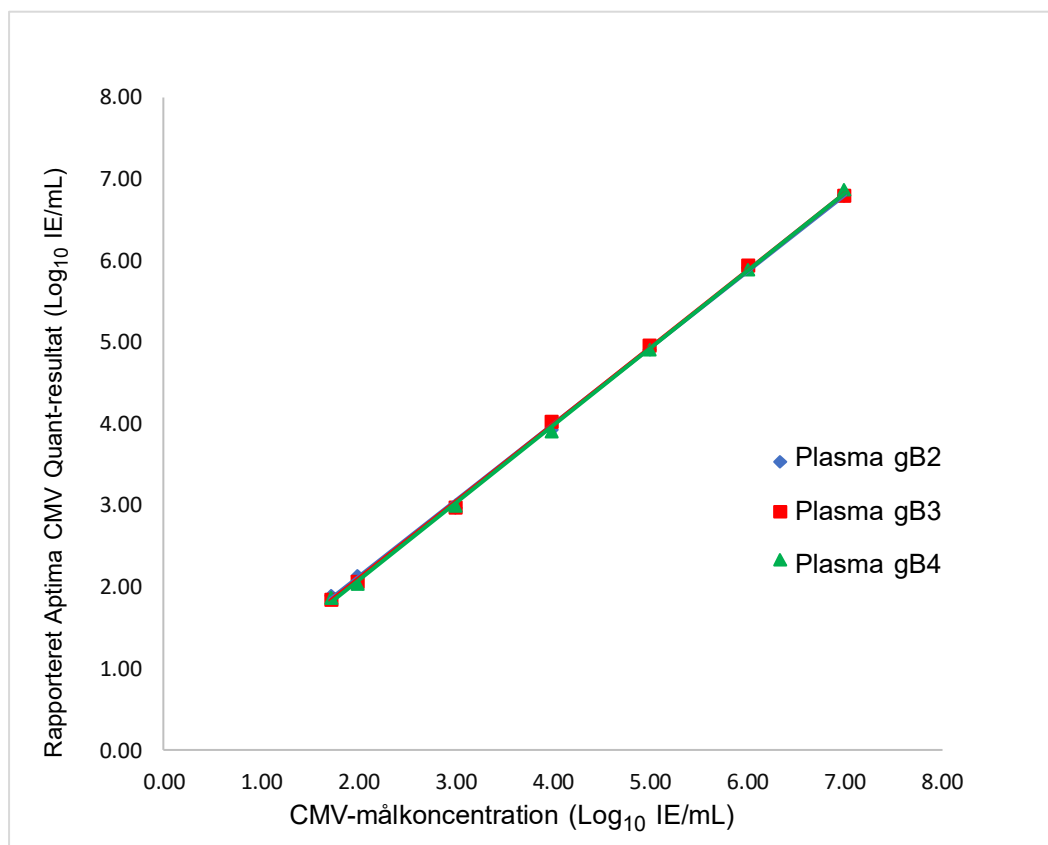


Figur 8. Linearitet i helblod

Linearitet på tværs af CMV-genotyper

Linearitet på tværs af CMV-genotyper i plasma

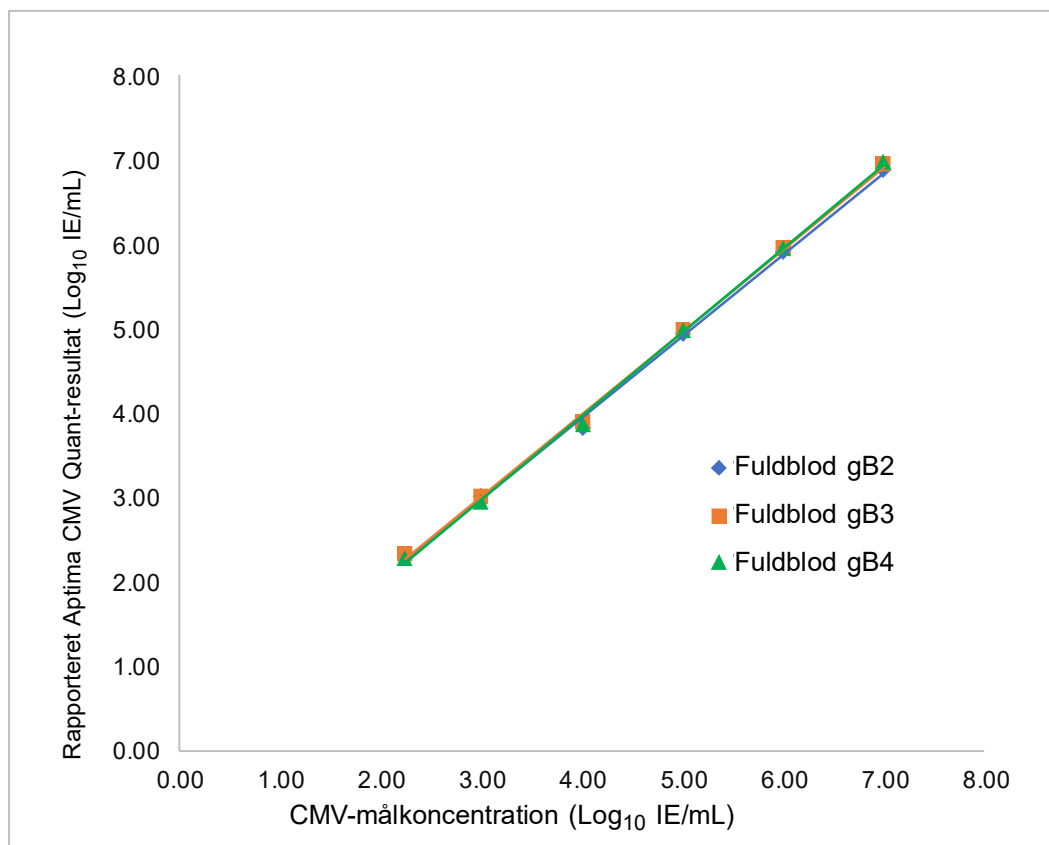
Lineariteten for glycoprotein-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 blev verificeret ved testpaneler af CMV fortyndet i CMV-negativt plasma i koncentrationer i området fra 1,72 log IE/ml til 7,00 log IE/ml. Linearitet blev påvist på tværs af det område for alle testede genotyper, som vist i Figur 9.



Figur 9. Linearitet på tværs af CMV-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 i plasma

Linearitet på tværs af CMV-genotyper i helblod

Det lineære respons for glycoprotein-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 blev verificeret ved testpaneler af CMV fortyndet i CMV-negativt helblod i koncentrationer i området fra 2,25 log IE/ml til 7,00 log IE/ml. Linearitet blev påvist på tværs af det område for alle testede genotyper, som vist i Figur 10.



Figur 10. Linearitet på tværs af CMV-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 i helblod

Nedre kvantificeringsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken, CMV DNA på pålidelig vis kan kvantiteres inden for grænserne for analytisk usikkerhed ifølge CLSI EP17-A2.¹⁴ Total fejl blev beregnet ved hjælp af to metoder: Total fejl (TE) = |bias| + 2SD. For at sikre nøjagtighed af målinger blev analytisk usikkerhed for Aptima CMV Quant Assay sat til 1 log IE/ml (dvs. at ved LLoQ er forskellen mellem to målinger på mere end 1 log IE/ml statistisk signifikant).

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard i plasma

LLoQ blev bestemt ved testpaneler af 1. WHO International Standard (NIBSC kode 09/162) for CMV fortyndet i CMV-negativt humant plasma. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. LLoQ-resultaterne for de tre reagenslot er vist i Tabel 7. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration, som opfylder TE--kravene og $\geq 95\%$ detektion er opsummeret i Tabel 8. LLoQ genereret med den 1. WHO internationale standard for CMV i plasma er 53 IE/ml.

Tabel 7: Bestemmelse af LLoQ ved brug af WHO's 1. internationale standard for CMV fortyndet i plasma

Reagenslot	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
1	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
2	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
3	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SD= standardafvigelse

Panelmedlemmer, der opfyldte nøjagtighedsmålet (TE ≤ 1) og $\geq 95\%$ påvisning for reagenslot 1, 2 og 3, er nedtonede.

Tabel 8: Resumé af LLoQ for plasma ved anvendelse af 1. WHO's internationale standard for CMV

Reagenslot	(IE/ml)	(log IE/ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Nedre kvantificeringsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard i helblod

LLOQ blev bestemt ved testpaneler af 1. WHO International Standard (NIBSC for CMV fortyndet i CMV-negativt humant helblod. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. Resultaterne for de tre reagenslot er vist i Tabel 9. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration, som opfylder TE-kravene og $\geq 95\%$ detektion er opsummeret i Tabel 10. LLoQ genereret med den 1. WHO internationale standard for CMV i helblod er 176 IE/ml.

Tabel 9: Bestemmelse af LLoQ ved brug af WHO's 1. internationale standard for CMV fortyndet i helblod

Reagenslot	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

SD= standardafvigelse

Panelmedlemmer, der opfyldte nøjagtighedsmålet (TE ≤ 1) og $\geq 95\%$ påvisning for reagenslot 1, 2 og 3, er nedtonede.

Tabel 10: Resumé af LLoQ for fuldblod ved anvendelse af 1. WHO's internationale standard for CMV

Reagenslot	(IE/ml)	(log IE/ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Bestemmelse af den nedre kvantificeringsgrænse på tværs af CMV-genotyper

Nedre kvantificeringsgrænse på tværs af genotyper i plasma

LLoQ, der blev oprettet ved hjælp af WHO-standard, blev verificeret ved at teste fortyndinger af CMV-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 i CMV-negativt humant plasma. 60 replikater af hvert panelmedlem blev testet med et reagenslot. Resultaterne er vist i Tabel 11. Den beregnede LLoQ for genotyperne gB-2, gB-3 og gB-4 fra reagenslottet med den højeste koncentration, der opfylder TE-kravene og ≥ 95 % påvisning er opsummeret i Tabel 12. Den samlede LLoQ for plasma i dette assay er 53 IE/ml.

Tabel 11: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i plasma

Genotype	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
gB-2	60	56	1,48	1,38	0,41	0,10	0,92
	60	58	1,54	1,39	0,39	0,16	0,95
	60	56	1,60	1,49	0,38	0,11	0,87
	60	58	1,65	1,70	0,24	0,04	0,51
	60	57	1,70	1,54	0,32	0,16	0,80
gB-3	60	55	1,48	1,27	0,38	0,20	0,97
	60	55	1,54	1,27	0,40	0,27	1,07
	60	53	1,60	1,31	0,47	0,29	1,23
	60	56	1,65	1,46	0,34	0,20	0,88
	60	55	1,70	1,57	0,29	0,13	0,71
	60	59	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79
gB-4	60	58	1,48	1,38	0,39	0,09	0,88
	60	59	1,54	1,51	0,33	0,03	0,69
	60	57	1,60	1,66	0,36	0,06	0,79
	60	59	1,65	1,66	0,29	0,01	0,59
	60	60	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48

SD= standardafvigelse

Panelmedlemmer, der opfyldte nøjagtighedsmålet (TE ≤ 1) og ≥ 95 % påvisning for reagenslot 1, 2 og 3, er nedtonede.

Tabel 12: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i plasma

Genotype	LLoQ	
	(IE/ml)	(log IE/ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38

Nedre kvantificeringsgrænse på tværs af genotyper i fuldblod

LLoQ, der blev oprettet ved hjælp af WHO-standarden, blev verificeret ved at teste fortyndinger af CMV-genotyperne gB-2, gB-3 og gB-4 i CMV-negativt humant helblod. 60 replikater af hvert panelmedlem blev testet med et reagenslot. Resultaterne er vist i Tabel 13. Den beregnede LLoQ for genotyperne gB-2, gB-3 og gB-4 fra reagenslottet med den højeste koncentration, der opfylder TE-kravene og ≥ 95 % påvisning er opsummeret i Tabel 14. Den samlede LLoQ for helblod i dette assay er 176 IE/ml.

Tabel 13: Bestemmelse af LLoQ på tværs af genotyper i fuldblod

Genotype	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)	(log IE/ml)
gB-2	60	56	2,08	1,77	0,43	0,30	1,16
	60	56	2,15	1,87	0,39	0,27	1,06
	60	56	2,20	1,80	0,59	0,40	1,58
	60	58	2,26	1,97	0,41	0,28	1,11
	60	59	2,30	2,06	0,50	0,24	1,24
	60	57	2,34	2,01	0,52	0,33	1,38
	60	59	2,38	2,11	0,36	0,27	1,00
	60	60	2,41	2,19	0,30	0,23	0,84
gB-3	60	46	2,08	1,73	0,59	0,35	1,53
	60	54	2,15	1,78	0,50	0,36	1,37
	60	54	2,20	1,87	0,50	0,33	1,34
	60	58	2,26	2,02	0,52	0,23	1,27
	60	58	2,30	2,02	0,32	0,28	0,92
gB-4	60	55	2,08	1,78	0,53	0,30	1,37
	60	57	2,15	1,97	0,40	0,18	0,97
	60	58	2,20	2,09	0,39	0,12	0,89

SD= standardafvigelse

Tabel 14: Resume af LLoQ på tværs af genotyper i fuldblod

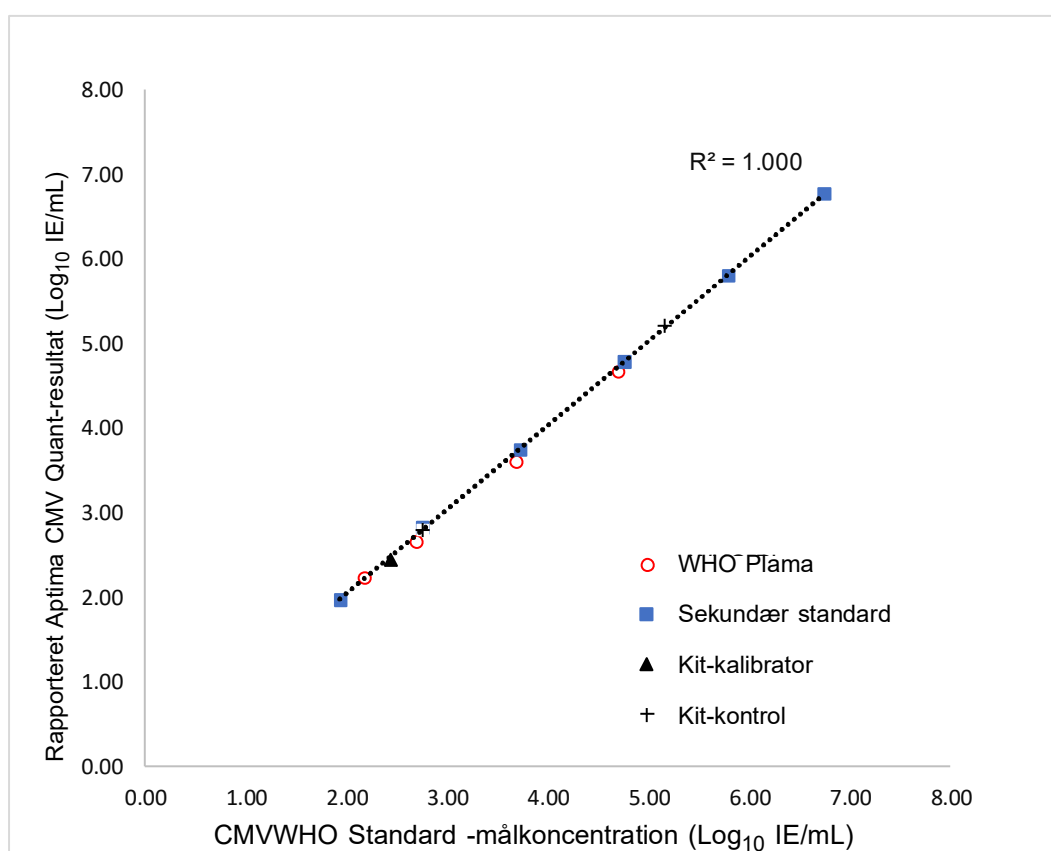
Genotype	LLoQ	
	(IE/ml)	(log IE/ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Sporbarhed til 1. WHO's internationale standard

En række sekundære standarder med kendte koncentrationer blev brugt gennem produktudvikling og produktfremstilling for at fastslå sporbarhed til WHO-standarden. CMV WHO-standarden blev fortyndet og testet sammen med de sekundære standarder samt analysekontroller og kalibratore anvendt i Aptima CMV Quant-analysen til evaluering af sporbarhed i henhold til CLSI EP32-R¹⁶. De sekundære standarder varierede i koncentration fra 1,80 til 6,60 log₁₀ IE/ml.

Sporbarhed til WHO-standarden ved brug af plasma

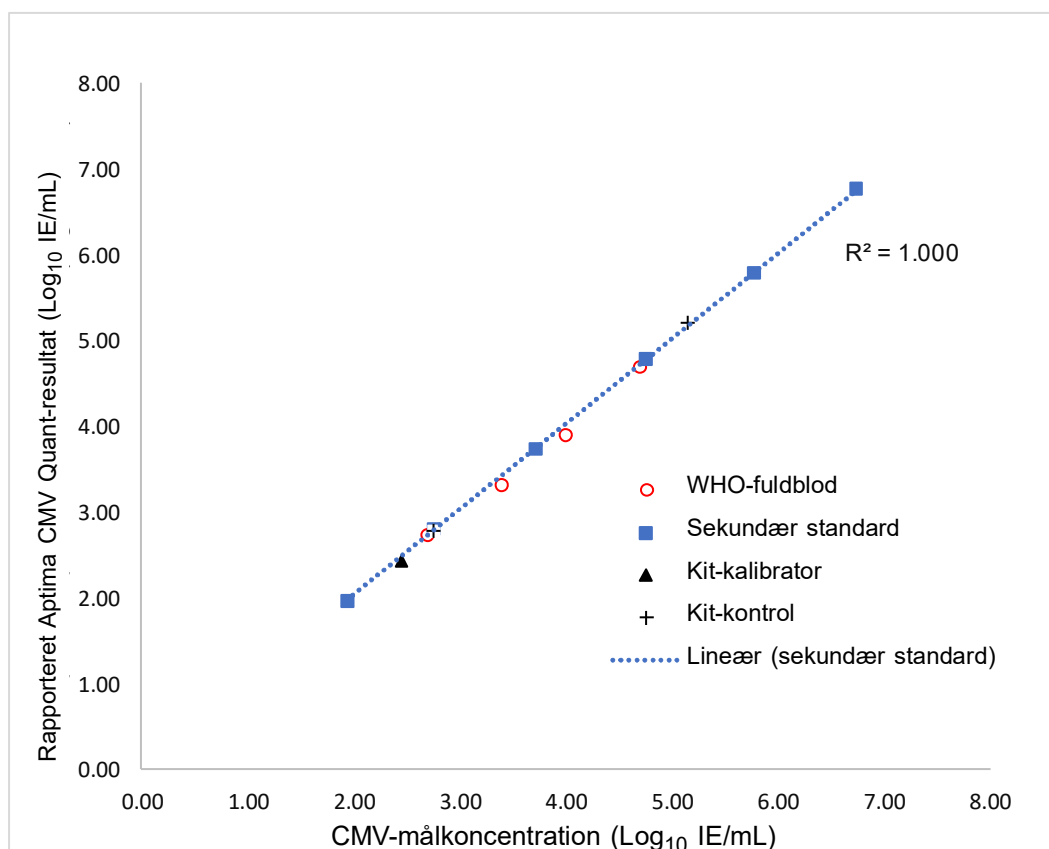
Koncentrationerne testet for CMV WHO-standarden var mellem 2,18 og 4,70 log₁₀ IE/ml. WHO-plasmapaneller, sekundære standarder, analysekontroller og analysekalibratore, der blev genvundet som forventet over analysens lineære område, som det kan ses fra Figur 11.



Figur 11. Sporbarhed mellem den første CMV WHO-standardmålkoncentration og rapporterede koncentration i Aptima CMV Quant Assay (WHO-standard fortyndet i plasma)

Sporbarhed til WHO-standarden ved brug af fuldblod

Koncentrationerne testet for CMV WHO-standarden i fuldblod var mellem 2,70 og 4,70 log₁₀ IE/ml. WHO-helblodspaneler, sekundære standarder, analysekontroller og analysekalibratore, der blev genvundet som forventet over analysens lineære område, som det kan ses fra Figur 12.



Figur 12. Sporbarhed mellem den første CMV WHO-standardmålkonzentration og rapporterede koncentration i Aptima CMV Quant Assay (WHO-standard fortyndet i fuldblod)

Reproducerbarhed

Plasma

For at vurdere reproducerbarhed blev der lavet et panel med 6 medlemmer ved at fortynde CMV-positive kliniske prøver eller dyrket CMV i CMV-negativt plasma. Panelet blev testet af tre operatører ved brug af tre reagenslot på tre Panther System i løbet af 20 eller flere testdage. Hver operatør udførte to kørsler om dagen, og hvert panelmedlem blev testet i to eksemplarer i hver kørsel. Undersøgelsen blev designet og analyseret efter anbefalingerne fra CLSI EP-05-A3.¹⁷

Tabel 15 viser reproducerbarheden af assay-resultaterne (i log IE/ml) mellem instrumenter, operatører, reagenslot, kørsler, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 15: Reproducerbarhed af Aptima CMV Quant Assay i plasma

N	Middelkoncentration (log IE/ml)	Mellem-lot SD	Mellem-instrument SD	Mellem-operatør SD	Mellem-dag SD	Mellem-kørsel SD	Inden for kørsel SD	I alt SD
108	2,28	0,02	0,04	0,00	0,00	0,06	0,16	0,18
108	2,82	0,06	0,00	0,00	0,04	0,07	0,11	0,14
108	3,49	0,07	0,00	0,01	0,06	0,06	0,11	0,15
108	4,53	0,04	0,02	0,04	0,00	0,07	0,07	0,11
108	5,57	0,06	0,00	<0,001	0,04	0,02	0,09	0,12
108	6,67	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,10	0,12

SD= standardafvigelse

Bemærkning: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, vises SD som 0.

Helblod

For at vurdere reproducerbarhed blev der lavet et panel med 6 medlemmer ved at fortynde CMV-positive kliniske prøver eller tilsætning er dyrket CMV i CMV-negativt helblod. Panelet blev testet af tre operatører ved brug af tre reagenslot på tre Panther System i løbet af 20 eller flere testdage. Hver operatør udførte to kørsler om dagen, og hvert panelmedlem blev testet i to eksemplarer i hver kørsel.

Tabel 16 viser reproducerbarheden af assay-resultaterne (i log IE/ml) mellem instrumenter, operatører, lot, kørsler, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 16: Reproducerbarhed af Aptima CMV Quant Assay i fuldblod

N	Middelkoncentration (log IE/ml)	Mellem-Lot SD	Mellem-instrument SD	Mellem-operatør SD	Mellem-dag SD	Mellem-kørsel SD	Inden for kørsel SD	I alt SD
108	2,78	0,00	0,01	0,05	0,00	0,08	0,14	0,17
108	3,38	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,13	0,14
108	3,95	0,06	0,00	0,07	0,05	0,05	0,13	0,18
108	4,76	0,03	0,01	0,08	0,00	0,07	0,12	0,16
108	5,64	0,01	0,00	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13
108	6,74	0,03	0,00	0,05	0,00	0,04	0,09	0,12

SD= standardafvigelse

Bemærkning: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ, hvilket kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. Når dette forekommer, vises SD som 0.

Potentielt interfererende stoffer

Modtageligheden af Aptima CMV Quant-analysen for interferens af forhøjede niveauer af endogene stoffer, antikoagulantia og lægemidler, der almindeligvis ordineres til transplantationspatienter, blev evalueret. Testkoncentrationerne for hvert af de interfererende stoffer blev valgt ud fra tilgængelige litteraturreferencer og vejledning leveret af CLSI EP07¹⁸ og EP37¹⁹. CMV-negative plasmaprøver og prøver med tilsætning af CMV op til en koncentration på 2,22 IE/mL og 3,30 IE/ml blev testet. CMV-negative plasmaprøver og prøver med tilsætning af HBV op til en koncentration på 2,72 og 4,00 log IE/mL CMV DNA blev testet.

Ingen interferens i udførelsen af analysen blev observeret i plasmaprøver i nærværelse af albumin (60 mg/ml), hæmoglobin (10 mg/ml), triglycerider (15 mg/ml), ukonjugeret bilirubin (0,4 mg/ml) eller humant genomisk DNA (2 µg/ml). Der blev ikke observeret nogen interferens i fuldblodsprøver i assayets udførelse i nærværelse af 100 mg/ml hæmoglobin tilsat fuldblodsprøver.

Kliniske plasmaprøver fra patienter med eleverede niveauer af definerede stoffer eller fra patienter med de sygdomme, som angives i Tabel 17, blev testet med Aptima CMV Quant-assay. Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation.

Tabel 17: Testede kliniske prøvetyper

	Kliniske prøvetyper	Antal testede kliniske prøver
1	Antinukleært antistof (ANA)	10
2	Systemisk Lupus Erythematosus (SLE)	10
3	Rheumatoid arthritis (RA)	10

Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation ved tilstedeværelse af de eksogene stoffer, vist i Tabel 18 ved koncentrationer mindst tre gange højere end $C_{maks.}$ for stoffer i humant plasma.

Tabel 18: Eksogene stoffer

Pool af eksogene stoffer	Testede eksogene stoffer
1	Cefotetan, clavulanatkalium, Ticarcillin dinatrium, vancomycin
2	Piperacillin
3	Sulfamethoxazol
4	Tazobactam-natrium, Trimethoprim, fluconazol
5	Ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, Foscarnet, Valacyclovir, Acyclovir, Letermovir
6	Azathioprin, cyclosporin, mycophenolatmofetil, mycophenolsyre
7	Sirolimus, Tacrolimus, Prednison, Everolimus
8	Natriumcitrat, EDTA, heparin

Specificitet

Specificitet blev bestemt ved at teste 780 frosne CMV-negative kliniske prøver. Specificitet blev beregnet som procentdelen af CMV-negative prøver med resultater af "Ikke detekteret" versus det samlede antal prøver, der blev testet for hver prøvetype.

CMV-DNA blev ikke påvist i 389 prøver for plasma og 390 prøver for helblod. Specificiteten var 99,7 % (389/390, 95 % CI: 98,6 -100 %) for plasma og 100 % (390/390, 95 % CI: 99,3-100 %) Den kombinerede specificitet af Aptima CMV Quant Assay for plasma og fuldblod var 99,9 % (779/780, 95 % CI: 99,3-100 %)

Tabel 19: Specificitet i plasma- og helblodsprøver

	Plasma	Helblod	Plasma og helblod
Gyldige replikater (n)	390	390	780
Ikke detekteret	389	390	779
Specificitet (95 % CI)	99,7 % (98,6-100)	100 % (99,3-100)	99,9 % (99,3-100)

CI=confidence interval (konfidensinterval)

Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet over for de patogener, der er anført i Tabel 20, blev evalueret i CMV-negativt humant plasma tilstedeværelsen eller fraværet af 2,2 log IE/ml og 3,3 log IE/ml CMV. Tre blodparasitter fundet i fuldblodsprøver blev også evalueret i CMV-negativt fuldblod i tilstedeværelse eller fravær af 2,7 log IE/ml og 4,0 log IE/ml CMV. Patogener blev testet ved den højeste tilgængelige koncentration. Der blev ikke observeret krydsreaktivitet eller interferens.

Tabel 20: Patogener testet for analytisk specificitet

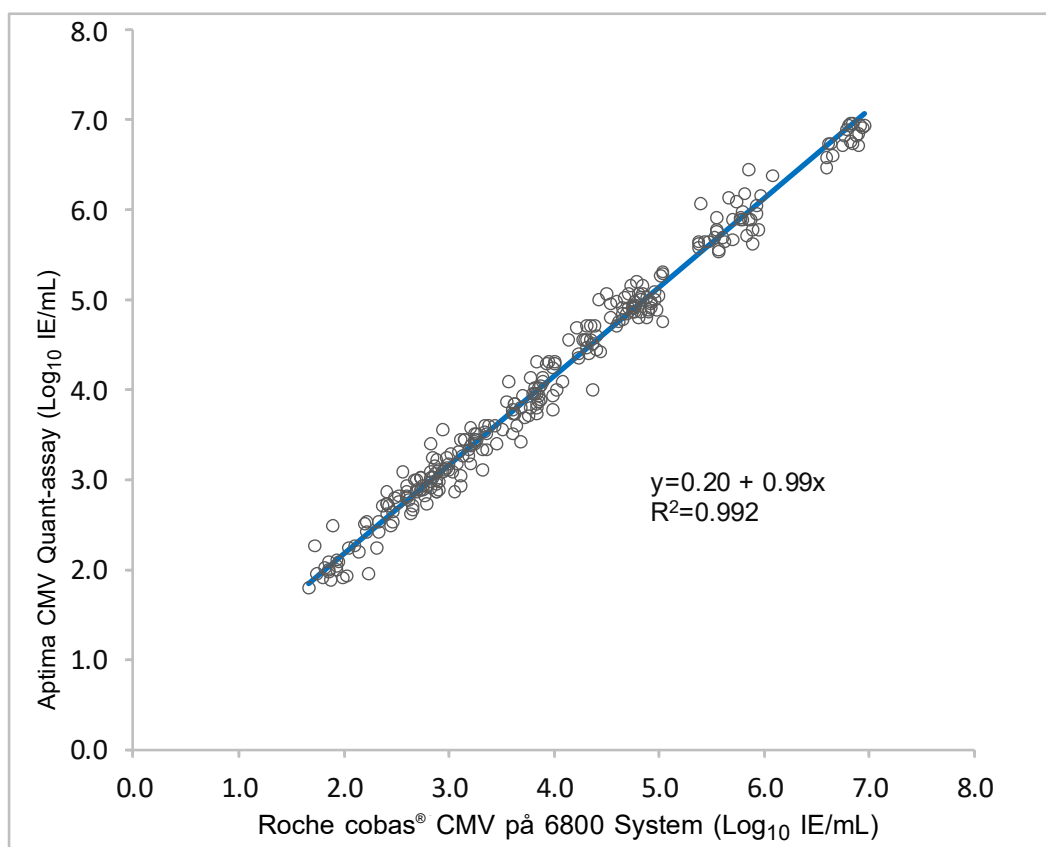
Mikroorganisme/patogen	Koncentration		Mikroorganisme/patogen	Koncentration	
Adenovirus type 4	1.886	TCID50/mL ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1.000.000	CFU/mL
BK Polyomavirus	1.000.000	cp/mL ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1.000.000	CFU/mL
Epstein-Barr virus	1.000.000	cp/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
Hepatitis B virus	1.000.000	IU/mL ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	CFU/mL
Hepatitis C virus	1.000.000	cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	CFU/mL
Herpes simplex virus type 1	1.428.571	TCID50/mL	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	1.000.000	CFU/mL
Herpes simplex virus type 2	147.143	TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	CFU/mL
HIV-1 undertype B	1.000.000	cp/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	CFU/mL
Human herpesvirus 6A	1.000.000	cp/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.000.000	CFU/mL
Human herpesvirus 7	1.428.571	TCID50/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
Human herpesvirus 8	1.000.000	cp/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.000.000	CFU/mL
Human Metapneumovirus	192.857	TCID50/mL	<i>Aspergillus niger</i>	485.000	CFU/mL
Human papillomavirus type 18	1.000.000	cp/mL	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	CFU/mL
Human parainfluenzavirus	944	TCID50/mL	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1.000.000	CFU/mL
Influenzavirus	3.857	TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	celler/ml
Rhinovirus	7.257	TCID50/mL	<i>Leishmania major</i> *	1.000.000	celler/ml
Varicella Zoster-virus	1.000.000	cp/mL	<i>Babesia microti</i> *	1.000.000	celler/ml
Zikavirus	29.286	TCID50/mL	<i>Plasmodium falciparum</i> *	1.000.000	celler/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	CFU/mL ^d	°TCID50 U/ml = Infektøse dosisenheder i vævskultur pr. ml		
<i>Clostridium perfringens</i>	1.000.000	CFU/mL	°vp/mL = Viruskopier pr. ml.		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	CFU/mL	°IE/ml = Internationale enheder pr. ml.		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.000.000	CFU/mL	°CFU/ml = Colony Forming Units (Kolonidannende enheder) pr. ml.		
<i>Escherichia coli</i>	1.000.000	CFU/mL	*testet med fuldblodsprøver		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.000.000	CFU/mL			

Korrelation mellem metoder

Denne undersøgelse blev udformet i overensstemmelse med CLSI EP09c.19

Korrelation mellem plasmametoder

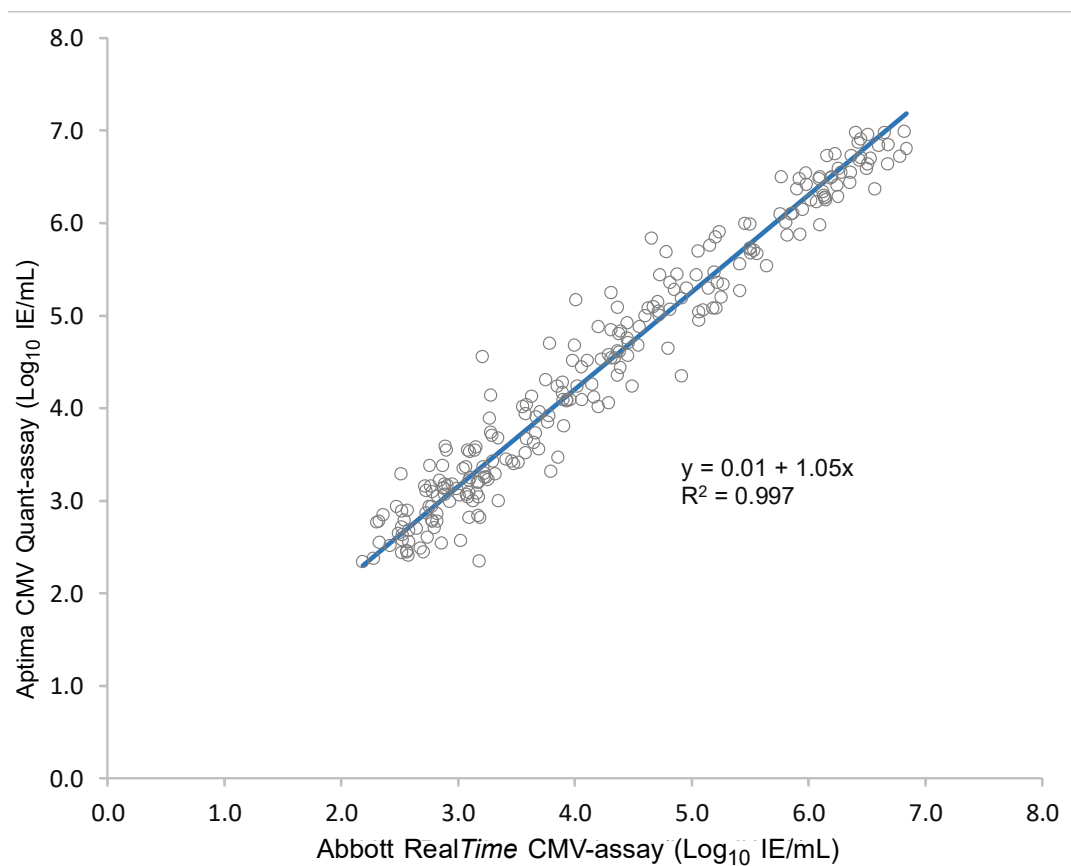
Aptima CMV Quant-analysens præstation blev vurderet i forhold til Roche cobas® CMV på cobas® 6800-systemet ved at teste ufortyndede kliniske prøver fra CMV-positive patienter og konstruerede prøver fremstillet af forskellige stammer af dyrket virus, der tilhører alle fire genotyper, der var tilsat i individuelt donornegativt EDTA-plasma. I alt 160 kliniske prøver og 115 konstruerede prøver inden for det lineære område, der er fælles for begge assays, blev anvendt til Deming-regression som vist i Figur 13.



Figur 13. Korrelation mellem CMV-virusbelastning i Aptima CMV Quant Assay og Roche cobas® CMV Assay ved test af plasmaprøver

Korrelation mellem helblodsmetoder

Aptima CMV Quant-analysens præstation blev vurderet i forhold til Abbott CMV RealTime Assay på m2000-plattformen ved at teste ufertyndede kliniske prøver fra CMV-positive patienter og konstruerede prøver fremstillet af dyrket virus tilsat individuelt donornegativt EDTA-helblod. I alt 159 kliniske prøver og 83 konstruerede prøver inden for det lineære område, der er fælles for begge assays, blev anvendt til Deming-regression som vist i Figur 14.



Figur 14. Korrelation mellem CMV-virusbelastning i Aptima CMV Quant Assay og Abbott RealTime CMV Assay ved test af fuldblodsprøver

Overførsel

Overførselskontaminering er blevet evalueret for Panther-systemet ved anvendelse af plasma som en prøvetype ved anvendelse af andre virale belastningsassays (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay). Der blev ikke observeret nogen overførselskontaminering ved tidligere test. For at fastslå, at Panther-systemet minimerer risikoen for falske positive resultater som følge af overførselsforurening i fuldblodsprøven, blev der udført en undersøgelse med tilsatte paneller på tre Panther-systemer. Overførsel blev vurderet ved hjælp af højtiterede CMV-DNA-spidsede fuldblodsprøver (6 log IE/ml) lejret mellem CMV-negative prøver i et skakternet mønster. Testningen fandt sted over tolv kørsler. Den samlede overførselsrate var 0,24 % (1/423).

Bibliografi

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.** The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EO05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Interference testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
21. **1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/162),**Merlin strain



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA



Hologic BV
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Besøg www.hologic.com/support for landespecifik teknisk support og kundeservicemail og telefonnummer.

Hologic, Aptima og Panther er varemærker og/eller registrerede varemærker, tilhørende Hologic, Inc. og/eller dets datterselskaber i USA og/eller andre lande.

Alle andre varemærker, der måtte findes i denne indlægsseddel, tilhører deres respektive ejere.

Dette produkt kan være omfattet af et eller flere amerikanske patenter, der findes på www.hologic.com/patents.

© 2021 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-21334-1901 Rev. 002

2021-08