

Aptima™ CMV Quant Assay

Gebruiksaanwijzing
Bestemd voor *in-vitro*diagnostiek
Alleen voor export uit de VS

Algemene informatie	2
Beoogd gebruik	2
Samenvatting en uitleg van de test	2
Uitgangspunten van de procedure	2
Samenvatting van veiligheid en prestaties	3
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	3
Eisen voor opslag en verwerking van reagentia	7
Specimenafname en -opslag	8
Monsters in het Panther System	11
Vervoer van specimens	11
Panther System	12
Geleverde reagentia en materialen	12
Benodigde maar apart geleverde materialen	14
Optionele materialen	15
Testprocedure voor het Panther System	15
Procedurele opmerkingen	22
Kwaliteitscontrole	23
Assaykalibratie	23
Negatieve en positieve controles	23
Interne kalibrator/interne controle	23
Interpretatie van resultaten	24
Beperkingen	25
Analytische prestaties	26
Detectielimiet op basis van de 1e internationale WHO-standaard	26
Detectielimiet van CMV-genotypen en geneesmiddelresistente mutanten	27
Lineair bereik	29
Lineariteit voor alle CMV-genotypen	31
Onderlimiet van kwantificering met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO	33
Bepaling van de ondergrens van kwantificering van CMV-genotypen en geneesmiddelresistente mutanten	35
Herleidbaarheid tot de 1e internationale WHO-standaard	38
Nauwkeurigheid	39
Potentieel interfererende substanties	41
Specificiteit	42
Analytische specificiteit	43
Carry over	44
Correlatie van methoden	44
Reproduceerbaarheid	46
Klinische prestaties	48
Klinische overeenkomst	48
Methodevergelijking	54
Gemiddeld gepaard verschil	59
Bias bij geselecteerde virale belastingsniveaus	60
Toegestaan Totaal Verschil (ATD)	61
Literatuur	66
Contactgegevens en overzicht van de wijzigingen	67

Algemene informatie

Beoogd gebruik

De Aptima™ CMV Quant-assay is een in vitro nucleïnezuuramplificatietest voor de kwantificering van menselijk cytomegalovirus-DNA in menselijk EDTA-plasma en volbloed op het volledig geautomatiseerde Panther™-systeem.

De Aptima CMV Quant-assay is bedoeld als hulpmiddel bij de diagnose en het beheer van patiënten met transplantatie van solide organen en hematopoëtische stamcellen.

De Aptima CMV Quant-assay is niet bedoeld voor gebruik als screeningtest voor de aanwezigheid van CMV in bloed of bloedproducten.

Samenvatting en uitleg van de test

Menselijke CMV is een alomtegenwoordig, lineair dubbelstrengs DNA-virus van 240 kb dat behoort tot de herpesfamilie. Afhankelijk van de bestudeerde populatie en de geografische regio, varieert de seroprevalentie van CMV wereldwijd van 45 tot 100%.^{1,2} In immunocompetente gastheren is een CMV-infectie over het algemeen asymptomatisch en zelflimiterend. Bij personen met een verzwakt immuunsysteem, zoals ontvangers van transplantaten en personen die besmet zijn met het humane immunodeficiëntievirus, is CMV echter een belangrijke oorzaak van morbiditeit en mortaliteit.

Net als andere herpesvirussen veroorzaakt CMV na een primaire infectie een levenslange latente infectie die sporadisch kan reacteren. Bij ontvangers van een transplantaat kan de overdracht van latent CMV in het transplantaat of reactivering van latente CMV-infectie in de gastheer resulteren in wijdverspreide virale replicatie en verspreiding naar meerdere organen, hetgeen vaak levensbedreigend is.³

Kwantitatieve nucleïnezuuramplificatietests zijn de voorkeursmethode voor het volgen van CMV-infectie en -ziekte bij ontvangers van een transplantaat omdat deze snel en gevoelig zijn.⁴ Recente richtlijnen bevelen ten minste wekelijkse controle van de CMV-viral load aan als leidraad bij beslissingen om met anti-CMV-therapie te beginnen en om de respons op de therapie te controleren.^{5,6,7,8} In het algemeen zijn hogere viral load waarden gecorreleerd met een verhoogd risico op CMV-ziekte.^{4,9} Kwantificering van CMV-DNA in combinatie met klinische presentatie en andere laboratoriummarkers is daarom van cruciaal belang bij de behandeling van patiënten met CMV-infectie.

Uitgangspunten van de procedure

De Aptima CMV Quant assay is een in-vitronucleïnezuuramplificatietest die gebruik maakt van real-time transcriptie-gemedieerde amplificatie (TMA)-technologie op het Panther System* voor het kwantificeren van CMV-DNA, genotype 1, 2, 3 en 4. Het primerontwerp richt zich op het sterk geconserveerde UL56-gen om nauwkeurige kwantificering van het CMV-DNA te garanderen. De assay is gestandaardiseerd in overeenstemming met de 1e internationale WHO-standaard (NIBSC-code: 09/162) voor menselijk cytomegalovirus.²¹

De Aptima CMV Quant Assay bestaat uit drie hoofdstappen die worden uitgevoerd in één buis op het Panther System: targetcapture, targetamplificatie door TMA, en detectie van de amplificatieproducten (amplicon) met de probes met fluorescente labels.

*Inclusief varianten van het Panther System.

Tijdens de targetcapture wordt viraal DNA uit de specimens geïsoleerd. Het specimen wordt behandeld met een detergent om de virusenvelop oplosbaar te maken, de eiwitten te denatureren en viraal genomisch DNA af te geven. Capture-oligonucleotiden hybridiseren met sterk geconserveerde regio's van CMV-DNA (indien aanwezig) in het testspecimen. De gehybridiseerde target wordt dan gevangen op magnetische microdeeltjes die in een magnetisch veld van het specimen worden gescheiden. Tijdens wasstappen worden niet essentiële componenten uit de reageerbuis verwijderd.

Targetamplificatie treedt op via TMA, een via transcriptie gemedieerde nucleïnezuuramplificatiemethode waarbij twee enzymen, MMLV (Moloney-muizenleukemievirus)-reverse-transcriptase en T7 RNA-polymerase, worden gebruikt. De reverse-transcriptase wordt gebruikt voor het maken van een DNA-kopie (met een promotorsequentie voor T7 RNA-polymerase) van de targetsequentie. Via T7 RNA-polymerase worden meerdere kopieën van RNA-amplicon aangemaakt op basis van het DNA-kopiesjabloon.

Detectie wordt gerealiseerd met behulp van fluorescerende probes van enkelstrengs nucleïnezuur tijdens amplificatie van de target die zorgen voor realtime hybridisatie specifiek aan het amplicon. Elke probe is uitgerust met een fluorofoor en een quencher (uitdover). Wanneer geen hybridisatie met het amplicon plaatsvindt, bevindt de quencher zich in de buurt van de fluorofoor en onderdrukt het fluorescentie. Wanneer de probe zich aan het amplicon bindt, raakt de quencher verder verwijderd van de fluorofoor en zendt die een signaal uit op een bepaalde golflengte als gevolg van excitatie door een lichtbron. Hoe meer hybridisatie tussen probes en amplicon plaatsvindt, des te sterker het fluorescerende signaal. De tijd tot de afgifte van een fluorescerende signaal loopt gelijk aan die van de beginconcentratie van CMV. Elke reactie heeft een interne kalibrator/interne controle (IC) die controleert op variaties in de verwerking, amplificatie en detectie van het specimen. De concentratie van een monster wordt vastgesteld door de Panther-systeemsoftware met behulp van de CMV- en IC-signalen voor elke reactie en deze te vergelijken met de kalibratiegegevens.

De assayresultaten worden omgerekend van kopieën/mL naar IE/mL met behulp van een conversiefactor die in de Panther-software is ingebouwd. De conversiefactorvergelijking wordt gebruikt voor zowel volbloed- als plasmaspecimens. Een verdunningsfactor van 4 wordt toegepast op CMV-virusbelastingresultaten voor volbloedmonsters wanneer de conversiefactor voor volbloed op het Panther-systeem is geselecteerd.

Samenvatting van veiligheid en prestaties

De SSP (Summary of Safety and Performance [Samenvatting van veiligheid en prestaties]) is beschikbaar in de Europese database voor medische hulpmiddelen (Eudamed), waar deze is gekoppeld aan de unieke identificatiecode voor medische hulpmiddelen (Basic UDI-DI). Raadpleeg de Basic Unique Device Identifier (BUDI) om de SSP voor Aptima CMV Quant-assay te vinden: **54200455DIAGAPTCMVAP**.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

- A. Bestemd voor *in-vitro* diagnostiek.
- B. Voor professioneel gebruik.
- C. Om het risico op ongeldige resultaten te verminderen, dient u de gehele bijsluiter en de juiste *Gebruikershandleiding bij het Panther/Panther Fusion System* zorgvuldig te lezen voordat u deze assay gebruikt.

Met betrekking tot het laboratorium

- D. LET OP: de controles bij deze assay bevatten menselijk plasma. Het plasma is negatief voor hepatitis-B-oppervlakte-antigeen (HBsAg), antistoffen tegen HCV, antistoffen tegen HIV-1 en HIV-2, en HIV-antigeen wanneer getest met door de Amerikaanse FDA (Food and Drug Administration) gelicentieerde procedures. Daarnaast is het plasma niet-reactief voor CMV-DNA, HBV-DNA, HCV-RNA en HIV-1-RNA wanneer getest met gelicentieerde nucleïnezuurtests met gepoolde monsters. Alle materiaal van menselijk bloed dient te worden beschouwd als potentieel besmettelijk en moet worden gehanteerd met universele voorzorgsmaatregelen.^{10,11,12}
- E. Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima CMV Quant Assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren. Als er materiaal is gemorst, desinfecteer dan onmiddellijk volgens de toepasselijke procedures binnen de instelling.
- F. Gebruik alleen de meegeleverde of aangegeven wegwerpartikelen voor in het laboratorium.
- G. Pas de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen voor laboratoria toe. Niet met de mond pipetteren. Eet, drink en rook niet in de aangegeven werkgebieden. Draag poederloze wegwerphandschoenen, oogbescherming en labjassen tijdens het verwerken van specimens en reagentia. Was de handen grondig na het verwerken van specimens en reagentia.
- H. Werkoppervlakken, pipetten en overige apparatuur moeten regelmatig worden ontsmet met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing.
- I. Voer alle materialen die in contact zijn geweest met monsters en reagentia af volgens de regionale voorschriften.^{10,11,12,13} Reinig en desinfecteer alle werkoppervlakken grondig.
- J. De controles bevatten natriumazide als conserveringsmiddel. Gebruik geen metalen buizen om reagentia over te zetten. Als oplossingen met natriumazideverbindingen via de gootsteen worden afgevoerd, moeten ze worden verdund en doorgespoeld met ruime hoeveelheden stromend water. Deze voorzorgsmaatregelen worden aanbevolen om te voorkomen dat afzettingen zich ophopen in metalen buizen waarin explosieve situaties kunnen ontstaan.
- K. Goede standaardpraktijk voor laboratoria voor moleculaire diagnostiek omvat controle van de laboratoriumomgeving. De volgende procedure wordt voorgesteld ter bewaking van een laboratoriumomgeving:
1. Pak een wattenstaafje en voeg het bij de Aptima-SAT-buis.
 2. Plak het juiste etiket op elke SAT-buis.
 3. Vul elke SAT-buis met 1 ml Aptima-specimenverdunningsmiddel.
 4. Bevochtig een staafje lichtjes met nucleasevrij gedeïoniseerd water om oppervlaktemonsters af te nemen.
 5. Neem een monster af door met het staafje verticaal van boven naar beneden over het betreffende oppervlak te gaan. Draai het staafje ongeveer een halve slag terwijl u het monster afneemt.
 6. Plaats het afgenomen monster onmiddellijk in de bus en roer het wattenstaafje voorzichtig met wervelende bewegingen door de verdunner om potentieel afgenomen materiaal te onttrekken. Druk het staafje tegen de binnenkant van de transportbuis om zo veel mogelijk vloeistof te onttrekken. Gooi het staafje weg en doe een dop op de bus.
 7. Herhaal de stappen voor de resterende monsters.
 8. Test het monster met een moleculaire assay.



Met betrekking tot het specimen



- L. De specimen kunnen besmettelijk zijn. Gebruik universele voorzorgsmaatregelen^{10,11,12} bij het uitvoeren van deze assay. De juiste verwerkings- en afvoermethoden moeten overeenkomstig de plaatselijke milieuvoorschriften worden vastgesteld.¹¹ Alleen personeel dat adequaat is opgeleid in het gebruik van de Aptima CMV Quant Assay en in het omgaan met potentieel besmettelijk materiaal, mag deze procedure uitvoeren.
- M. Zorg dat de specimen worden verzonden onder de juiste opslagomstandigheden om hun integriteit te waarborgen. De stabiliteit van de specimen in andere dan de aanbevolen verzendingsomstandigheden is niet geëvalueerd.
- N. Voorkom kruiscontaminatie tijdens de stappen waarin de specimen worden verwerkt. Wees vooral voorzichtig als u de doppen van de specimen losmaakt of verwijdert om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Monsters kunnen uitermate veel organismen bevatten. Zorg ervoor dat specimen niet met elkaar in contact komen en voer gebruikt materiaal niet over open buizen af. Vervang uw handschoenen als deze met een specimen in contact komen.

Met betrekking tot de assay

- O. Gebruik de reagenskit, de kalibrator of de controles niet na de vervaldatum.
- P. Verwissel, meng of combineer geen assayreagentia uit kits met verschillende lotnummers. De assayvloeistoffen kunnen afkomstig zijn van verschillende lotnummers. De controles en de kalibrator kunnen afkomstig zijn van verschillende lotnummers.
- Q. Voorkom microbiële en nuclease contaminatie van de reagentia.
- R. Doe een dop op alle assayreagentia bij gespecificeerde temperaturen en sla ze op. Gebruik van verkeerd opgeslagen reagentia kan de uitslag van de assay negatief beïnvloeden. Zie *Eisen voor opslag en verwerking van reagentia* en *Testprocedure voor het Panther System* voor meer informatie.
- S. Combineer geen assayreagentia of vloeistoffen zonder specifieke aanwijzingen. Flessen voor reagentia of vloeistoffen mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther System verifieert het peil van de reagentia.
- T. Vermijd aanraking van TER met huid, ogen en slijmvliezen. Was met water als er zich contact met deze reagens voordoet. Als er reagens is gemorst, verdun deze met water en volg de procedures die op deze locatie van toepassing zijn.
- U. Enkele reagentia in deze kit zijn voorzien van risico- en veiligheidssymbolen.

Opmerking: Gevarencommunicatie volgt de classificaties in veiligheidsinformatiebladen (SDS) van de EU. Raadpleeg voor specifieke informatie over gevaarlijke stoffen voor uw regio het regio-specifieke veiligheidsinformatieblad in de bibliotheek met veiligheidsinformatiebladen op www.hologic.com. Raadpleeg de legenda van de symbolen op <http://www.hologic.com/package-inserts> voor meer informatie over de symbolen.

Europese gevareninformatie	
	<p>CMV Kit-controles <i>Humaan Serum/Humaan Plasma 95-100%</i> <i>Natriumazide < 1%</i></p>
	<p>WAARSCHUWING H312 - Schadelijk bij contact met de huid H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen EUH032 - Bij contact met zuren komt zeer giftig gas vrij P273 - Voorkom lozing in het milieu P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>

	<p>Kit met kalibrator HEPES 15-20% Laurylsulfaat lithiumzout 5-10% Lithiumhydroxide, monohydraat 1-5% Succinaatzuur 1-5%</p> <p>— —</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 - Voorkom lozing in het milieu P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
 	<p>Target Enhancer Reagent (TER) Lithiumhydroxide, monohydraat 5-10%</p> <p>GEVAAR H302 - Schadelijk bij inslikken H314 - Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel P260 - Stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel niet inademen P280 - Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen P303 + P361 + P353 - INDIEN OP DE HUID (of het haar): Trek alle besmette kleding onmiddellijk uit. Spoel de huid af met water/douche P305 + P351 + P338 - INDIEN IN DE OGEN: Spoel minutenlang voorzichtig met water. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen P310 - Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM of een arts raadplegen P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
	<p>Promotorreagens Magnesiumchloride 55-60%</p> <p>— —</p> <p>H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 – Voorkom lozing in het milieu P280 – Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
	<p>Amplificatiereagens Magnesiumchloride 65-70%</p> <p>— —</p> <p>H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 – Voorkom lozing in het milieu P280 – Draag oogbescherming/gelaatsbescherming</p>
	<p>Target Capture Reagens HEPES 15-20% Laurylsulfaat lithiumzout 5-10% Succinaatzuur 1-5% Lithiumhydroxide, monohydraat 1-5%</p> <p>— —</p> <p>H412 - Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 - Voorkom lozing in het milieu P280 - Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>
	<p>Enzymreagens HEPES 1-5%</p> <p>— —</p> <p>H412 – Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen P273 – Voorkom lozing in het milieu P280 – Oogbescherming/gelaatsbescherming dragen</p>

Eisen voor opslag en verwerking van reagentia

- A. In de volgende tabel worden de opslagomstandigheden en stabiliteit voor reagentia, controles en kalibrator weergegeven.

Reagens	Ongeopende opslag	Open kit (gereconstitueerd)	
		Opslag	Stabiliteit
qCMV-amplificatiereagens	2°C tot 8°C		
qCMV-amplificatiereconstitutieplossing	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^a
qCMV-enzymreagens	2°C tot 8°C		
qCMV-enzymreconstitutieplossing	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^a
qCMV-promotorreagens	2°C tot 8°C		
qCMV-promotorreconstitutieplossing	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^a
qCMV Target Capture Reagent	2°C tot 8°C	2°C tot 8°C	30 dagen ^a
qCMV PCAL (positieve kalibrator)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qCMV NC CONTROL – (negatieve controle)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qCMV LPC CONTROL + (laag-positieve controle)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qCMV HPC CONTROL + (hoog-positieve controle)	-15°C tot -35°C	15°C tot 30°C	Wegwerpflacon Binnen 24 uur gebruiken
qCMV Target Enhancer Reagent	15°C tot 30°C	15°C tot 30°C	30 dagen ^a

^a Wanneer reagentia uit het Panther System worden gehaald, moeten ze onmiddellijk opnieuw op de juiste opslagtemperatuur worden gebracht.

- B. Voer ongebruikte gereconstitueerde reagentia, TCR (target capture reagent) en TER (target enhancer reagent) na 30 dagen af of, indien dat eerder het geval is, na de uiterste houdbaarheidsdatum van het masterlot.
- C. Reagentia in het Panther System blijven daarin 96 uur stabiel. Reagentia kunnen maximaal 8 keer in het Panther System worden geplaatst. Het Panther System registreert elke keer dat de reagentia worden geladen.
- D. Na ontdooiing van de kalibrator moet de oplossing helder zijn, dus niet troebel en zonder neerslag. Zorg ervoor dat de neerslag is opgelost. Gebruik de kalibrator niet in geval van gelvorming, neerslag of troebelheid.
- E. Het gelyofiliseerde promoterreagens en het gereconstitueerde promoterreagens zijn lichtgevoelig. Bescherm deze reagentia tegen licht tijdens opslag of voorbereiding voor gebruik.
- F. De qCMV Target Enhancer Reagent moet zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór gebruik.

Specimenafname en -opslag

Opmerking: Behandel alle specimens alsof ze potentieel besmettelijke stoffen bevatten. Pas universele voorzorgsmaatregelen toe.

Opmerking: Voorkom kruiscontaminatie tijdens de stappen waarin de specimens worden verwerkt. Voer gebruikt materiaal bijvoorbeeld niet over open buizen af.

Opmerking: Alleen kunststof secundaire buisjes zijn geschikt voor opslag van monsters.

Volbloedspecimens die in de volgende glazen of kunststof buizen zijn afgenomen, kunnen worden gebruikt om plasma te prepareren:

- Buisen die EDTA-anticoagulantia bevatten
- PPT-buisen (Plasma Preparation Tubes)

A. Afname van specimens

1. Plasma: Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 24 uur na afname van het specimen worden gecentrifugeerd. Scheid het plasma van de gepelleteerde rode bloedcellen volgens de instructies van de fabrikant van de gebruikte buis. Plasma kan in het primaire buisje worden getest op het Panther System of worden overgebracht naar een secundair buisje, zoals het Aptima SAT-buisje (Specimen Aliquot Tube). Om het monstervolume van 500 µL te verkrijgen, bedraagt het minimumvolume plasma voor primaire afnamebuisjes maximaal 1200 µL. Voor secundaire buisjes bedraagt het minimumvolume 700 µL om het monstervolume van 500 µL te verkrijgen. In de volgende tabel is weergegeven hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten.

Buisje (afmeting en type)	Dood volume bij Panther
Aptima SAT-buisje (Sample Aliquot Tube)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm met gel	0,3 mL
16 x 100 mm met gel	0,7 mL

Als deze niet onmiddellijk worden getest, kan het plasma volgens de onderstaande specificaties worden bewaard. Indien overgebracht in een secundair buisje, kan het plasma worden ingevroren bij -20°C of -70°C. Niet meer dan 3 vries-dooi-cycli toepassen. Vries de plasmasspecimens niet in primaire EDTA-afnamebuisjes in.

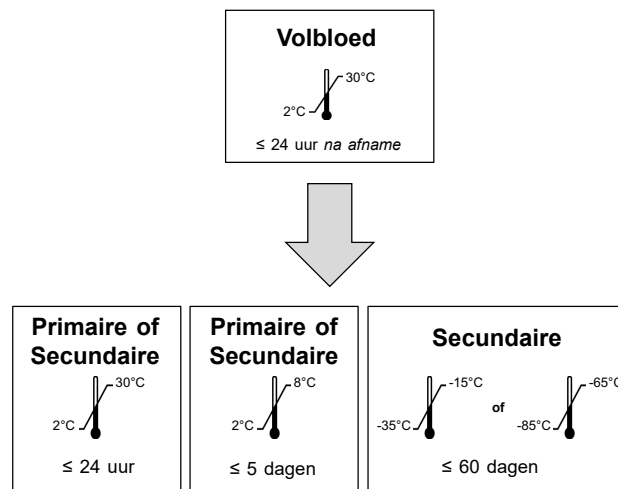
2. Volbloed moet worden verwerkt met behulp van buisjes die voorgevuld zijn met verdunningsmiddel voor volbloed voordat het op het Panther System wordt getest. Niet meer dan 3 vries-dooi-cycli voor onverwerkte volbloedmonsters toepassen.

B. Bewaarcondities voor specimens

1. EDTA-Plasmaspecimens

Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 24 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Plasma kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 24 uur bij 2°C tot 30°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje,
- Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in het primaire afnamebuisje of het secundaire buisje, of
- Maximaal 60 dagen bij -20°C of -70°C in het secundaire buisje.

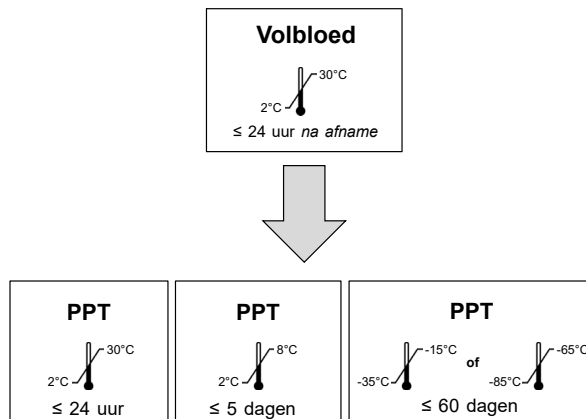


Afbeelding 1. Bewaarcondities voor EDTA-buisjes

2. PPT-specimens

Volbloed kan worden bewaard bij 2°C tot 30°C en moet binnen 24 uur na specimenafname worden gecentrifugeerd. Plasma kan vervolgens onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 24 uur bij 2°C tot 30°C in de PPT.
- Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in de PPT,
- Maximaal 60 dagen bij -20°C of -70°C in de PPT.

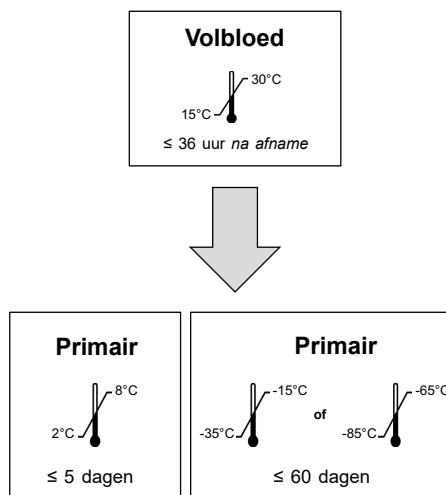


Afbeelding 2. Bewaarcondities voor PPT-buisjes

3. Volbloedspecimens

Volbloed kan worden bewaard bij 15°C tot 30°C tot 36 uur na afname van het specimen. Afnomen volbloed kan onder een van de volgende omstandigheden worden bewaard:

- Maximaal 5 dagen bij 2°C tot 8°C in het primaire afnamebuisje,
- Maximaal 60 dagen bij -20°C of -70°C in het primaire afnamebuisje.



Afbeelding 3. Bewaarcondities voor volbloedspecimens

Monsters in het Panther System

Plasma en verwerkte volbloedmonsters mogen zonder dop maximaal 8 uur in het Panther System achterblijven. Monsters mogen uit het Panther System worden gehaald en getest zolang ze niet langer dan 8 uur totaal in het systeem hebben gezeten voordat het monster in het Panther System werd gepipetteerd.

Vervoer van specimens

De monsters moeten onder dezelfde omstandigheden worden bewaard als beschreven in *Specimenafname en -opslag*.

Opmerking: *Specimens moeten worden vervoerd volgens de toepasselijke nationale, internationale en regionale regelgeving voor transport.*

Panther System

Hieronder staan reagentia voor de Aptima CMV Quant Assay voor het Panther System vermeld. Naast de naam van het reagens worden tevens de identificatiesymbolen weergegeven.

Geleverde reagentia en materialen

Aptima CMV Quant Assay Kit, 100 tests (Cat. Nr. PRD-05074)

(1 doos met assays, 1 doos met target enhancer reagent, 1 kalibratorset en 1 controlekit)

Aptima CMV Quant Assay-doos

(bewaren bij 2°C tot 8°C na ontvangst)

Symbol	Component	Aantal
A	qCMV-amplificatiereagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
E	qCMV-enzymreagens <i>Reverse-transcriptase en RNA-polymerase gedroogd in met HEPES gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
PRO	qCMV-promotorreagens <i>Niet-besmettelijke nucleïnezuren gedroogd in gebufferde oplossing.</i>	1 flacon
AR	qCMV-amplificatiereconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qCMV-enzymreconstitutieoplossing <i>Met HEPES gebufferde oplossing met een surfactans en glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qCMV-promotorreconstitutieoplossing <i>Oplossing in water met glycerol en conserveringsmiddelen.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qCMV Target Capture Reagent <i>Nucleïnezuren in een gebufferde zoutoplossing met vastefase-, niet-besmettelijke nucleïnezuren en een interne kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Reconstitueadaptors	3
	Barcodeblad masterlot	1 blad

Aptima CMV Quant Target Enhancer Reagent-doos

(na ontvangst bewaren bij 15°C tot 30°C)

Symbol	Component	Aantal
TER	qCMV Target Enhancer Reagent <i>Een geconcentreerde oplossing van lithiumhydroxide.</i>	1 x 46,0 ml

Aptima CMV Quant-kalibratorkit (Cat. No. PRD-05075)
(bewaren bij -15°C tot -35°C na ontvangst)

Symbol	Component	Aantal
PCAL	qCMV Positieve kalibrator <i>Plasmide DNA in gebufferde oplossing.</i>	5 x 2,5 ml
	Barcodelabel kalibrator	—

Aptima CMV Quant-controlekit (Cat. No. PRD-05076)
(bewaren bij -15°C tot -35°C na ontvangst)

Symbol	Component	Aantal
NC	Negatieve qCMV-controle <i>CMV-negatief gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Laag-positieve qCMV-controle <i>Gedeactiveerd CMV in gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Hoog-positieve qCMV-controle <i>Gedeactiveerd CMV in gedefibrineerd menselijk plasma met gentamicine en 0,2% natriumazide als conserveringsmiddelen.</i>	5 x 0,8 ml
	barcodelabel controles	—

Benodigde maar apart geleverde materialen

Opmerking: Voor materialen die bij Hologic verkrijgbaar zijn, is het catalogusnummer vermeld, tenzij ze op andere wijze zijn gespecificeerd.

Materiaal	Cat. nr.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther-systeem, Continue vloeistof en afval (Panther Plus)	PRD-06067
Panther-runkit voor realtime assays (uitsluitend voor realtime assays)	PRD-03455 (5.000 tests)
<i>Aptima™-kit met assayvloeistof (ook bekend als universele vloeistofkit) bevat Aptima-wasoplossing, Aptima-buffer voor deactiveringsvloeistof en Aptima-oliereagens</i>	303014 (1000 tests)
<i>Multi-tube units (MTU's, uit meerdere buisjes bestaande eenheden)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit (afvalzakpakket)</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover (afvalbakdeksel)</i>	504405
Of runkit voor het Panther System	
<i>(als niet-realtime TMA-assays op hetzelfde moment met realtime TMA-assays worden gedraaid) bevat MTU's, afvalzakken, afvalbakdeksels, automatische detectie en assayvloeistof</i>	303096 (5.000 tests)
Buisjes voor verdunningsmiddel voor volbloed (alleen voor verwerking van volbloedspecimens)	PRD-06783 (100 voorgevulde buisjes per zak)
Tips, 1000 µL, gefilterd, geleidend, vloeistofdetectie, en voor eenmalig gebruik	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Sommige producten zijn niet in alle regio's verkrijgbaar. Neem contact op met uw vertegenwoordiger voor specifieke informatie over de verkrijgbaarheid in uw regio.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bleekmiddel, 5% tot 8.25% (0,7 M tot 1,16 M) natriumhypochlorietoplossing	—
Poederloze wegwerphandschoenen	—
Vervangende niet-doorprikbare doppen	103036A
Vervangende vaste doppen van Hologic (buisdop voor eenmalig gebruik voor de verwerking van volbloed)	PRD-06720
Vervangende doppen voor reagentia	
<i>Amplificatie-, enzym- en promotorreagens reconstitutieflessen</i>	
	<i>CL0041 (100 doppen)</i>
<i>TCR-fles</i>	<i>CL0040 (100 doppen)</i>
<i>TER-fles</i>	<i>903302 (100 doppen)</i>
Laboratoriumtafellaken met plastic achterkant	—
Pluivrije doekjes	—
Pipet	—
Tips [Tippen]	—
Opties primair afnamebuisje (EDTA en PPT):	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Optionele materialen

Materiaal	Cat. nr.
Opties secundaire buisjes:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-SAT-buizen (100 stuks)	503762
Doppen voor transportbuisjes (100 stuks)	504415
dop voor SAT-buis	
Aptima-specimenverdunningsmiddel	PRD-03003
Aptima-specimenverdunningsmiddelkit	PRD-03478
bevat Aptima-specimenverdunningsmiddel, 100 SAT-buizen en 100 doppen	
Transferpipetten	—
Wattenstaafjes	—
Schudmachine	—

Testprocedure voor het Panther System

Opmerking: Raadpleeg de juiste Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion System voor aanvullende informatie over procedures.

A. Voorbereiding werkgebied

1. Reinig de werkoppervlakken waar reagentia worden bereid. Veeg de werkoppervlakken af met 2,5% tot 3,5% (0,35 M tot 0,5 M) natriumhypochlorietoplossing. Laat de natriumhypochlorietoplossing ten minste 1 minuut intrekken en spoel de werkoppervlakken vervolgens af met gedeïoniseerd (DI) water. De natriumhypochlorietoplossing mag niet opdrogen. Bedek het tafelblad met schone, absorberende laboratoriumtafelkleden met een plastic achterkant.
2. Reinig een apart deel van het werkoppervlak waar monsters worden bereid. Gebruik de hierboven beschreven procedure (stap A.1).
3. Reinig de pipetten. Gebruik de hierboven beschreven reinigingsprocedure (stap A.1).

B. Voorbereiding kalibrator en controles

Voer de volgende stappen uit om ervoor te zorgen dat de kalibrator en controles zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking:

1. Verwijder de kalibrator en controle uit de opslag (-15°C tot -35°C) en plaats ze tussen 15°C en 30°C. Draai elke buis voorzichtig om en dit meermaals tijdens het volledige ontdooiingsproces, zodat de inhoud van de buizen grondig wordt vermengd. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooit is.

Optie. Kalibrator- en controlebuizen mogen op een schudmachine worden geplaatst om de inhoud goed te mengen. Controleer vóór gebruik of de inhoud van de buis volledig ontdooit is.

Opmerking: Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van de kalibrator en de controles. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther System.

2. Droog na ontdooiing van de inhoud de buitenkant van de buis af met een schoon, droog wegwerpdoekje.
3. Open de buizen niet om contaminatie te voorkomen.

C. Reconstitutie van de reagens/prepareren van een nieuwe kit

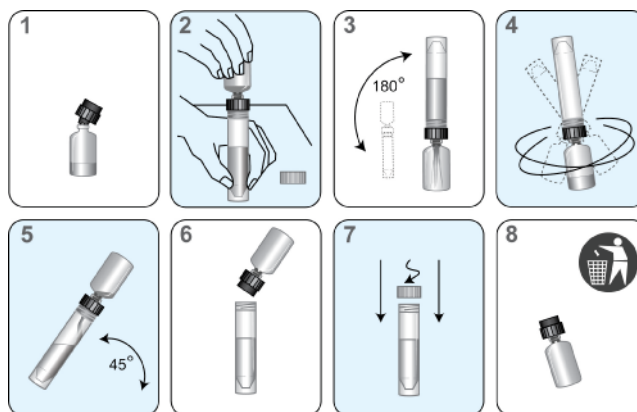
Opmerking: Reagentia moeten voorafgaand aan gebruik met het Panther System worden gereconstitueerd.

1. Ga als volgt te werk om het TCR (Target Capture Reagens) voor te bereiden:
 - a. Haal de TCR uit de opslag (2°C tot 8°C). Controleer of het lotnummer op de TCR-fles overeenkomt met het lotnummer op het barcodeblad van het masterlot.
 - b. Schud de TCR-fles onmiddellijk 10 keer krachtig heen en weer. Laat de TCR-fles bij 15°C tot 30°C ten minste 45 minuten opwarmen. In die tijdsperiode dient u de TCR-fles ten minste om de 10 minuten rond te draaien en om te keren.

Optie. De TCR-fles kan op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de TCR uit de opslag (2°C tot 8°C) en schud de fles onmiddellijk 10 keren krachtig. Zet de TCR-fles op een schudmachine en laat ze bij 15°C tot 30°C ten minste 45 minuten opwarmen.
 - c. Controleer vóór gebruik of alle neerslag is opgenomen in de oplossing en de magnetische deeltjes zijn gesuspendeerd.
2. Ga als volgt te werk om amplificatie-, enzym- en promotorreagentia te reconstitueren:
 - a. Haal de gevriesdroogde reagentia en bijbehorende reconstitutieoplossingen uit de opslag (2°C tot 8°C). Voeg elke reconstitutieoplossing toe aan het bijbehorende gevriesdroogde reagens.
 - b. Controleer of de etiketten op de reconstitutieoplossing en het gevriesdroogde reagens dezelfde kleur hebben. Controleer de lotnummers op het barcodeblad van het masterlot om te garanderen dat de juiste reagentia met elkaar worden gecombineerd.
 - i. Open het gevriesdroogde reagensflesje door de metalen afdichting te verwijderen en de rubberen stop eraf te halen.
 - ii. Steek het ingekeepte uiteinde van de reconstitutie adaptor (zwart) goed in het flesje (Afbeelding 4, stap 1).
 - iii. Open de bijbehorende fles met reconstitutieoplossing en leg de dop op een schoon, afgedekt werkoppervlak.
 - iv. Plaats de fles met reconstitutieoplossing op een stabiele ondergrond (bijvoorbeeld een tafel). Keer vervolgens het flesje met gevriesdroogde reagens boven de fles met reconstitutieoplossing om en bevestig de adaptor goed op de fles met reconstitutieoplossing (Afbeelding 4, stap 2).
 - v. Keer de aan elkaar bevestigde flessen (reagensflesje aan de fles met oplossing) langzaam om de oplossing in het glazen flesje te laten leeglopen (Afbeelding 4, stap 3).
 - vi. Pak de aan elkaar bevestigde flessen op en draai ze gedurende ten minste 10 seconden rond (Afbeelding 4, stap 4).
 - vii. Wacht ten minste 30 minuten totdat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen.
 - viii. Draai nadat het gevriesdroogde reagens in de oplossing is opgenomen, de aan elkaar bevestigde flessen ten minste 10 seconden rond en schud de oplossing in het glazen flesje daarna lichtjes heen en weer om de inhoud goed te vermengen.
 - c. Kantel de aan elkaar bevestigde flessen weer langzaam, zodat alle oplossing terug in de fles met reconstitutieoplossing terugstroomt (Afbeelding 4, stap 5).

- d. Verwijder de reconstitutie adaptor en het glazen flesje voorzichtig (Afbeelding 4, stap 6).
- e. Plaats de dop terug op de fles. Noteer de initialen van de gebruiker en de datum van reconstitutie op het etiket (Afbeelding 4, stap 7).
- f. Gooi de reconstitutie adaptor en de glazen flacon weg (Afbeelding 4, stap 8).

Waarschuwing: Voorkom overmatige schuimvorming bij reconstitutie van reagentia. Schuim verstoort detectie van het vloeistofpeil door het Panther System.



Afbeelding 4. Proces van reconstitutie van reagens

3. Haal de qCMV Target Enhancer Reagent uit de opslag (15°C tot 30°C). Noteer de initialen van de gebruiker en de datum op het etiket. Controleer of het lotnummer op de TER-fles overeenkomt met het lotnummer op het barcodeblad van het masterlot.
- D. Bereiding van reagentia voor eerder bereide reagentia uit de opslag
1. Haal de eerder voorbereide reagentia uit de opslag (2°C tot 8°C). Eerder bereide amplificatie-, enzym- en promotorreagentia en TCR moeten op 15°C tot 30 °C worden gebracht voorafgaand aan de aanvang van de assay.
 2. Haal de TER uit de opslag (15°C tot 30°C).
 3. Voer voor eerder bereid TCR stap C.1 hierboven uit voordat u het met het systeem gebruikt.
 4. Om de amplificatie-, enzym- en promotorreagentia grondig te mengen voor ze in het systeem worden gebruikt, dient u ze rond te draaien en om te keren. Voorkom overmatige schuimvorming bij het omkeren van reagentia.
- Optie.** De eerder bereide reagentia kunnen op een schudmachine worden bereid volgens onderstaande aanwijzingen: Haal de reagentia uit de opslag (2°C tot 8°C). Plaats de reagentia op een schudmachine en laat ze bij 15°C tot 30°C ten minste 30 minuten opwarmen.
5. Flessen met reagentia mogen niet helemaal worden gevuld. Het Panther System herkent te volle flessen en verwerkt die niet.
- E. Hantering van een plasmaspecimen
1. Bewaar verwerkte specimen in primaire buisjes of onverdunde specimen in secundaire buisjes op de juiste manier volgens de richtlijnen in *Specimenafname en -opslag*.
 2. Controleer of bevroren specimen goed ontdooid zijn. Meng de ontdooid specimen gedurende 3 tot 5 seconden goed met de vortexmixer.

3. Zorg dat de specimens zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking. Raadpleeg *Monsters in het Panther System* voor aanvullende informatie.
4. Controleer of elk primair afnamebuisje ten minste 1200 µl specimen of elk secundair buisje ten minste 700 µl specimen bevat. Raadpleeg de tabel op *Afname van specimens* om te bepalen hoeveel dood volume elk type primair en secundair buisje moet bevatten.
5. Vlak voordat u de specimens in een monsterrek plaatst, centrifugeert u elk specimen gedurende 10 minuten op 1000 tot 3000g. Verwijder bij deze stap de doppen niet. Raadpleeg stap G.2 hieronder, voor informatie over het laden van het rek en het verwijderen van de doppen.

F. Hantering van een volbloedspecimen

1. Zorg ervoor dat onverwerkte monsters in primaire buizen goed bewaard worden conform *Specimenafname en -opslag*.
2. Controleer of bevroren specimens goed ontdooid zijn.
3. Zorg dat de specimens zich tussen 15°C en 30°C bevinden vóór verwerking. Raadpleeg *Monsters in het Panther System* voor aanvullende informatie.
4. Keer de buisjes volbloed ten minste driemaal voorzichtig om, of meng ze voorzichtig op een schudmachine, totdat het bloed homogeen is.
5. Voordat het specimen wordt verwerkt, moet op elk specimen de volgende procedure worden uitgevoerd.
 - a. Het bloed in de primaire buisjes moet door omkeren grondig worden gemengd en het monster moet onmiddellijk worden overgebracht in het buisje met volbloedverdunningsmiddel.
 - b. Voeg 500 µL volbloedspecimen toe aan het buisje dat is gevuld met volbloedverdunningsmiddel.
 - c. Plaats de dop terug en vortex het monster gedurende ten minste 5 seconden. Raadpleeg stap G.2 hieronder, voor informatie over het laden van het rek en het verwijderen van de doppen.

G. Voorbereiding van het systeem

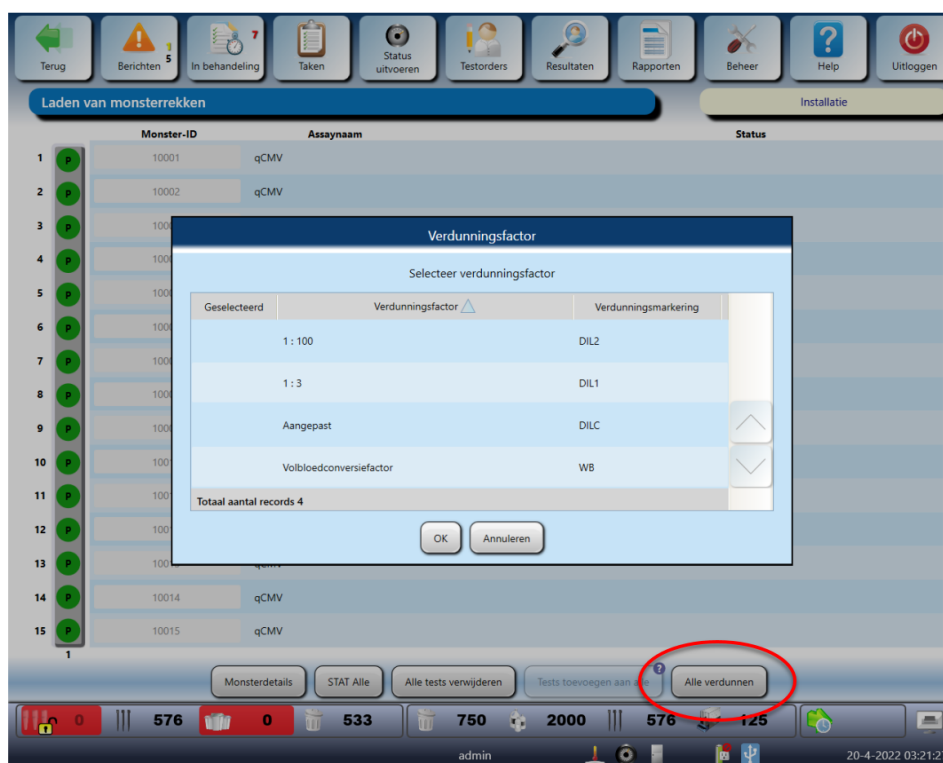
1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *Gebruikershandleiding van het Panther/Panther Fusion System* en *Procedurele opmerkingen*. Zorg ervoor dat u reagensrekken en TCR-adapters van het juiste formaat gebruikt.
2. Plaats de monsters in het monsterrek. Voer voor elke monsterbuis (specimen en, wanneer nodig, kalibrator en controles) de volgende stappen uit:
 - a. Maak één monsterdop los, maar verwijder de dop nog niet.

Opmerking: wees vooral voorzichtig om besmetting via verspreiding van aerosolen te voorkomen. Maak de doppen op de monsters voorzichtig los.
 - b. Plaats de monsterbuis in het monsterrek.
 - c. Herhaal stap 2.a en 2.b voor elk resterend monster.
 - d. Wanneer de monsters in het monsterrek zijn geplaatst, dient u de dop van elke monsterbuis in één monsterrek eraf te halen en af te voeren. Houd een dop niet boven andere monsterrekken of monsterbuizen om vervuiling te voorkomen.
 - e. Gebruik zo nodig een nieuwe wegwerptransferpipet om luchtbellen of schuim te verwijderen. Luchtbellen in de buis verstoren detectie van het vloeistofpeil door het Panther System.

- f. Wanneer de laatste dop is verwijderd, plaatst u het monsterrek in de monsterbay.
Opmerking: Als u tegelijkertijd andere assays met andere monstertypes uitvoert, zet de monsterhouder dan vast voordat u het monsterrek in de monsterbay plaatst.
- g. Herhaal stap 2.a tot en met 2.f voor het volgende monsterrek.
- H. Voorbereiding van het systeem - Toepassen van de conversiefactor voor een volbloedspecimen
1. Stel het systeem in volgens de instructies in de *Panther/Panther Fusion-systeem Gebruikershandleiding*.
 2. Het monsterrek laden.
 3. Pas de volbloed-conversiefactor toe op de assay-testorders voor volbloedspecimens.
- Opmerking:** De conversiefactor voor volbloed kan worden toegepast op een heel rek of op één enkele testorder.

Om de conversiefactor voor volbloed toe te passen op een heel rek met volbloedspecimens:

- a. In het scherm *Sample Rack Bay* [Monsterrek] dubbelklikt u op het geladen rek in kwestie. Het scherm *Sample Rack Loading* [Laden van monsterrekken] wordt weergegeven voor het geselecteerde rek.
- b. Selecteer **Dilute All** [Alles verdunnen]
 Het venster Dilution Factor [Verdunningsfactor] wordt getoond.



Afbeelding 5. Het scherm Dilution Factor [Verdunningsfactor] in het scherm Sample Rack Loading [Laden van monsterrekken] (voorbeeld)

- c. Selecteer **Whole Blood Conversion Factor [Conversiefactor voor volbloed]**
- d. Selecteer **OK**.

Het scherm *Set Dilution Factor for Rack* [Stel verdunningsfactor voor rek in] verschijnt.

- e. Selecteer **Yes [Ja]** om de vlag voor de volbloed-conversiefactor toe te passen op het volledige rek met volbloedspecimens.

Om de volbloedconversiefactor op één testorder toe te passen (zie de afbeelding hieronder):

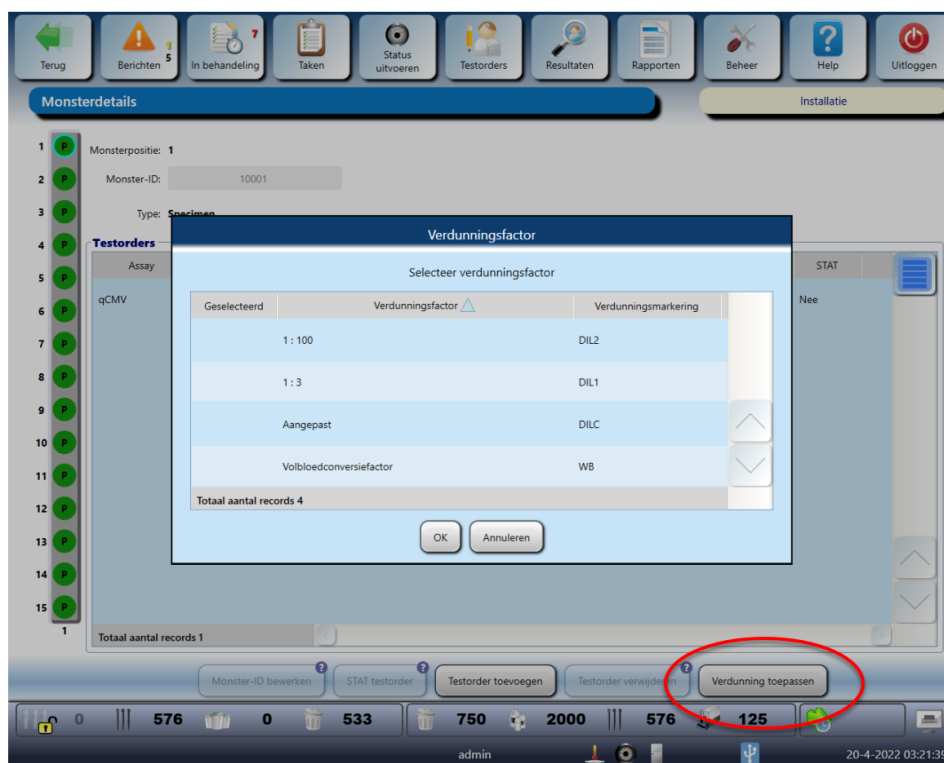
- a. In het scherm *Sample Rack Bay* [Bay voor monsterrekken] dubbelklikt u op het geladen rek met het/de specimen(s) in kwestie.

Het scherm *Sample Rack Loading* [Laden van monsterrekken] wordt weergegeven voor het geselecteerde monsterrek.

- b. Op het scherm *Sample Rack Loading* [Laden van monsterrekken] dubbelklikt u op het specimen in kwestie.

Het scherm *Sample Details* [Monsterdetails] wordt weergegeven met de huidige testorders voor het geselecteerde specimen.

- c. Selecteer de desbetreffende testorder in het panel *Test Orders* [Testorders].
- d. Selecteer **Apply Dilution [Verdunning toepassen]**.



Afbeelding 6. Het venster Dilution Factor [Verdunningsfactor] in het scherm Sample Details [Monsterdetails] (voorbeeld)

- e. Selecteer **Whole Blood Conversion Factor [Conversiefactor voor volbloed]**
 - f. Selecteer **OK** om de markering voor de volbloed-conversiefactor toe te passen op alle geselecteerde testorders.
4. Indien noodzakelijk kan de conversiefactor voor volbloed van de testorders worden verwijderd voordat met de verwerking wordt gestart.

Om de conversiefactor voor volbloed van een heel rek te verwijderen:

1. In het scherm *Sample Rack Bay* [Monsterrek] dubbelklikt u op het geladen rek in kwestie.

Het scherm *Sample Rack Loading* [Laden van monsterrekken] wordt weergegeven voor het geselecteerde rek.

2. Selecteer **Dilute All [Alles verdunnen]**
3. In het venster *Dilution Factor* [Verdunningsfactor], deselecteert u **Whole Blood Conversion Factor [Conversiefactor voor volbloed]**.

4. Selecteer **OK**.

Het venster *Set Dilution Factor for Rack* [Stel verdunningsfactor voor rek in] verschijnt.

5. Selecteer **Yes [Ja]** om de conversiefactor voor volbloed van een heel rek te verwijderen.

Om de conversiefactor voor volbloed van assay-testorders te verwijderen:

1. In het scherm *Sample Rack Bay* [Bay voor monsterrekken] dubbelklikt u op het geladen rek met het/de specimen(s) in kwestie.

Het scherm *Sample Rack Loading* [Laden van monsterrekken] wordt weergegeven voor het geselecteerde monsterrek.

2. Op het scherm *Sample Rack Loading* [Laden van monsterrekken] dubbelklikt u op het specimen in kwestie.

Het scherm *Sample Details* [Monsterdetails] wordt weergegeven met de huidige testorders voor het geselecteerde specimen.

3. Selecteer de desbetreffende testorder in het panel *Test Orders* [Testorders].

4. Selecteer **Apply Dilution (Verdunning toepassen)**.

5. In het venster *Dilution Factor* [Verdunningsfactor], deselecteert u **Whole Blood Conversion Factor [Conversiefactor voor volbloed]**.

6. Selecteer **OK** om de conversiefactor voor volbloed uit de testorder te verwijderen.

Procedurele opmerkingen

A. Kalibrator en controles

1. De buisjes voor de positieve qCMV-kalibrator, de laag-positieve qCMV-controle, de hoog-positieve qCMV-controle en de negatieve qCMV-controle kunnen in elke positie in het monsterrek en in elke rij van de monsterbay in het Panther System worden geplaatst. Specimens worden gepipetteerd wanneer aan een van de volgende twee voorwaarden is voldaan:
 - a. De kalibrator en controles worden op het moment verwerkt door het systeem.
 - b. Geldige (gevalideerde) resultaten voor de kalibrator en controles worden in het systeem geregistreerd.
2. Wanneer de kalibrator en controlebuisjes zijn gepipetteerd en voor de Aptima CMV Quant Assay-reagenskit worden verwerkt, kunnen specimens tot maximaal 24 uur met de bijbehorende gereconstitueerde kit worden getest **behalve** in de volgende gevallen:
 - a. De resultaten voor de kalibrator of controles zijn ongeldig.
 - b. De bijbehorende assay-reagenskit is uit het systeem verwijderd.
 - c. De bijbehorende assay-reagenskit heeft de stabiliteitsgrenzen overschreden.
3. De kalibrator en elke controlebuis kan maar één keer worden gebruikt. Hergebruik van de buis kan leiden tot procedure fouten.

B. Handschoenpoeder

Net als bij elk reagenssysteem kan overmatig poeder van sommige handschoenen geopende buisjes contamineren. Poederloze handschoenen worden daarom aanbevolen.

Kwaliteitscontrole

Het resultaat van een run of specimen kan door een gebruiker ongeldig worden verklaard als technische, bedienings- of instrumentproblemen zijn waargenomen tijdens de uitvoering van de assay en deze zijn genoteerd. In dit geval moeten specimen opnieuw worden getest.

Specimens met ongeldige resultaten moeten opnieuw worden getest voor een geldig resultaat.

Assaykalibratie

Voor geldige resultaten moet een assay gekalibreerd zijn. Eén enkele positieve kalibrator wordt in drievoud uitgevoerd telkens wanneer een reagenskit in het Panther System wordt geplaatst. Zodra die is vastgesteld, is de kalibratie maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther System waarschuwt de gebruiker wanneer kalibratie nodig is. De gebruiker scant een kalibratiecoëfficiënt van het barcodeblad van het masterlot dat met elke reagenskit is meegeleverd.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van de kalibrator automatisch geverifieerd door de software op het Panther System. Als minder dan twee van de kalibratorreplicates geldig is, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een vers bereide kalibrator en vers bereide controles.

Negatieve en positieve controles

Voor geldige resultaten moet een set assaycontroles worden getest. Eén replica van de negatieve controle, de laag-positieve controle en de hoog-positieve controle moet telkens wanneer een reagenskit in het Panther System wordt geplaatst, worden getest. Zodra die zijn vastgesteld, zijn de controles maximaal 24 uur geldig. Software op het Panther System waarschuwt de gebruiker wanneer controles nodig zijn.

Bij verwerking worden criteria voor het accepteren van controles automatisch geverifieerd door de software op het Panther System. Voor geldige resultaten moet de negatieve controle het resultaat 'Not Detected' opleveren en de resultaten van de positieve controles moeten binnen de vooraf gedefinieerde parameters vallen. Als een van de controles een ongeldig resultaat heeft, beschouwt de software de run automatisch als ongeldig. Monsters in een ongeldige run moeten opnieuw worden getest met een vers bereide kalibrator en vers bereide controles.

Interne kalibrator/interne controle

Elk monster bevat een interne kalibrator/interne controle (IC). Bij verwerking worden IC-acceptatiecriteria automatisch geverifieerd door de Panther-systeemsoftware. Als een IC-resultaat ongeldig is, wordt het monsterresultaat als ongeldig beschouwd. Elk monster met een ongeldig IC-resultaat moet opnieuw worden getest voor een geldig resultaat.

De Panther-systeemsoftware is ontworpen om nauwkeurig processen te verifiëren wanneer procedures worden uitgevoerd volgens de instructies in deze bijsluiters en de *Gebruikershandleiding van Panther/Panther Fusion System*.

Interpretatie van resultaten

Het Panther System stelt automatisch de CMV-DNA-concentratie vast voor specimens en controles door de resultaten te vergelijken met een kalibratiecurve. CMV-DNA-concentraties worden vermeld in IE/mL en \log_{10} IE/mL. De interpretatie van de resultaten staat in Tabel 1 en Tabel 2.

Tabel 1: Interpretatie van resultaten: plasma

Gerapporteerde Aptima CMV Quant Assay-resultaten		Interpretatie
IE/mL	Log ₁₀ Waarde	
Not detected	Not detected	CMV-DNA niet aangetroffen.
<53 detected	<1,72	CMV-DNA is aangetroffen maar in een concentratie onder de ondergrens voor kwantificering (LLOQ).
53 tot 10.000.000	1,72 tot 7,00	De CMV-DNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 10 tot 1.000.000.000 IE/mL
>10.000.000	>7,00	CMV-DNA-concentratie is hoger dan de bovengrens voor kwantificering (ULoQ).
Invald [Ongeldig] ^a	Invald [Ongeldig] ^a	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest.

^a Ongeldige uitslagen worden in het blauw weergegeven.

Tabel 2: Interpretatie van resultaten: volbloed

Gerapporteerde Aptima CMV Quant Assay-resultaten		Interpretatie
IE/mL	Log ₁₀ Waarde	
Not detected	Not detected	CMV-DNA niet aangetroffen.
<176 detected	<2,24	CMV-DNA is aangetroffen maar in een concentratie onder de ondergrens voor kwantificering (LLOQ).
176 tot 10.000.000	2,24 tot 7,00	De CMV-DNA-concentratie ligt binnen het lineaire bereik van 10 tot 1.000.000.000 IE/mL
>10.000.000	>7,00	CMV-DNA-concentratie is hoger dan de bovengrens voor kwantificering (ULoQ).
Invald [Ongeldig] ^a	Invald [Ongeldig] ^a	Er is een fout opgetreden bij het genereren van het resultaat. Specimen moet opnieuw worden getest.

^a Ongeldige uitslagen worden in het blauw weergegeven.

Beperkingen

- A. Alleen personeel dat is getraind in de procedure mag deze assay gebruiken. Niet-naleving van de instructies in deze bijsluiters kan leiden tot foutieve resultaten.
- B. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van een adequate afname, transport, opslag en verwerking van specimen.
- C. Hoewel het uitzonderlijk voorkomt, kunnen mutaties in de sterk geconserveerde regio's van het virale genoom, die gebruikt zijn door de primers en/of probes in de Aptima CMV Quant Assay, resulteren in onderkwantificering of ervoor zorgen dat het virus niet wordt gedetecteerd.

Analytische prestaties

Detectielimiet op basis van de 1e internationale WHO-standaard

De detectielimiet (LoD) van de assay wordt gedefinieerd als de CMV-DNA-concentratie die is aangetroffen bij een waarschijnlijkheid van 95% of hoger volgens CLSI EP17-A2.¹⁴

Detectielimiet volgens de 1e internationale WHO-normen in plasma

De LoD werd bepaald door het testen van panels van de 1e Internationale Standaard van de WHO (NIBSC-code 09/162)²¹ voor CMV verdund in CMV-negatief menselijk plasma. 60 replicates van elke verdunning werden getest met elk van de drie reagensbatches voor een gecombineerd totaal van 180 replicates per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden in Tabel 3 zijn de resultaten van de reagensbatch met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Aptima CMV Quant Assay op basis van de 1e internationale WHO-standaard is 40,7 IE/mL voor plasma en 4,29 IE/mL voor serum.

Tabel 3: Detectielimiet voor plasma op basis van de 1e internationale WHO-standaard voor CMV

Voorspelde detectielimiet	Concentratie (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

Detetcielimiet op basis van WHO-standaarden bij volbloed

De detectielimiet werd bepaald door panels van de 1e internationale WHO-standaard te testen op CMV verdund in CMV-negatief volbloed. 60 replicates van elke verdunning werden getest met elk van de drie reagensbatches voor een gecombineerd totaal van 180 replicates per verdunning. Een waarschijnlijkheidsanalyse werd uitgevoerd voor de voorspelde detectielimieten. De LoD-waarden in Tabel 4 zijn de resultaten van de reagensbatch met de hoogste voorspelde detectielimiet. De LoD voor de Aptima CMV Quant Assay op basis van de 1e internationale WHO-standaard is 131,0 IE/mL voor volbloed.

Tabel 4: Detectielimiet voor volbloed volgens de eerste internationale norm van de WHO voor CMV

Voorspelde detectielimiet	Concentratie (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

Detectielimiet van CMV-genotypen en geneesmiddelresistente mutanten

Detectielimiet van CMV-genotypen en geneesmiddelresistente mutanten in plasma

De LoD werd geverifieerd voor drie verschillende genotypen op basis van Glycoproteïne B-sequentie⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) en geneesmiddelresistente mutanten door verschillende concentraties CMV rond de vastgestelde LoD voor plasma te testen met behulp van de WHO-standaard (genotype gB-1). Het testen werd uitgevoerd met 30 replica's per panellid per reagenslot met behulp van twee lotnummers Aptima CMV Quant-reagentia. De hoogste geverifieerde LoD voor alle drie de genotypen en geneesmiddelresistente mutanten was 40 IE/ml bij gebruik van beide reagenslotnummers.

Opmerking: De prestaties van de Aptima CMV Quant-assay met geneesmiddelresistente mutaties van CMV werden alleen geëvalueerd in plasmamonsters.

Tabel 5: Detectielimiet van CMV-genotypen en geneesmiddelresistente mutanten in plasma

Genotype	Concentratie (IE/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Geneesmiddelresistente mutant UL54 en UL97*	35
Geneesmiddelresistente mutant UL56**	35

*UL54-genmutaties kunnen leiden tot kruisresistentie tegen verschillende antivirale middelen voor de behandeling van CMV-infectie zoals ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) en foscarnet (PFA). UL97-genmutaties leiden ook tot ganciclovir (GCV)-resistentie.

**UL56-genmutaties leiden tot letermovir (LET)-resistentie.

De algehele detectielimiet in plasma is 40,7 IE/mL.

Detectielimiet voor alle CMV-genotypen in volbloed

De detectielimiet (LoD) werd geverifieerd voor drie verschillende glycoproteïne B-genotypen (gB-2, gB-3 en gB-4) door verschillende concentraties CMV te testen rond de vastgestelde LoD voor volbloed met behulp van de CMV WHO-standaard (genotype gB-1). De tests werden uitgevoerd met 30 replicates per panellid per reagensbatch, waarbij gebruik werd gemaakt van twee batches Aptima CMV Quant-reagentia. De hoogste LoD die voor alle drie genotypen werd geverifieerd was 150 IE/mL met gebruikmaking van beide reagensbatches.

Tabel 6: Detectielimiet voor alle CMV-genotypen in volbloed

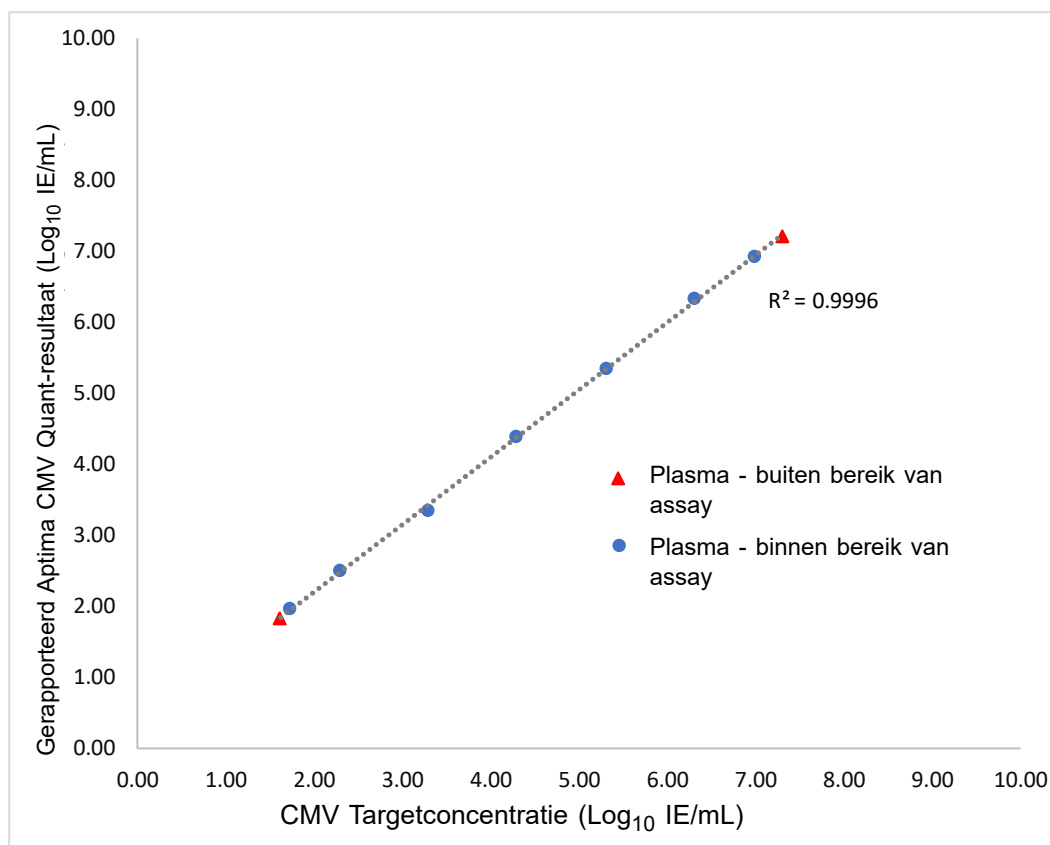
Genotype	Concentratie (IE/mL)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

De algehele detectielimiet in volbloed is 150 IE/mL.

Lineair bereik

Lineair bereik in plasma

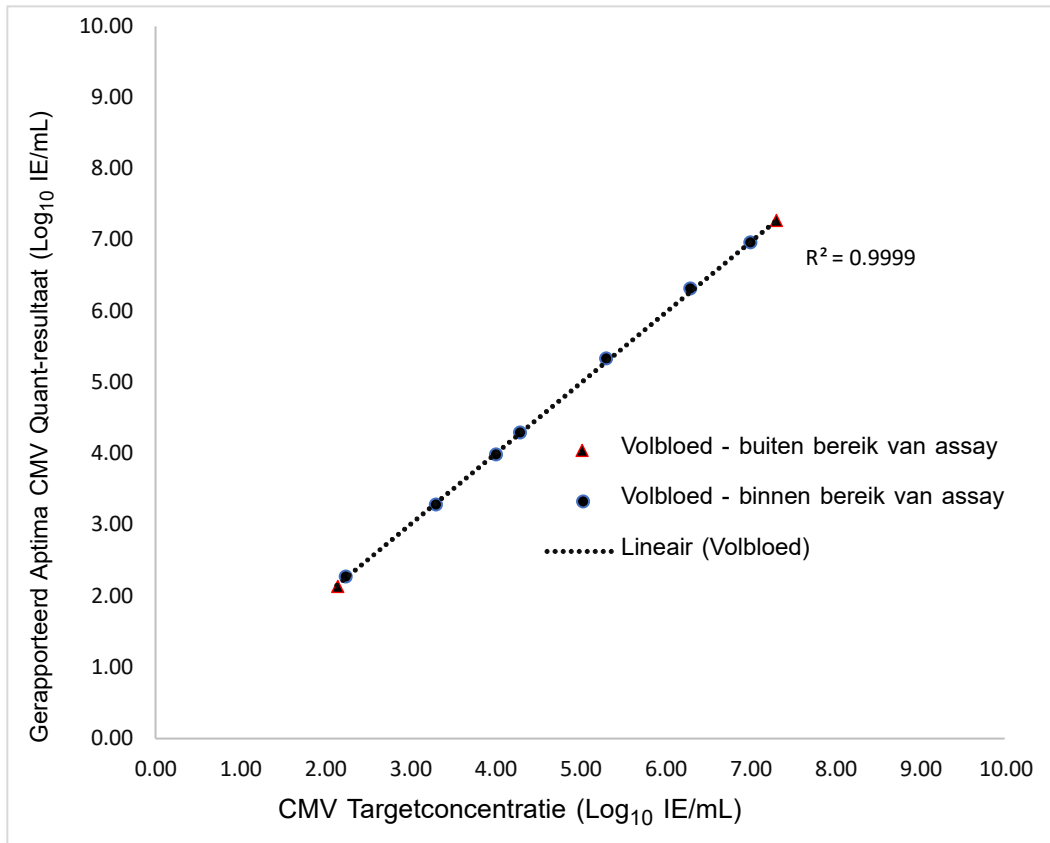
Het lineaire bereik werd bepaald op grond van testen met panels van CMV-DNA verdund in CMV-negatief menselijk plasma volgens CLSI EP06-A.¹⁵ Panels bij concentraties variërend van 1,62 log₁₀ IE/mL tot 7,30 log₁₀ IE/mL. De Aptima CMV Quant Assay vertoonde lineariteit in het gehele geteste bereik. De bovengrens van kwantificering (ULoQ) van de assay is 7 log₁₀ IE / ml, zoals weergegeven in Afbeelding 7.



Afbeelding 7. Lineariteit in plasma

Lineair bereik in volbloed

Het lineaire bereik werd bepaald op grond van testen met panels van CMV-DNA verdund in CMV-negatief menselijk volbloed volgens CLSI EP06-A.¹⁵ Panels bij concentraties ariërend van 2,15 log₁₀ IE/mL tot 7,3 log₁₀ IE/mL voor volbloed. De Aptima CMV Quant Assay vertoonde lineariteit in het gehele geteste bereik. De bovengrens van kwantificering (ULoQ) van de assay is 7 log₁₀ IE / ml, zoals weergegeven in Afbeelding 8.

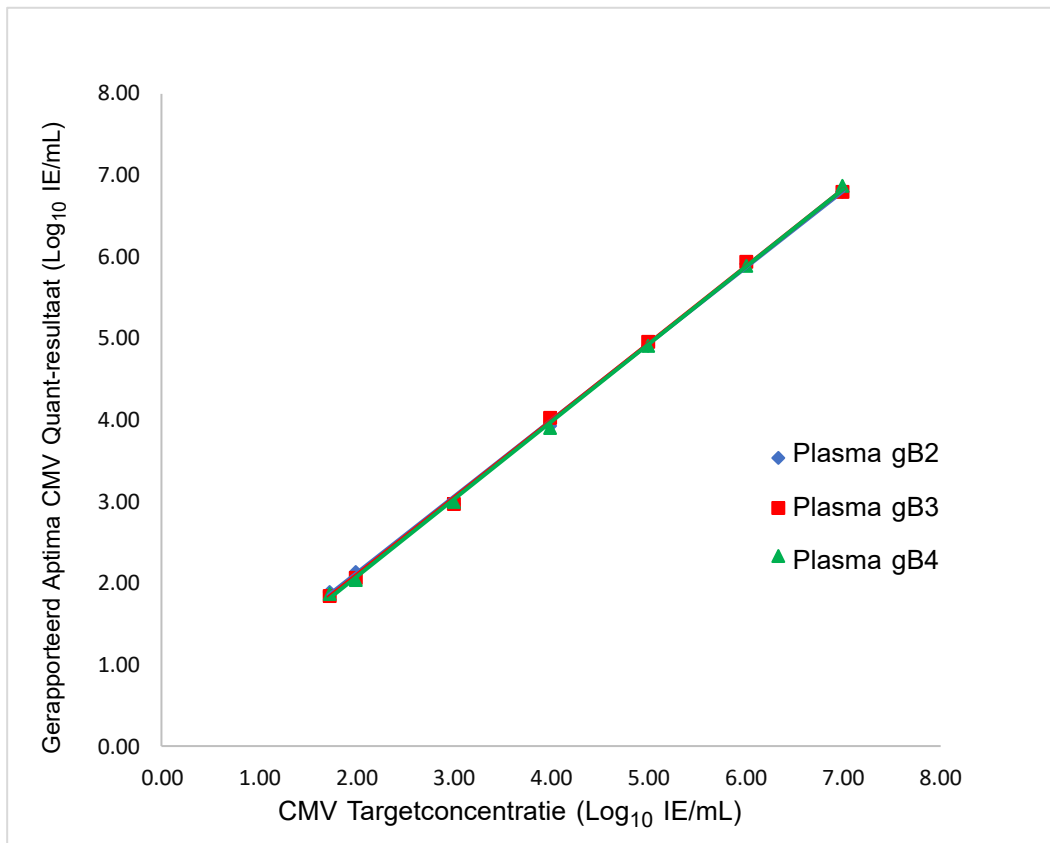


Afbeelding 8. Lineariteit in volbloed

Lineariteit voor alle CMV-genotypen

Lineariteit voor alle CMV-genotypen in plasma

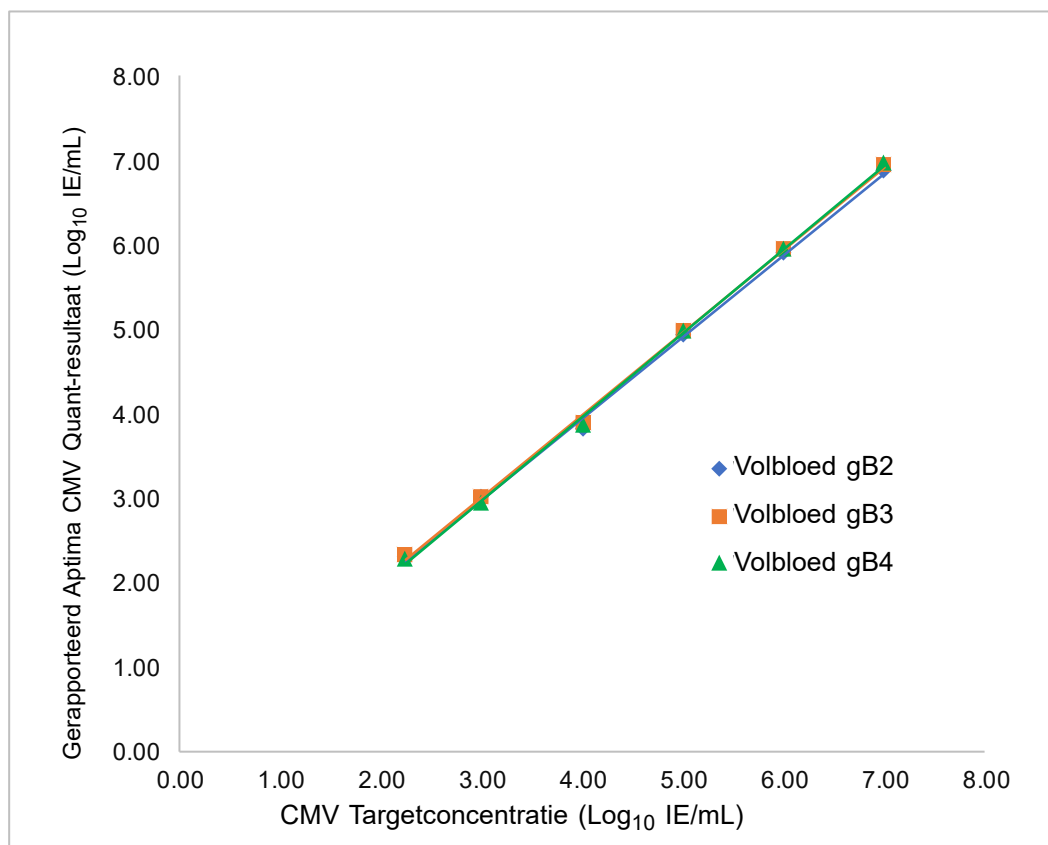
De lineariteit voor glycoproteïne genotypen gB-2, gB-3 en gB-4 werd geverifieerd door panels van CMV te testen die waren verdund in CMV-negatief plasma bij concentraties variërend van 1,72 log₁₀ IE/mL tot 7,00 log₁₀ IE/mL. Lineariteit werd aangetoond in het geteste bereik voor alle genotypen zoals weergegeven in Afbeelding 9.



Afbeelding 9. Lineariteit voor alle CMV-genotypen gB-2, gB-3 en gB-4 in plasma

Lineariteit voor alle CMV-genotypen in volbloed

De lineaire respons voor glycoproteïne-genotypen gB-2, gB-3 en gB-4 werd geverifieerd door CMV-panelen te testen die waren verdund in CMV-negatief volbloed bij concentraties variërend van 2,25 log₁₀ IE/mL tot 7,00 log₁₀ IE/mL. Lineariteit werd aangetoond in het gehele bereik voor alle drie geteste genotypen zoals weergegeven in Afbeelding 10.



Afbeelding 10. Lineariteit voor alle CMV-genotypen GB-2, GB-3 en GB-4 in volbloed

Onderlimiet van kwantificering met behulp van de eerste internationale standaard van de WHO

De ondergrens van kwantificering (LLoQ) wordt gedefinieerd als de laagste concentratie waarin CMV-DNA op betrouwbare wijze wordt gekwantificeerd binnen een totale fout (TE, total error) conform CLSI EP17-A2.¹⁴ De totale fout werd geschat met behulp van het Westgard-model: Totale fout (TE) = |bias| + 2SD. Om de nauwkeurigheid van de metingen te garanderen is de totale fout van de Aptima CMV Quant Assay ingesteld op 1 log IE/mL (d.w.z. dat bij LLoQ, een verschil tussen twee metingen van meer dan 1 log IE/mL tussen twee metingen statistisch significant is).

Onderlimiet van kwantificering met gebruik van de 1e internationale WHO-norm in plasma

De LLoQ werd bepaald door panels van de 1e Internationale Standaard van de WHO (NIBSC-code 09/162, genotype gB-1)²¹ te testen op CMV-DNA verdund in CMV-negatief menselijk plasma. 60 replicates van elke verdunning werden getest met elk van de drie reagensbatches voor een gecombineerd totaal van 180 replicates per verdunning. De LLoQ-resultaten voor de drie reagensbatches worden weergegeven in Tabel 7. De resultaten van de reagensbatch met de hoogste concentratie die voldeden aan de eisen voor TE en $\geq 95\%$ detectie worden in Tabel 8 weergegeven. De LLoQ gegenereerd met de 1e internationale WHO-standaard voor CMV in plasma is 53 IE/mL.

Tabel 7: Bepaling van LLoQ op basis van de 1e internationale WHO-standaard voor CMV verdund in plasma

Reagensbatch	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Berekend TE
			(log IE/mL)	(log IE/mL)	(log IE/mL)	(log IE/mL)	(log IE/mL)
1	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
	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
2	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
3	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
	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 = standaarddeviatie

Panelleden die aan het nauwkeurigheidsoel (TE ≤ 1) en $\geq 95\%$ detectie voor reagensbatches 1, 2 en 3 hebben voldaan, zijn gearceerd.

Tabel 8: Samenvatting van de ondergrens voor kwantificering (LLoQ) voor plasma met gebruikmaking van de 1e internationale WHO-standaard voor CMV

Reagensbatch	(IE/mL)	(log IE/mL)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Onderlimiet van kwantificering met de 1e internationale WHO-norm in volbloed

De ondergrens voor kwantificering (LLoQ) werd bepaald door panels van de 1e internationale WHO-standaard te testen op CMV DNA verdund in CMV-negatief menselijk volbloed. 60 replicates van elke verdunning werden getest met elk van de drie reagensbatches voor een gecombineerd totaal van 180 replicates per verdunning. De resultaten voor de drie reagensbatches worden getoond in Tabel 9. De resultaten van de reagensbatch met de hoogste concentratie die voldeden aan de eisen voor TE en $\geq 95\%$ detectie worden samengevat in Tabel 10. De LLoQ gegenereerd met de 1e internationale WHO-standaard voor CMV in volbloed is 176 IE/mL.

Tabel 9: Bepaling van ondergrens voor kwantificering (LLoQ) op basis van de 1e internationale WHO-standaard voor CMV verdund in volbloed

Reagensbatch	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Berekende 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 = standaarddeviatie

Panelleden die aan het nauwkeurigheidsoel ($TE \leq 1$) en $\geq 95\%$ detectie voor reagensbatches 1, 2 en 3 hebben voldaan, zijn gearceerd.

Tabel 10: Samenvatting van de ondergrens voor kwantificering (LLoQ) voor volbloed met gebruikmaking van de 1e internationale WHO-standaard voor CMV

Reagensbatch	(IE/mL)	(log IE/mL)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Bepaling van de ondergrens van kwantificering van CMV-genotypen en geneesmiddelresistente mutanten

Ondergrens van kwantificering van genotypen en geneesmiddelresistente mutanten in plasma

De LLoQ die werd vastgesteld met behulp van de WHO-standaard werd geverifieerd door het testen van verdunningen van CMV-genotypen gB-2, gB-3, gB-4 en geneesmiddelresistente mutanten in CMV-negatief menselijk plasma. 60 replica's van elk panellid werden getest met één reagenslot. De resultaten staan vermeld in Tabel 11. De berekende LLoQ voor genotypen gB-2, gB-3, gB-4 en geneesmiddelresistente mutanten uit het reagenslot met de hoogste concentratie die voldoet aan de TE-vereisten en $\geq 95\%$ detectie is samengevat in Tabel 12. De totale LLoQ voor plasma in deze test is 53 IE/ml.

Opmerking: De prestaties van de Aptima CMV Quant-assay met geneesmiddelresistente mutaties van CMV werden alleen geëvalueerd in plasmamonsters.

Tabel 11: Bepaling van LLoQ van genotypen en geneesmiddelresistente mutanten in plasma

Genotype	N	% gedetecteerd	Targetconcentratie	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Berekende TE
			(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
gB-2	60	93,3	1,48	1,38	0,41	0,10	0,92
	60	96,7	1,54	1,39	0,39	0,16	0,95
	60	93,3	1,60	1,49	0,38	0,11	0,87
	60	96,7	1,65	1,70	0,24	0,04	0,51
	60	95,0	1,70	1,54	0,32	0,16	0,80
gB-3	60	91,7	1,48	1,27	0,38	0,20	0,97
	60	91,7	1,54	1,27	0,40	0,27	1,07
	60	88,3	1,60	1,31	0,47	0,29	1,23
	60	93,3	1,65	1,46	0,34	0,20	0,88
	60	91,7	1,70	1,57	0,29	0,13	0,71
	60	98,3	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79

Tabel 11: Bepaling van LLoQ van genotypen en geneesmiddelresistente mutanten in plasma (vervolg)

Genotype	N	% gedetecteerd	Targetconcentratie	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Berekende TE
			(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
gB-4	60	96,7	1,48	1,38	0,39	0,09	0,88
	60	98,3	1,54	1,51	0,33	0,03	0,69
	60	95,0	1,60	1,66	0,36	0,06	0,79
	60	98,3	1,65	1,66	0,29	0,01	0,59
	60	100,0	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48
Geneesmiddel resistente mutant (UL54 en UL97)	60	95,0	1,48	1,57	0,32	0,10	0,74
	60	98,3	1,54	1,58	0,32	0,04	0,68
	60	98,3	1,60	1,72	0,33	0,12	0,79
	60	100,0	1,65	1,74	0,22	0,08	0,51
	60	100,0	1,70	1,83	0,24	0,14	0,61
Geneesmiddel resistente mutant (UL56)	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
	60	96,7	1,54	1,60	0,30	0,06	0,65
	60	100,0	1,60	1,69	0,26	0,08	0,60
	60	100,0	1,65	1,78	0,29	0,12	0,71
	60	100,0	1,70	1,74	0,27	0,05	0,58

SD = standaarddeviatie

Panelleden die aan de nauwkeurigheidsdoelstelling (TE ≤ 1) en ≥ 95% detectie voor reagenslotnummers 1, 2 en 3 hebben voldaan, zijn gearceerd.

Tabel 12: Samenvatting van LLoQ van genotypen en geneesmiddelresistente mutanten in plasma

Genotype	LLoQ	
	(IE/mL)	(log ₁₀ IE/mL)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Geneesmiddelresistente mutant UL54 en UL97*	38	1,57
Geneesmiddelresistente mutant UL56**	35	1,54

*UL54-genmutaties kunnen leiden tot kruisresistentie tegen verschillende antivirale middelen voor de behandeling van CMV-infectie zoals ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) en foscarnet (PFA). UL97-genmutaties leiden ook tot resistentie tegen ganciclovir (GCV).

**UL56-genmutaties leiden tot letermovir (LET)-resistentie.

Ondergrens voor kwantificering voor alle genotypen in volbloed

De LLoQ vastgesteld met de 1e internationale WHO-standaard werd geverifieerd door verdunningen van CMV-genotypen gB-2, gB-3 en gB-4 te testen in CMV-negatief menselijk volbloed. 60 replicates van elk panellid werden getest met één reagensbatch. De resultaten worden getoond in Tabel 13. De LLoQ voor genotypen gB-2, gB-3, en gB-4 van de reagensbatch met de hoogste concentratie die aan de TE-eisen voldoet en $\geq 95\%$ detectie is samengevat in Tabel 14. De totale LLoQ voor volbloed in deze test is 176 IE/mL.

Tabel 13: Bepaling van LLoQ voor alle genotypen in volbloed

Genotype	N	N gedetecteerd	Targetconcentratie	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Berekende 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 = standaarddeviatie

Tabel 14: Overzicht van LLoQ voor alle genotypen in volbloed

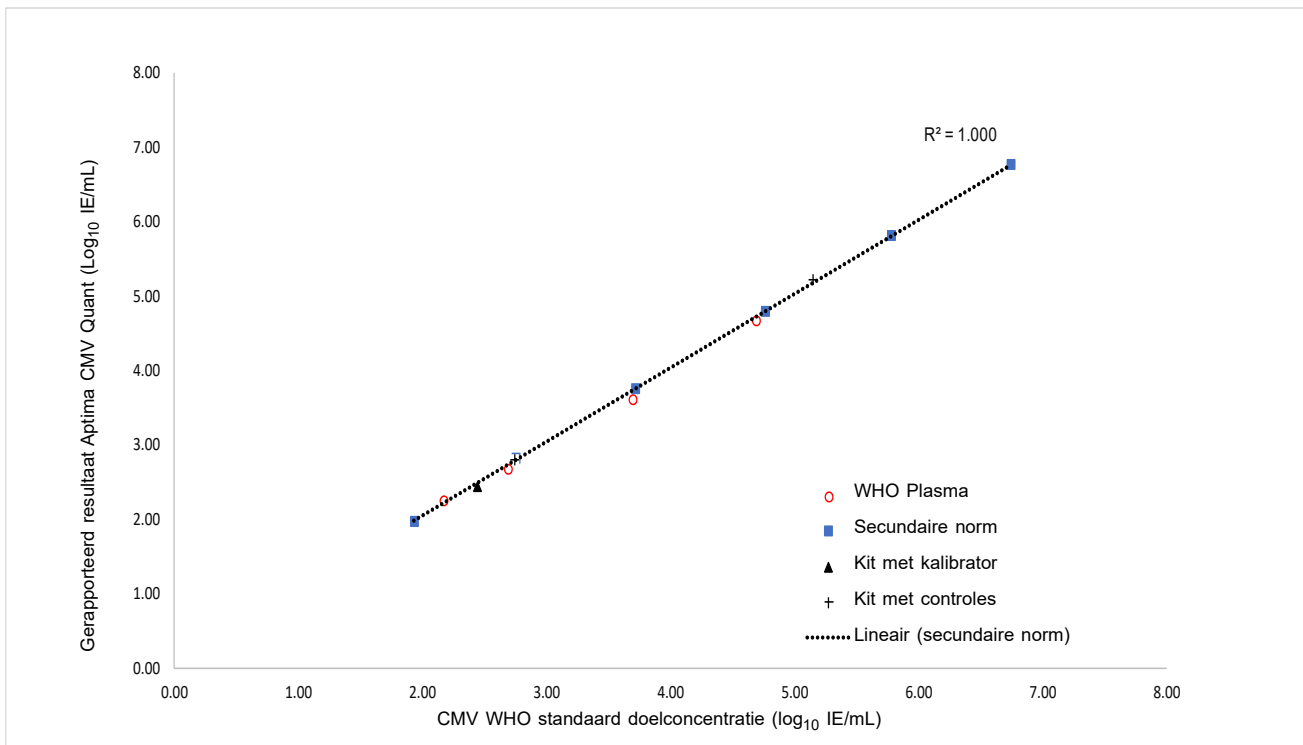
Genotype	LLoQ	
	(IE/mL)	(log IE/mL)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Herleidbaarheid tot de 1e internationale WHO-standaard

Tijdens de productontwikkeling en -fabricage werd een reeks secundaire standaarden met bekende concentraties gebruikt om de herleidbaarheid tot de WHO-standaard vast te stellen. De CMV WHO-standaard werd verdund en getest samen met de secundaire standaarden, en ook de assaycontroles en kalibratiemiddelen die in de Aptima CMV Quant Assay worden gebruikt om de herleidbaarheid volgens CLSI EP32-R te evalueren.¹⁶ De secundaire standaarden varieerden in concentratie van 1,80 tot 6,60 log₁₀ IE/mL.

Herleidbaarheid tot de WHO-standaard voor plasma

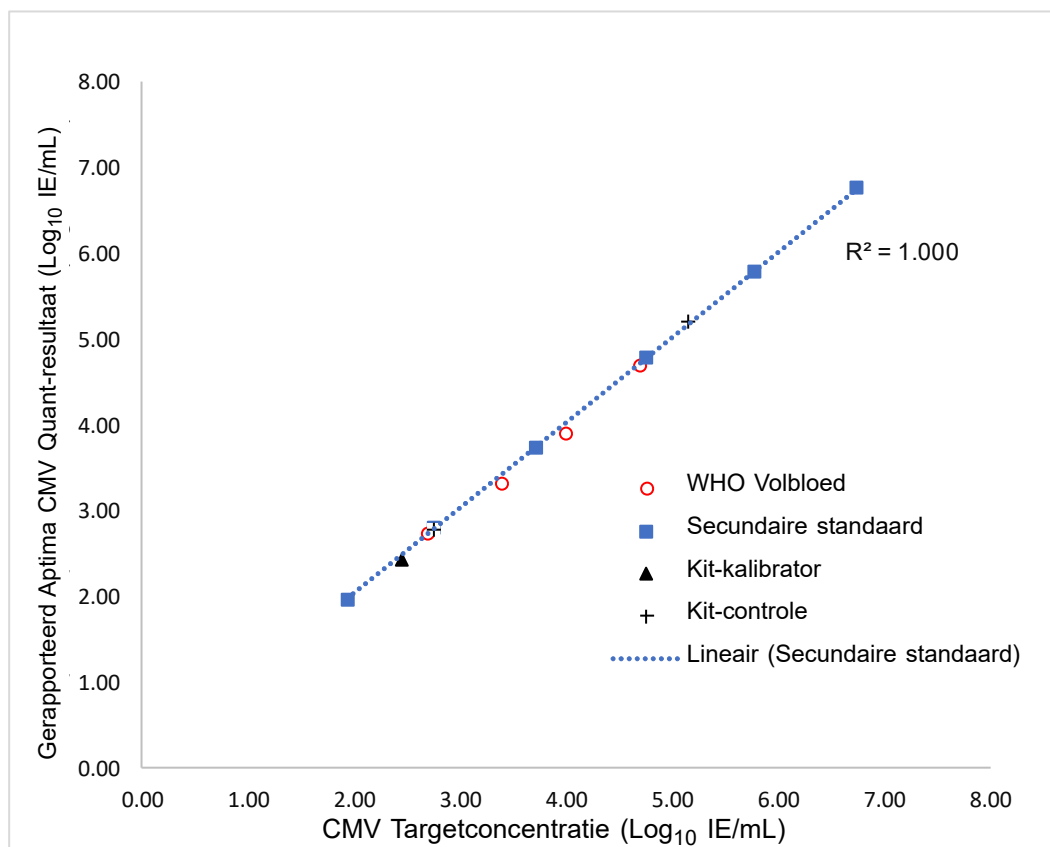
De voor de WHO-standaard voor CMV geteste concentraties lagen tussen 2,18 en 4,70 log₁₀ IE/mL. De WHO-plasmapanels, secundaire standaarden, assay-controles en assaykalibrators confrmreerden zich zoals verwacht over het lineaire bereik van de assay, zoals kan worden afgeleid uit Afbeelding 11.



Afbeelding 11. Herleidbaarheid tussen de targetconcentraties van de 1e CMV-standaard van de WHO en de gerapporteerde concentraties in het Aptima CMV Quant Assay (WHO-standaard verdund in plasma)

Herleidbaarheid tot de WHO-standaard voor volbloed

De voor de WHO-standaard voor CMV in volbloed geteste concentraties lagen tussen 2,70 en 4,70 log₁₀ IE/mL. De volbloedpanels met WHO-standaarden, secundaire standaarden, assay-controles en assaykalibrators confirmeerden zich zoals verwacht over het lineaire bereik van de assay, zoals kan worden afgeleid uit Afbeelding 12.



Afbeelding 12. Herleidbaarheid tussen de targetconcentraties van de 1e CMV-standaard van de WHO en de gerapporteerde concentraties in het Aptima CMV Quant Assay (WHO-standaard verdund in volbloed)

Nauwkeurigheid

Plasma

Om de precisie te beoordelen, werd een 6-koppig panel gemaakt door CMV-positieve, klinische monsters of gekweekte CMV in CMV-negatief plasma te verdunnen. Het panel werd gedurende een periode van 20 dagen of meer getest door drie gebruikers met drie reagenslotnummers op drie Panther-systemen. Elke gebruiker voerde twee runs per dag uit en elk panellid werd in elke run dubbel getest. Het onderzoek werd opgezet en geanalyseerd volgens de aanbevelingen van CLSI EP-05-A3.¹⁷

Tabel 15 toont de precisie van testresultaten (in log IE/ml) tussen instrumenten, gebruikers, reagenslotnummers, runs, dagen, binnen runs en algemeen. De totale variabiliteit was voornamelijk het gevolg van variabiliteit binnen de runs (d.w.z. willekeurige fout).

Tabel 15: Precisie van de Aptima CMV Quant Assay in plasma

N	Gemiddelde concentratie (log IE/mL)	Tussen batches SD	Tussen instrumenten SD	Tussen gebruikers SD	Tussen dagen SD	Tussen runs SD	Intra-runs SD	Totaal 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 = standaarddeviatie

Opmerking: Variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat soms het geval is als de variabiliteit als gevolg van die factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, wordt SD weergegeven als 0.

Volbloed

Om de precisie te beoordelen, werd een 6-koppig panel gemaakt door CMV-positieve klinische monsters te verdunnen of gekweekte CMV aan CMV-negatief volbloed toe te voegen. Het panel werd gedurende een periode van 20 dagen of meer getest door drie gebruikers met drie reagenslotnummers op drie Panther-systemen. Elke gebruiker voerde twee runs per dag uit en elk panellid werd in elke run dubbel getest.

Tabel 16 toont de precisie van testresultaten (in log IE/ml) tussen instrumenten, gebruikers, reagenslotnummers, runs, dagen, binnen runs en algemeen. De totale variabiliteit was voornamelijk het gevolg van variabiliteit binnen de runs (d.w.z. willekeurige fout).

Tabel 16: Precisie van de Aptima CMV Quant Assay in volbloed

N	Gemiddelde concentratie (log IE/mL)	Tussen batches SD	Tussen instrumenten SD	Tussen gebruikers SD	Tussen dagen SD	Tussen runs SD	Intra-runs SD	Totaal 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 = standaarddeviatie

Opmerking: Variabiliteit van sommige factoren kan numeriek negatief zijn, wat soms het geval is als de variabiliteit als gevolg van die factoren zeer klein is. Wanneer dat het geval is, wordt SD weergegeven als 0.

Potentieel interfererende substanties

De gevoeligheid van de Aptima CMV Quant Assay voor interferentie door een verhoogd gehalte aan endogene stoffen, antistollingsmiddelen of door geneesmiddelen die veelal worden voorgeschreven aan transplantatiepatiënten, is geëvalueerd. De testconcentraties voor elk van de interfererende stoffen werden geselecteerd op basis van beschikbare literatuurreferenties en richtlijnen waarin wordt voorzien door CLSI EP07¹⁸ en EP37¹⁹. CMV-negatieve plasmamonsters en monsters gespiket met CMV tot een concentratie van 2,22 log IE/mL en 3,30 log IE/mL zijn getest. CMV-negatieve volbloedmonsters en monsters gespiket met CMV tot een concentratie van 2,72 EN 4,00 log IE/mL CMV-DNA zijn getest op hemoglobine.

In plasmamonsters in aanwezigheid van albumine (60 mg/mL), hemoglobine (10 mg/mL), triglyceriden (15 mg/mL), niet-geconjugeerde bilirubine (0,4 mg/mL) of menselijk genomisch DNA (2 µg/mL) werden geen interferenties in de werking van de assay waargenomen. In de aanwezigheid van 100 mg/mL hemoglobine, gespiked in monsters van volbloed, werd geen interferentie in de werking van de assay waargenomen.

Klinische plasmaspecimens van patiënten met verhoogde concentraties van specifieke substanties of van patiënten met de ziekten die staan vermeld in Tabel 17 zijn getest met de Aptima CMV Quant Assay. Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen.

Tabel 17: Geteste klinische specimen types

	Klinische specimen types	Aantal geteste klinische specimens
1	Antinucleaire antistoffen (ANA)	10
2	Systemische lupus erythematoses (SLE)	10
3	Reumatoïde artritis (RA)	10

Er is geen interferentie in de prestaties van de assay waargenomen in aanwezigheid van de exogene stoffen die staan vermeld in Tabel 18 bij concentraties die minstens drie keer de C_{max} van geneesmiddelen in (menselijk plasma) zijn.

Tabel 18: Exogene stoffen

Pool me exogene stoffen	Geteste exogene stoffen
1	Cefotetan, clavulanaatkaliüm, ticarcilline dinatrium, vancomycine
2	Piperacilline
3	Sulfamethoxazol
4	Tazobactam-natrium, trimethoprim, fluconazol
5	Ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, Foscarnet, Valacyclovir, Acyclovir, Letemovir
6	Azathioprine, cyclosporine, mycofenolaatmofetil, mycofenolzuur
7	Sirolimus, Tacrolimus, Prednison, Everolimus
8	Natriumcitraat, EDTA, Heparine

Specificiteit

De specificiteit werd bepaald door het testen van 780 bevroren klinische CMV-negatieve specimens. De specificiteit werd berekend als het percentage CMV-negatieve monsters met resultaat "Not detected" ten opzichte van het totale aantal monsters dat voor elk type monster is getest.

CMV-DNA werd niet waargenomen in 389 monsters voor plasma en 390 monsters voor volbloed. De specificiteit was 99,7% (389/390, 95% CI: 98,6 -100%) voor plasma en 100% (390/390, 95% CI: 99,3–100%). De gecombineerde specificiteit van de Aptima CMV Quant-assay voor plasma en volbloed was 99,9% (779/780, 95% CI: 99,3-100%).

Tabel 19: Specificiteit in plasma- en volbloed specimens

	Plasma	Volbloed	Plasma & Volbloed
Geldige replicates	390	390	780
Not detected	389	390	779
Specificiteit (95% CI)	99,7% (98,6-100)	100% (99,3-100)	99,9% (99,3-100)

CI = betrouwbaarheidsinterval

Analytische specificiteit

Potentiële kruisreactiviteit tegen pathogenen uit Tabel 20 werd geëvalueerd in CMV-negatief menselijk plasma in aanwezigheid of afwezigheid van 2,2 log₁₀ IE/mL en 3,3 log₁₀ IE/mL CMV. Drie bloedparasieten, aangetroffen in volbloedspecimens, werden ook geëvalueerd in CMV-negatief volbloed in de aan- of afwezigheid van 2,7 log₁₀ IE/mL en 4,0 log₁₀ IE/mL CMV. De pathogenen werden getest bij de hoogste beschikbare concentratie. Er werd geen kruisreactiviteit of interferentie waargenomen.

Tabel 20: Pathogenen die zijn getest op analytische specificiteit

Micro-organisme/Pathofoon	Concentratie		Micro-organisme/ Pathofoon	Concentratie	
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	IE/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 subtype B	1.000.000	cp/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	CFU/mL
menselijk Herpesvirus 6A	1.000.000	cp/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.000.000	CFU/mL
menselijk Herpesvirus 7	1.428.571	TCID50/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
menselijk Herpesvirus 8	1.000.000	cp/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.000.000	CFU/mL
menselijk Metapneumovirus	192.857	TCID50/mL	<i>Aspergillus niger</i>	485.000	CFU/mL
menselijk papillomavirus type 18	1.000.000	cp/mL	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	CFU/mL
menselijk 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	cellen/mL
Rhinovirus	7.257	TCID50/mL	<i>Leishmania major</i> *	1.000.000	cellen/mL
Varicella-zostervirus	1.000.000	cp/mL	<i>Babesia microti</i> *	1.000.000	cellen/mL
Zika-virus	29.286	TCID50/mL	<i>Plasmodium falciparum</i> *	1.000.000	cellen/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	CFU/mL ^d	^a TCID50/mL = Weefselweek infectieuze dosiseenheden per mL		
<i>Clostridium perfringens</i>	1.000.000	CFU/mL	^b cp/mL = Virale kopieën per mL		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	CFU/mL	^c IE/mL = internationale eenheden per mL		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.000.000	CFU/mL	^d CFU/mL = kolonievormende eenheden per mL		
<i>Escherichia coli</i>	1.000.000	CFU/mL	*getest met volbloedmonstertype		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.000.000	CFU/mL			

Carry over

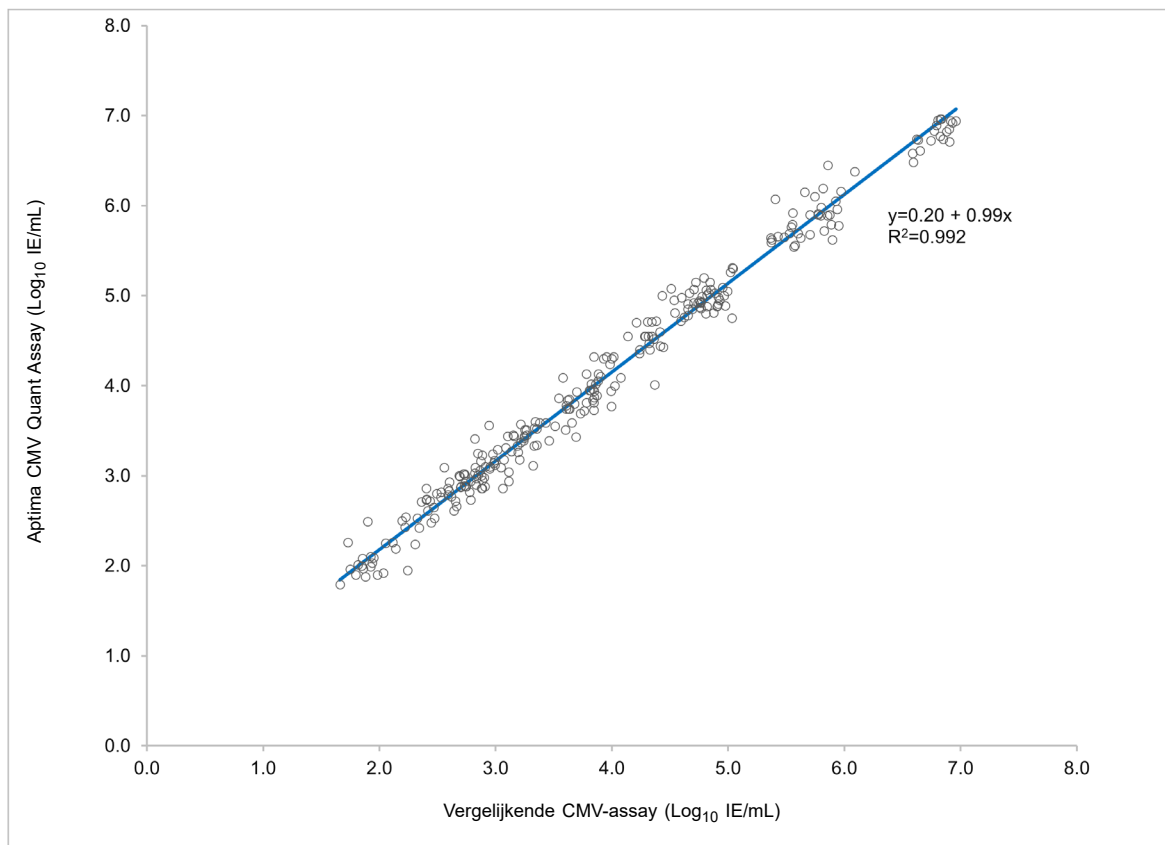
Overdrachtsverontreiniging is geëvalueerd voor het Panther-systeem met plasma als monstertype met andere viral load assays (Aptima HIV-1 Quant Dx-assay, Aptima HCV Quant-assay, Aptima HBV Quant-assay). Er werd geen carry-over-contaminatie waargenomen in eerdere testen. Om vast te stellen dat het Panther System het risico van vals-positieve resultaten als gevolg van carry-over-contaminatie in het volbloedmonstertype minimaliseert, is een onderzoek uitgevoerd met behulp van gespikete panels op drie Panther Systems. De carr-over werd bepaald met behulp van met CMV-DNA gespikete volbloedspecimens (6 log IE/mL) in een dambordpatroon met CMV-negatieve specimens. Er zijn twaalf runs uitgevoerd voor de testen. Het gehele carry-overpercentage was 0,24% (1/423).

Correlatie van methoden

Dit onderzoek is opgezet in overeenstemming met CLSI EP09c.¹⁹

Correlatie van methoden: plasma

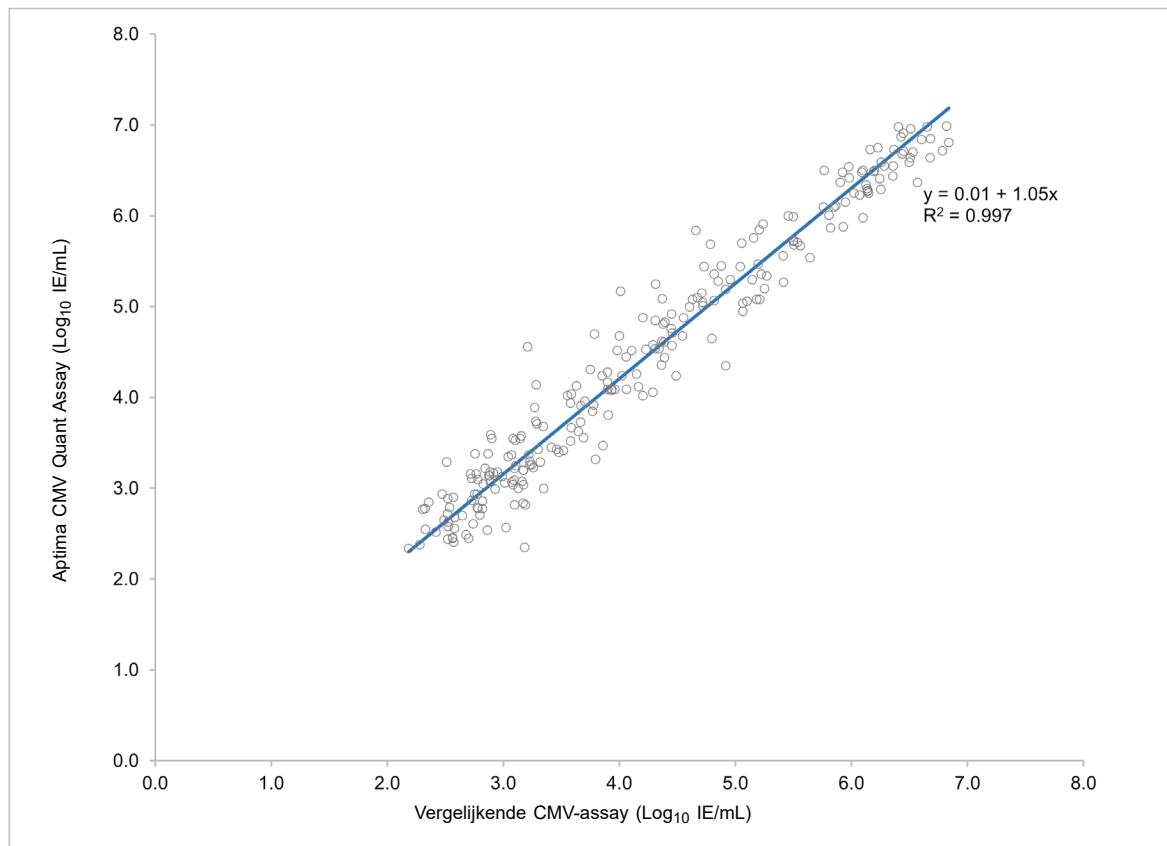
De prestaties van de Aptima CMV Quant-assay werden beoordeeld ten opzichte van de comparator CMV-assay door het testen van onverdunde klinische specimen van CMV-positieve patiënten en kunstmatige specimen gemaakt van verschillende gekweekte virusstammen die behoren tot alle vier genotypen, verrijkt in individueel donornegatief EDTA-plasma. In totaal werden 160 klinische monsters en 115 nagemaakte monsters binnen het lineaire bereik van beide assays gebruikt voor de Deming-regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 13.



Afbeelding 13. Correlatie tussen CMV virale belasting in de Aptima CMV Quant-assay en comparator CMV assay op geteste plasmamonsters

Correlatie van methoden: volbloed

De prestaties van de Aptima CMV Quant-assay werden beoordeeld ten opzichte van de comparator CMV-assay door het testen van onverdunde klinische specimens van CMV-positieve patiënten en kunstmatige specimens gemaakt van gekweekt virus verrijkt in individueel donornegatief EDTA volbloed. In totaal werden 159 klinische specimens en 83 nagemaakte specimens binnen het lineaire bereik van beide assays gebruikt voor de Deming-regressie, zoals weergegeven in Afbeelding 14.



Afbeelding 14. Correlatie tussen CMV virale belasting in de Aptima CMV Quant-assay en comparator CMV-assay bij het testen van volbloedmonsters

Reproduceerbaarheid

Reproduceerbaarheid in plasmamonsters

De reproduceerbaarheid van de Aptima CMV Quant-assay in plasma werd geëvalueerd op drie externe locaties. Op elke locatie hebben twee gebruikers testen uitgevoerd. Elke gebruiker voerde gedurende 5 dagen één run per dag uit, waarbij tijdens het testen één reagenslot werd gebruikt. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald.

De reproduceerbaarheid werd getest door panelleden door CMV-positieve klinische monsters of gekweekte CMV in CMV-negatief EDTA-plasma te laten verdunnen. CMV-DNA-concentraties vallen binnen het lineaire bereik van de test.

Tabel 21 toont de reproduceerbaarheid en precisie van testresultaten voor elk positief panellid tussen locaties, tussen gebruikers, tussen dagen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen. De variatiecoëfficiënt werd berekend met behulp van de volgende vergelijking waarbij σ^2 de steekproefvariantie is van de gegevens na \log_{10} -transformatie.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1}$$

Tabel 21: Reproduceerbaarheid van Aptima CMV Quant-assay CMV DNA-niveaus op het Panther-systeem in positieve panelleden in plasma

N	Waargenomen gemiddelde		Bijdrage aan totale variantie SD (%CV ²)					Totale variantie SD (%CV)
	IE/mL	Log ₁₀ IE/mL	Tussen locaties	Tussen gebruikers	Tussen dagen	Tussen runs	Binnen runs	
90	198,33	2,26	0,05 (11,19)	0,00 (0)	0,06 (12,94)	0,00 (0)	0,17 (39,59)	0,18 (43,68)
90	603,27	2,76	0,02 (3,99)	<0,01 (2,22)	0,07 (15,68)	0,04 (10,25)	0,12 (27,04)	0,14 (33,67)
90	2428,54	3,36	0,06 (12,83)	0,00 (0)	0,09 (21,42)	0,06 (12,83)	0,11 (24,69)	0,16 (38,27)
90	27623,02	4,42	0,07 (15,98)	0,00 (0)	0,04 (9,29)	0,06 (13,85)	0,08 (19,38)	0,13 (30,63)
90	284107,74	5,44	0,07 (15,58)	0,00 (0)	0,04 (10,22)	0,00 (0)	0,09 (21,66)	0,12 (28,90)
90	3821364,62	6,57	0,08 (19,12)	0,00 (0)	0,06 (14,22)	0,02 (4,02)	0,08 (17,45)	0,13 (30,25)

%CV=log-normale variatiecoëfficiënt, SD=standaarddeviatie (log₁₀ IE/ml)

Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kunnen numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. In dat geval worden SD en % CV weergegeven als 0.

Reproduceerbaarheid in volbloedmonsters

De reproduceerbaarheid van de Aptima CMV Quant-assay in volbloed werd geëvalueerd op drie externe locaties. Op elke locatie hebben twee gebruikers testen uitgevoerd. Elke gebruiker voerde gedurende 5 dagen één run per dag uit, waarbij tijdens het testen één reagenslot werd gebruikt. Elke run werd bij elk panellid drie keer herhaald.

De reproduceerbaarheid werd getest door panelleden door CMV-positieve klinische monsters of gekweekte CMV in CMV-negatief EDTA-volbloed te verdunnen. CMV-DNA-concentraties vallen binnen het lineaire bereik van de test.

Tabel 22 toont de reproduceerbaarheid en precisie van testresultaten voor elk positief panellid tussen locaties, tussen gebruikers, tussen dagen, tussen runs, binnen runs en in het algemeen met uitzondering van één waargenomen uitzondering (0,2%, 1/533). De variatiecoëfficiënt werd berekend met behulp van de volgende vergelijking waarbij σ^2 de steekproefvariantie is van de gegevens na \log_{10} -transformatie.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1}$$

Voor alle CMV-positieve en CMV-negatieve panelleden waren de overeenstemmingswaarden 100%.

Tabel 22: Reproduceerbaarheid van Aptima CMV Quant-assay CMV DNA-niveaus op het Panther-systeem in positieve panelleden in plasma

N	Waargenomen gemiddelde		Bijdrage aan totale variantie SD (%CV ²)					Totale variantie SD (%CV)
	IE/mL	Log ₁₀ IE/mL	Tussen locaties	Tussen gebruikers	Tussen dagen	Tussen runs	Binnen runs	
89	604,32	2,73	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,11 (25,39)	0,18 (43,23)	0,21 (51,32)
89	2188,59	3,32	<0,01 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,07 (15,25)	0,11 (25,34)	0,13 (29,83) ^a
89	7830,84	3,87	0,04 (8,75)	0,04 (8,16)	0,00 (0)	0,08 (17,71)	0,13 (30,28)	0,16 (37,70)
88	48897,12	4,66	0,03 (7,11)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,10 (22,47)	0,11 (24,99)	0,15 (34,89)
88	375626,91	5,56	0,04 (9,59)	0,04 (9,96)	0,00 (0)	0,05 (12,04)	0,09 (21,18)	0,12 (28,34)
89	4609046,44	6,64	0,08 (18,15)	0,00 (0)	0,05 (11,42)	0,03 (6,32)	0,10 (22,74)	0,14 (32,39)

%CV=log-normale variatiecoëfficiënt, SD=standaarddeviatie (log₁₀ IE/ml)

Opmerking: Variabiliteit van een aantal factoren kunnen numeriek negatief zijn. Dit kan gebeuren als de variatie als gevolg van deze factoren zeer klein is. In dat geval worden SD en % CV weergegeven als 0.

^aTotaal variantieresultaat exclusief de uitzondering die mogelijk het gevolg zou kunnen zijn van een probleem met de preparatie van het monster.

Klinische prestaties

Klinische overeenkomst

Het onderzoek naar de klinische prestaties was ontworpen om de klinische overeenkomst tussen de Aptima CMV Quant-assay en een goedgekeurde, comparatortest te beoordelen. Tijdens het prospectieve multi-center onderzoek op acht klinische locaties werden plasmaspecimens verzameld van ontvangers van transplantaten van solide organen (SOTR's) en ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantaten (HSCTR's) die CMV-monitoring ondergingen in de routinematige klinische praktijk. Daarnaast werden ingevroren restmonsters van SOTR's en HSCTR's verkregen van leveranciers van klinische monsters.

Van de 88 proefpersonen die in het prospectieve onderzoek waren ingeschreven, waren zes proefpersonen niet evalueerbaar omdat ze zich terug hadden getrokken (n = 5), of omdat ze geen geldige monsterresultaten hadden met de Aptima CMV Quant-assay en de goedgekeurde test (n = 1). Tabel 23 toont de demografische en klinische basiskennmerken van de 82 evalueerbare proefpersonen.

Tabel 23: Algemene demografische en klinische basiskennmerken van de beoordeelde personen en per type transplantaat

Kenmerken		SOTRs	HSCTRs	Alles
Totaal, N		62	20	82
Geslacht, n (%)	Man	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Vrouw	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Leeftijd (jaar)	Gemiddelde ± (SD)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Gemiddeld	53,0	54,5	54,0
	Minimum	20	22	20
	Maximum	81	69	81
Etnische afkomst, n (%)	Spaans of Latino	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Spaans noch Latino	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Onbekend	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Ras, n (%)	Amerikaans-Indiaans/Alaska Inheems	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Aziatisch	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Zwart of Afro-Amerikaans	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Inheems Hawaïiaans/Bewoner van Pacifisch eiland	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Blank	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Overig	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Onbekend	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Type orgaan, n (%)	Nier	25 (40,3)	--	--
	Lever	15 (24,2)	--	--
	Long	10 (16,1)	--	--
	Hart	12 (19,4)	--	--

Tabel 23: Algemene demografische en klinische basiskenmerken van de beoordeelde personen en per type transplantaat (vervolg)

Kenmerken		SOTRs	HSCTRs	Alles
Type stamcel, n (%)	Allogeen	--	18 (90,0)	--
	Autoloog	--	2 (10,0)	--
CMV-serologiestatus, n (%)	Donor positief / ontvanger negatief	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Donor negatief / ontvanger positief	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Donor positief / ontvanger positief	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
Met CMV-antivirale therapie, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Dagen CMV-antivirale therapie tot aan de inschrijving				
n		41	12	53
Gemiddelde		13,6	13,3	13,5
Gemiddeld		11	9,5	11
Minimum		1	1	1
Maximum		47	45	47

HSCTRs=hematopoietic stem cell transplant recipients, SD=standard deviation, SOTRs=solid organ transplant recipients

In de prospectieve studie werden 365 plasmamonsters verzameld van de 82 evalueerbare proefpersonen. Daarnaast werden 261 ingevroren restmonsters verkregen van leveranciers van klinische monsters. Van de 626 klinische plasmamonsters (d.w.z. monsters verzameld in de prospectieve studie en ingevroren restmonsters gecombineerd), werden 597 gepaarde (d.w.z. met een geldig resultaat zowel op de Aptima CMV Quant-assay als de goedgekeurde test) klinische plasmamonsters opgenomen in overeenkomstanalyses. Van de 597 klinische monsters die gepaard werden, werden 339 monsters verzameld in de prospectieve studie en waren 258 monsters ingevroren restmonsters. Afzonderlijk werden overeenkomstanalyses uitgevoerd op 181 gepaarde monsters die waren verzameld van proefpersonen nadat ze CMV-antivirale therapie hadden gestart als onderdeel van hun routinematige zorg tijdens de prospectieve studie.

Tabel 24 toont de overeenkomstanalyse en procentuele overeenkomst tussen de Aptima CMV Quant-assay en de goedgekeurde test bij verschillende drempelwaarden (algemeen en per transplantatiegroep). Overeenkomstanalyse bij verschillende virale belastingsintervallen (algemeen en per transplantatiegroep) wordt getoond in Tabel 25. Vier van de 597 algemene resultaten bleken afwijkend te zijn in meer dan de onmiddellijk aangrenzende categorie, waarvan er drie afkomstig waren van HSCTRs.

Tabel 24: Overeenkomstanalyse en procentuele overeenkomst bij verschillende drempelwaarden (algemeen en per transplantatiegroep)

Transplantaat Grenswaarde groep	N ^a	Resultaten van comparator ^b en Aptima CMV Quant				PPA %(n/N) [95% CI] ^c	NPA %(n/N) [95% CI] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
Totaal							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Gedetecteerd >2,1 log ₁₀ IE/mL (137 IE/mL) ^d	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2, 99,8]	86,0 (295/343) [81,9, 89,3]
>2,7 log ₁₀ IE/mL (500 IE/mL)	597	158	37	397	5	96,9 (158/163) [93,0, 98,7]	91,5 (397/434) [88,5, 93,8]
>3,3 log ₁₀ IE/mL (1800 IE/mL)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2, 99,8]	96,0 (483/503) [93,9, 97,4]
>3,9 log ₁₀ IE/mL (7943,3 IE/mL)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTRs							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Gedetecteerd >2,1 log ₁₀ IE/mL (137 IE/mL) ^d	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4, 99,7]	87,3 (178/204) [82,0, 91,2]
>2,7 log ₁₀ IE/mL (500 IE/mL)	403	129	25	245	4	97,0 (129/133) [92,5, 98,8]	90,7 (245/270) [86,7, 93,6]
>3,3 log ₁₀ IE/mL (1800 IE/mL)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2, 99,8]	95,1 (308/324) [92,1, 96,9]
>3,9 log ₁₀ IE/mL (7943,3 IE/mL)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTRs							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Gedetecteerd >2,1 log ₁₀ IE/mL (137 IE/mL) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5, 100]	84,2 (117/139) [77,2, 89,3]
>2,7 log ₁₀ IE/mL (500 IE/mL)	194	29	12	152	1	96,7 (29/30) [83,3, 99,4]	92,7 (152/164) [87,6, 95,8]
>3,3 log ₁₀ IE/mL (1800 IE/mL)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
>3,9 log ₁₀ IE/mL (7943,3 IE/mL)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV=Aptima CMV Quant-assay, CI=betrouwbaarheidsinterval, Comp=comparator, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, NPA=percentage negatieve overeenkomst, PPA=percentage positieve overeenkomst, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen, TND=target niet gedetecteerd

Opmerkingen:

≥: Resultaat is groter dan of gelijk aan de gegeven drempelwaarde

<: Resultaat is lager dan de gegeven drempelwaarde

PPA vat resultaten samen die groter zijn dan of gelijk zijn aan de gegeven drempelwaarde; NPA vat resultaten samen die lager zijn dan de gegeven drempelwaarde.

^a Aantal gepaarde, klinische monsters (monsters verzameld in de prospectieve studie en ingevroren restmonsters verkregen van leveranciers van klinische monsters gecombineerd).

^b goedgekeurde test

^c Score CI

^d LLoQ van een alternatief goedgekeurde test

Tabel 25: Overeenkomstanalyse bij verschillende virusbelastingintervallen (algemeen en per transplantatiegroep)

Transplantatiegroep Resultaat Aptima CMV-assay	Comparator ^b resultaat (log ₁₀ IE/mL)						
	Totaal ^a , N	TND	Gedetecteerd, <2,1	≥2,1 t/m <2,7	≥2,7 t/m <3,3	≥3,3 t/m <3,9	≥3,9
Totaal							
Totaal aantal gepaarde monsters, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Gedetecteerd, <2,1 log ₁₀ IE/mL ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥2,1 tot <2,7 log ₁₀ IE/mL	105	0	46	54	5	0	0
≥2,7 tot <3,3 log ₁₀ IE/mL	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥3,3 tot <3,9 log ₁₀ IE/mL	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥3,9 log ₁₀ IE/mL	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTRs							
Totaal aantal gepaarde monsters, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Gedetecteerd, <2,1 log ₁₀ IE/mL ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥2,1 tot <2,7 log ₁₀ IE/mL	69	0	26	39	4	0	0
≥2,7 tot <3,3 log ₁₀ IE/mL	60	0	0	25	34	1	0
≥3,3 tot <3,9 log ₁₀ IE/mL	43	0	0	0	15	28	0
≥3,9 log ₁₀ IE/mL	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTRs							
Totaal aantal gepaarde monsters, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Gedetecteerd, <2,1 log ₁₀ IE/mL ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥2,1 tot <2,7 log ₁₀ IE/mL	36	0	20	15	1	0	0
≥2,7 tot <3,3 log ₁₀ IE/mL	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥3,3 tot <3,9 log ₁₀ IE/mL	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥3,9 log ₁₀ IE/mL	6	0	0	0	0	2	4

HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen, TND=target niet gedetecteerd

^a Aantal gepaarde, klinische monsters (monsters verzameld in de prospectieve studie en ingevroren restmonsters verkregen van leveranciers van klinische monsters gecombineerd).

^b goedgekeurde test

^c LLoQ van een alternatieve goedgekeurde test

^d Van 4 van de 597 algemene resultaten werd waargenomen dat ze niet overeenkwamen met meer dan de onmiddellijk aangrenzende categorie; 1 van de 4 was van een SOTR en 3 van de 4 waren van HSCTRs. Van de 2 HSCTRs die met een alternatieve NAAT werden getest, bleek er 1 overeen te komen met de resultaten van de Aptima CMV Quant-assay.

Tabel 26 toont de overeenkomstanalyse en het percentage overeenstemming bij verschillende drempels (algemeen en per transplantatiegroep) voor monsters die zijn verzameld van proefpersonen nadat ze met CMV-antivirale therapie waren gestart als onderdeel van routinematige zorg in het prospectieve onderzoek. De overeenkomstanalyse bij verschillende intervallen van de virale belasting met gebruikmaking van alle tijdstippen na de start van de behandeling gecombineerd (algemeen en per transplantatiegroep) wordt getoond in Tabel 27. Bij een van de 181 algemene resultaten werd waargenomen dat deze niet overeenkwam met de direct aangrenzende categorie, wat werd waargenomen in een SOTR.

Tabel 26: Overeenkomstanalyse en procentuele overeenstemming bij verschillende drempels met gebruikmaking van alle tijdstippen na initiatie van de behandeling gecombineerd (algemeen en per transplantatiegroep)

Transplantaat Grenswaarde groep	N ^a	Resultaten van comparator ^b en Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [95% CI] ^c	NPA % (n/N) [95% CI] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
Totaal							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Gedetecteerd >2,1 log ₁₀ IE/mL (137 IE/mL) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
>2,7 log ₁₀ IE/mL (500 IE/mL)	181	42	9	129	1	97,7 (42/43) [87,9, 99,6]	93,5 (129/138) [88,1, 96,5]
>3,3 log ₁₀ IE/mL (1800 IE/mL)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
>3,9 log ₁₀ IE/mL (7943,3 IE/mL)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTRs							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Gedetecteerd >2,1 log ₁₀ IE/mL (137 IE/mL) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
>2,7 log ₁₀ IE/mL (500 IE/mL)	136	34	8	93	1	97,1 (34/35) [85,5, 99,5]	92,1 (93/101) [85,1, 95,9]
>3,3 log ₁₀ IE/mL (1800 IE/mL)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
>3,9 log ₁₀ IE/mL (7943,3 IE/mL)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTRs							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Gedetecteerd >2,1 log ₁₀ IE/mL	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
>2,7 log ₁₀ IE/mL (500 IE/mL)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
>3,3 log ₁₀ IE/mL (1800 IE/mL)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
>3,9 log ₁₀ IE/mL (7943,3 IE/mL)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

Tabel 26: Overeenkomstanalyse en procentuele overeenstemming bij verschillende drempels met gebruikmaking van alle tijdstippen na initiatie van de behandeling gecombineerd (algemeen en per transplantatiegroep)

Transplantaat Grenswaarde groep	N ^a	Resultaten van comparator ^b en Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [95% CI] ^c	NPA % (n/N) [95% CI] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
ACMV=Aptima CMV Quant-assay, CI=betrouwbaarheidsinterval, Comp=comparator, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, NPA=percentage negatieve overeenkomst, PPA=percentage positieve overeenkomst, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen, TND=target niet gedetecteerd							
Opmerkingen:							
• ≥: Resultaat is groter dan of gelijk aan de gegeven drempelwaarde							
• <: Resultaat is lager dan de gegeven drempelwaarde							
• PPA vat resultaten samen die groter zijn dan of gelijk zijn aan de gegeven drempelwaarde; NPA vat resultaten samen die lager zijn dan de gegeven drempelwaarde.							
^a Aantal gepaarde monsters dat is verzameld van proefpersonen die CMV-antivirale therapie kregen bij inschrijving of CMV-antivirale therapie begonnen tijdens de prospectieve studie.							
^b goedgekeurde test							
^c Score BI							
^d LLoQ van een alternatief goedgekeurde test							

Tabel 27: Overeenkomstanalyse bij verschillende virale belastingsintervallen met gebruikmaking van alle tijdstippen na initiatie van de behandeling gecombineerd (algemeen en per transplantatiegroep)

Transplantatiegroep Resultaat Aptima CMV Quant	Comparator ^b resultaat (log ₁₀ IE/mL)							
	Totaal ^a , N	TND	Gedetecteerd <2,1	≥2,1 t/m <2,7	≥2,7 t/m <3,3	≥3,3 t/m <3,9	≥3,9	
Totaal								
Totaal aantal gepaarde monsters, N	181	51	61	26	20	11	12	
TND	56	47	9	0	0	0	0	
Gedetecteerd, <2,1 log ₁₀ IE/mL ^c	41	4	37	0	0	0	0	
≥2,1 tot <2,7 log ₁₀ IE/mL	33	0	15	17	1	0	0	
≥2,7 tot <3,3 log ₁₀ IE/mL	23	0	0	9	14	0	0	
≥3,3 tot <3,9 log ₁₀ IE/mL	13	0	0	0	4	9	0	
≥3,9 log ₁₀ IE/mL	15	0	0	0	1 ^d	2	12	
SOTRs								
Totaal aantal gepaarde monsters, N	136	28	51	22	17	8	10	
TND	32	26	6	0	0	0	0	
Gedetecteerd, <2,1 log ₁₀ IE/mL ^c	32	2	30	0	0	0	0	
≥2,1 tot <2,7 log ₁₀ IE/mL	30	0	15	14	1	0	0	
≥2,7 tot <3,3 log ₁₀ IE/mL	19	0	0	8	11	0	0	
≥3,3 tot <3,9 log ₁₀ IE/mL	10	0	0	0	4	6	0	
≥3,9 log ₁₀ IE/mL	13	0	0	0	1 ^d	2	10	
HSCTRs								
Totaal aantal gepaarde monsters, N	45	23	10	4	3	3	2	
TND	24	21	3	0	0	0	0	

Tabel 27: Overeenkomstanalyse bij verschillende virale belastingsintervallen met gebruikmaking van alle tijdstippen na initiatie van de behandeling gecombineerd (algemeen en per transplantatiegroep) (vervolg)

Transplantatiegroep Resultaat Aptima CMV Quant	Comparator ^b resultaat (log ₁₀ IE/mL)						
	Totaal ^a , N	TND	Gedetecteerd <2,1	≥2,1 t/m <2,7	≥2,7 t/m <3,3	≥3,3 t/m <3,9	≥3,9
Gedetecteerd, <2,1 log ₁₀ IE/mL ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥2,1 tot <2,7 log ₁₀ IE/mL	3	0	0	3	0	0	0
≥2,7 tot <3,3 log ₁₀ IE/mL	4	0	0	1	3	0	0
≥3,3 tot <3,9 log ₁₀ IE/mL	3	0	0	0	0	3	0
≥3,9 log ₁₀ IE/mL	2	0	0	0	0	0	2

HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen, TND=target niet gedetecteerd

^a Aantal gepaarde monsters dat is verzameld van proefpersonen die CMV-antivirale therapie kregen bij inschrijving of CMV-antivirale therapie begonnen tijdens de prospectieve studie.

^b goedgekeurde assay

^c LLoQ van een alternatieve goedgekeurde test

^d Bij 1 van de 181 algemene resultaten werd geconstateerd dat deze niet overeenkwamen met de direct aangrenzende categorie.

Methodevergelijking

Het methodevergelijkingsonderzoek is uitgevoerd om de prestaties van de Aptima CMV Quant-assay te beoordelen in vergelijking met een goedgekeurde test. In totaal werden 309 gepaarde CMV-positieve klinische monsters, bestaande uit 165 monsters verzameld in het prospectieve onderzoek en 144 resterende ingevroren monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays, opgenomen in de methodevergelijkinganalyses. Bovendien werden in totaal 105 kunstmatige monsters bereid door gekweekt CMV-virus toe te voegen aan CMV-negatief EDTA-plasma, waarvan er 103 in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays lagen. Kunstmatige monsters werden afzonderlijk geanalyseerd.

Tabel 28 presenteert Deming-regressieparameterschattingen (log₁₀ IE/mL). Afbeelding 15 t/m Afbeelding 18 tonen Deming-regressie van de virale belastingsresultaten (log₁₀ IE/ml) van de Aptima CMV Quant-assay en de goedgekeurde test.

Tabel 28: Deming-regressieparameterschattingen per type monster en transplantatiegroep

Sample Type [Monstertype]	Transplan- tatiegroep	Virale belas- tingseenheid	Parameter	N ^a	Schatting	Jackknife-methode ^b		Bootstrap-methode ^c		r
						SE	95% CI	SE	95% CI	
Klinisch	Totaal	log ₁₀ IE/mL	Intercept	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Helling		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTRs	log ₁₀ IE/mL	Intercept	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Helling		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	
	HSCTRs	log ₁₀ IE/mL	Intercept	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Helling		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	

Tabel 28: Deming-regressieparameterschattingen per type monster en transplantatiegroep (vervolg)

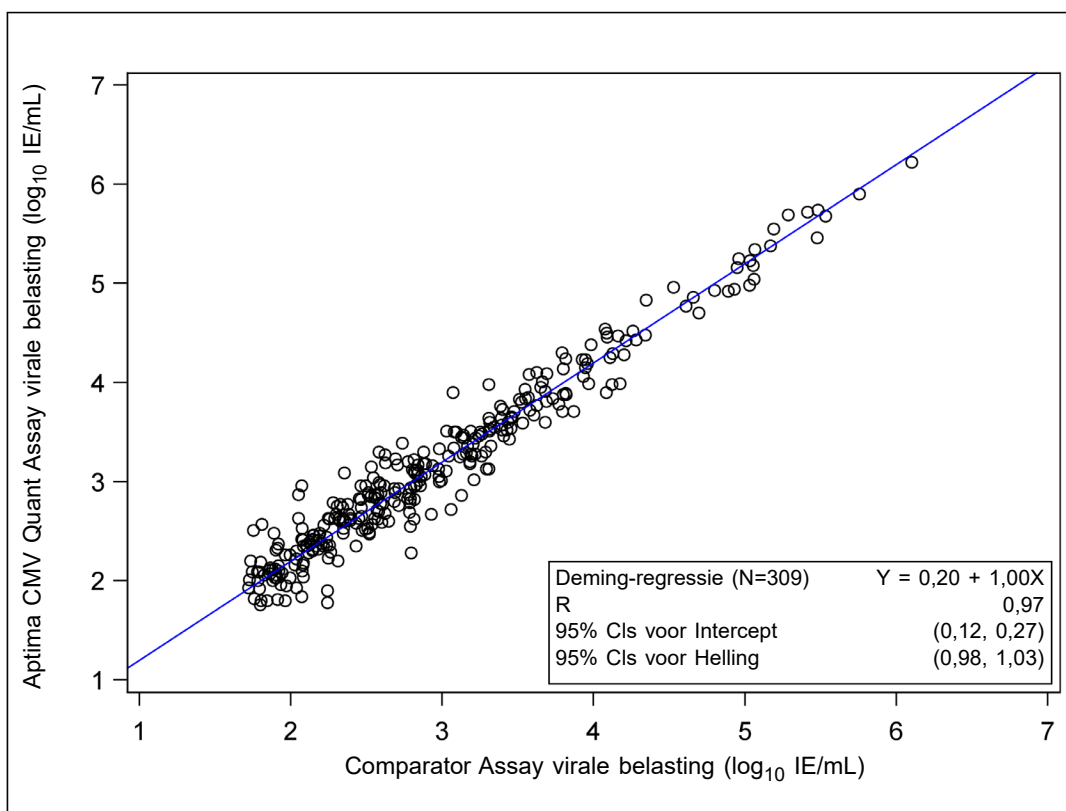
Sample Type [Monstertype]	Transplan- tatiegroep	Virale belas- tingseenheid	Parameter	N ^a	Schatting	Jackknife-methode ^b		Bootstrap-methode ^c		r
						SE	95% CI	SE	95% CI	
Kunstmatig	N.v.t.	log ₁₀ IE/mL	Intercept	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Helling							

CI=betrouwbaarheidsinterval, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, R=correlatiecoëfficiënt, SE=standaardafwijking, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

^a Aantal gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays.

^b Aangenomen onafhankelijkheid tussen alle steekproeven; jackknife-methode gebruikt om SE en BI te schatten.

^c Klinische steekproeven werden aangepast voor correlatie binnen de proefpersoon met behulp van de bootstrap-herbemonsteringsmethode met 500 iteraties; deze methode werd ook gebruikt voor kunstmatige monsters, maar zonder stratificatie naar onderwerp.

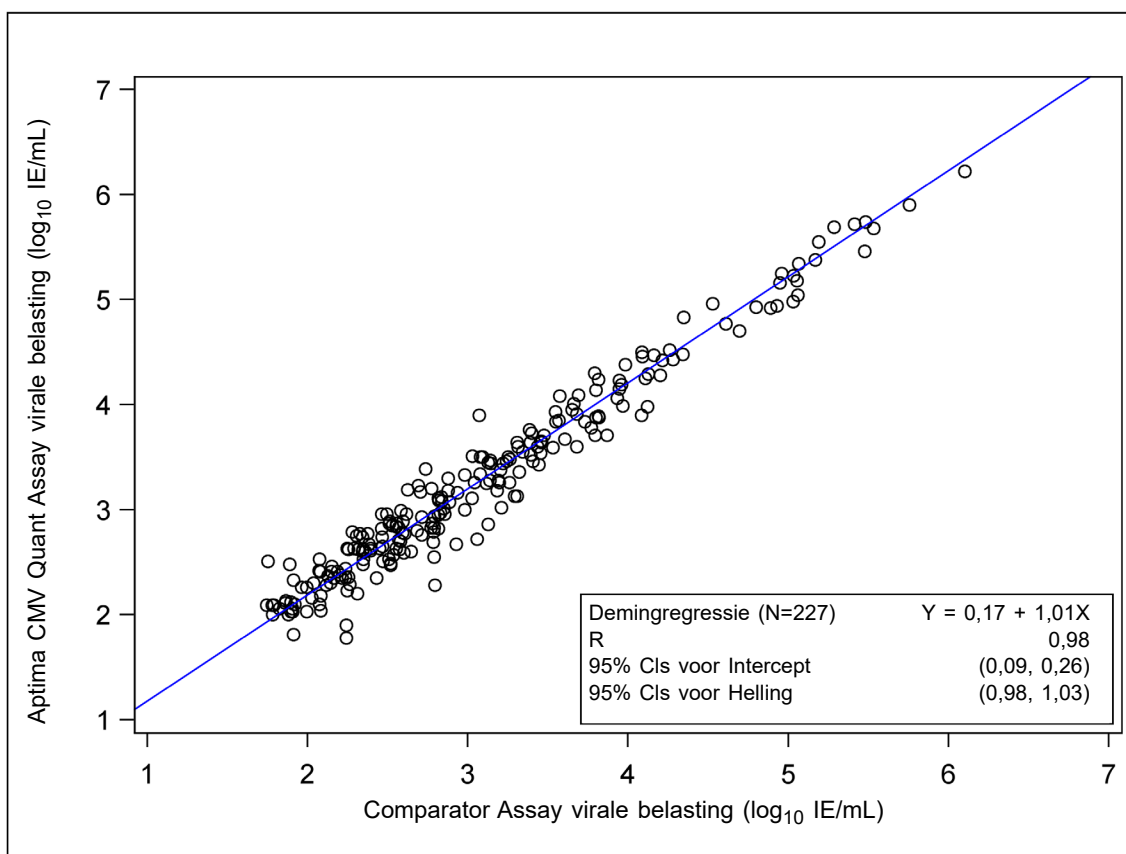


Afbeelding 15. Lineaire regressiegrafiek van Deming (klinische monsters: SOTRs en HSCTRs gecombineerd)

CI=betrouwbaarheidsinterval, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, R=correlatiecoëfficiënt, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

Opmerkingen:

- Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.
- Het Deming-regressiemodel gaat uit van onafhankelijkheid tussen alle monsters; jackknife-methode die wordt gebruikt om BI's te schatten.

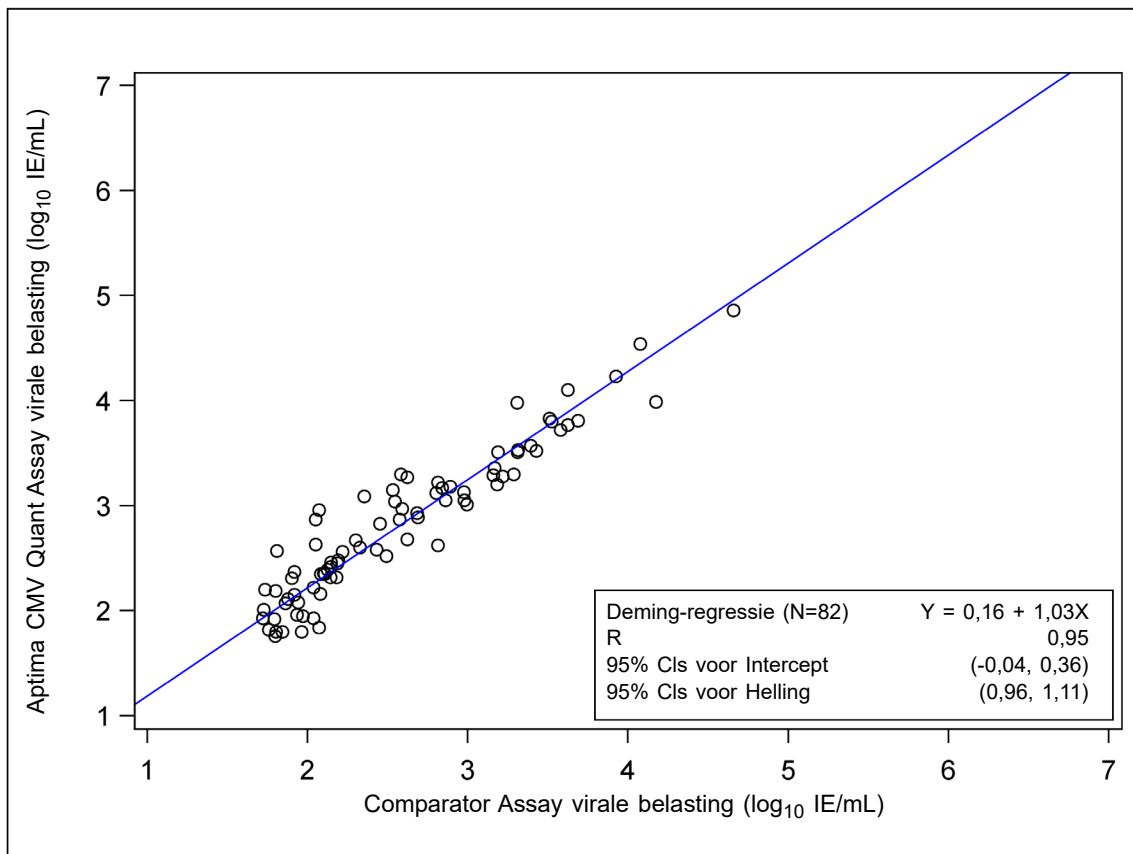


Afbeelding 16. Lineaire regressiegrafiek van Deming van virale ladingen (klinische monsters: alleen SOTRs)

CI=betrouwbaarheidsinterval, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen, R=correlatiecoëfficiënt

Opmerkingen:

- Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.
- Het Deming-regressiemodel gaat uit van onafhankelijkheid tussen alle monsters; jackknife-methode die wordt gebruikt om BI's te schatten.

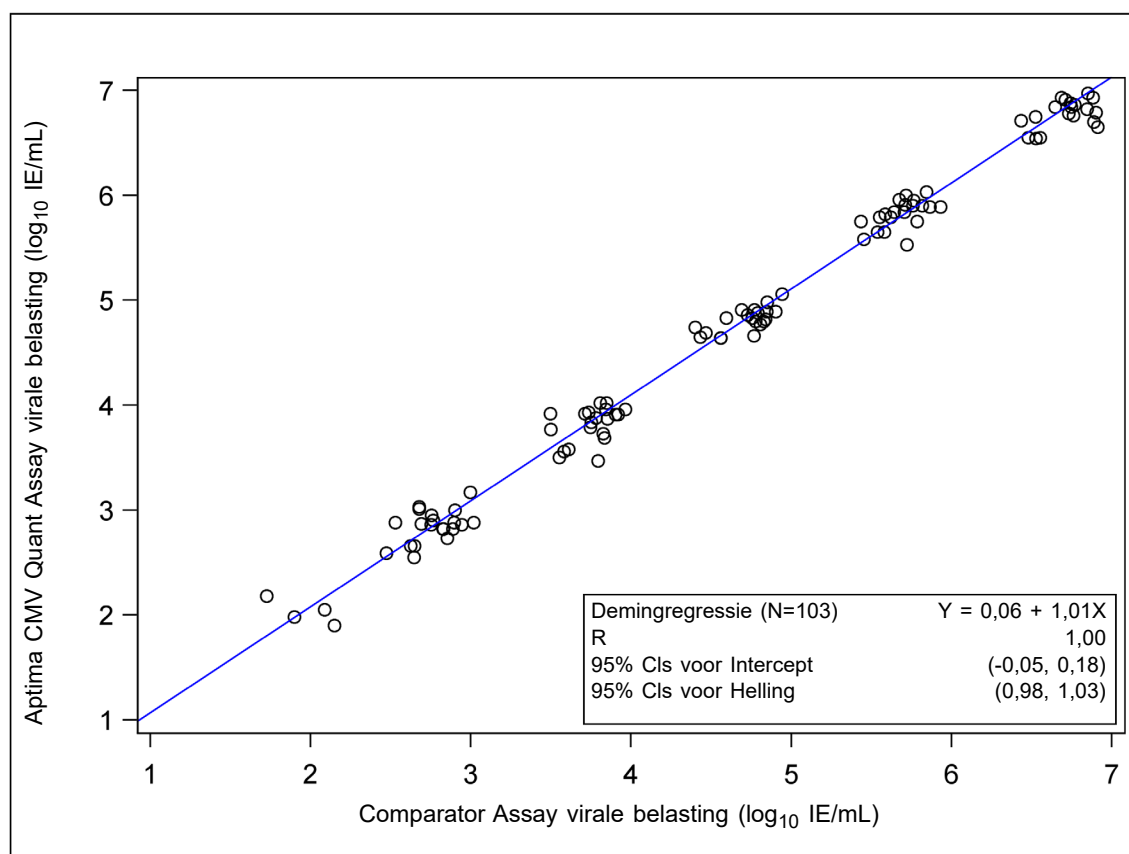


Afbeelding 17. Lineaire regressiegrafiek van Deming van virale ladingen (klinische monsters: alleen HSCTRs)

CI=betrouwbaarheidsinterval, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, R=correlatiecoëfficiënt

Opmerkingen:

- Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.
- Het Deming-regressiemodel gaat uit van onafhankelijkheid tussen alle monsters; jackknife-methode die wordt gebruikt om BI's te schatten.



Afbeelding 18. Lineaire regressiegrafiek van Deming van virale ladingen (kunstmatige monsters)

CI=betrouwbaarheidsinterval, R=correlatiecoëfficiënt

Opmerkingen:

- Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.
- Het Deming-regressiemodel gaat uit van onafhankelijkheid tussen alle monsters; jackknife-methode die wordt gebruikt om BI's te schatten.

Gemiddeld gepaard verschil

Tabel 29 hieronder wordt het gemiddelde gepaarde verschil weergegeven tussen de Aptima CMV Quant-assay en de goedgekeurde test met representatieve beslissingsintervallen.

Tabel 29: Gemiddelde van gepaarde verschillen in virale belasting bij representatieve beslissingsintervallen per type monster en transplantatiegroep

Sample Type [Monstertype]	Transplantatiegroep	Representatieve Beslissingsintervallen ^a (log ₁₀ IE/mL)	Totaal aantal gepaarde monsters ^b (N)	Gemiddelde (SE)	95% BI
Klinisch	Totaal	Alles	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		≥2,1 t/m <3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		≥3,0 t/m <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		≥4,0 t/m <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	SOTRs	Alles	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		≥2,1 t/m <3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		≥3,0 t/m <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		≥4,0 t/m <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	HSCTRs	Alles	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		≥2,1 t/m <3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		≥3,0 t/m <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		≥4,0 t/m <5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥5,0	0	NC (NC)	NC
Kunstmatig	N.v.t.	Alles	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		≥2,1 t/m <3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		≥3,0 t/m <4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		≥4,0 t/m <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

CI=betrouwbaarheidsinterval, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, NC=niet berekenbaar, SE=standaardafwijking, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

^a Gepaarde monsters worden ingedeeld in beslissingsintervallen op basis van het goedgekeurde testresultaat.

^b Aantal gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays.

Bias bij geselecteerde virale belastingsniveaus

Tabel 30 hieronder wordt de bias tussen de Aptima CMV Quant-assay en de goedgekeurde test gepresenteerd bij vijf geselecteerde virale belastingsniveaus van 2,1 log₁₀ IE/mL tot 7,0 log₁₀ IE/mL met bijbehorende, niet-getransformeerde equivalenten.

Tabel 30: Bias/systematisch verschil bij geselecteerde virale belastingsniveaus per type monster en transplantatiegroep

Sample Type [Monstertype]	Transplantatiegroep	Selecteer Virale belastingsniveaus log ₁₀ IE/mL (IE/mL)	Systemisch verschil ^a log ₁₀ IE/mL (IE/mL)
Klinisch	Totaal	2,1 (137)	0,20 (1797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1948,2)
		3,3 (1800)	0,21 (2489,1)
		3,9 (7943,3)	0,21 (5045,3)
		7,0 (10000000)	0,22 (4162789,2)
	SOTRs	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2402,4)
		3,3 (1800)	0,19 (2941,7)
		3,9 (7943,3)	0,19 (5490,5)
		7,0 (10000000)	0,21 (4151107,2)
	HSCTRs	2,1 (137)	0,23 (180,1)
		2,7 (500)	0,25 (430,5)
		3,3 (1800)	0,27 (1327,2)
		3,9 (7943,3)	0,29 (5564,7)
		7,0 (10000000)	0,40 (6897935,4)
Kunstmatig	N.v.t.	2,1 (137)	0,07 (33420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33467,9)
		3,3 (1800)	0,08 (33638,0)
		3,9 (7943,3)	0,08 (34442,0)
		7,0 (10000000)	0,10 (1342167,4)

HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

^aHet systematische verschil is het verschil tussen de uitkomstvariabele (Y) en de virale belasting (X) afgeleid op elk van de geselecteerde virale belastingsniveaus met behulp van de Deming-regressieschattingen voor helling en intercept.

Toegestaan Totaal Verschil (ATD)

Tabel 31 samen met Afbeelding 19 t/m Afbeelding 22 hieronder geven de ATD-resultaten weer met behulp van de gepaarde verschillen tussen de Aptima CMV Quant-assay en de goedgekeurde test versus hun gemiddelde bij representatieve drempelwaarden en het percentage gepaarde resultaten in de ATD-zone.

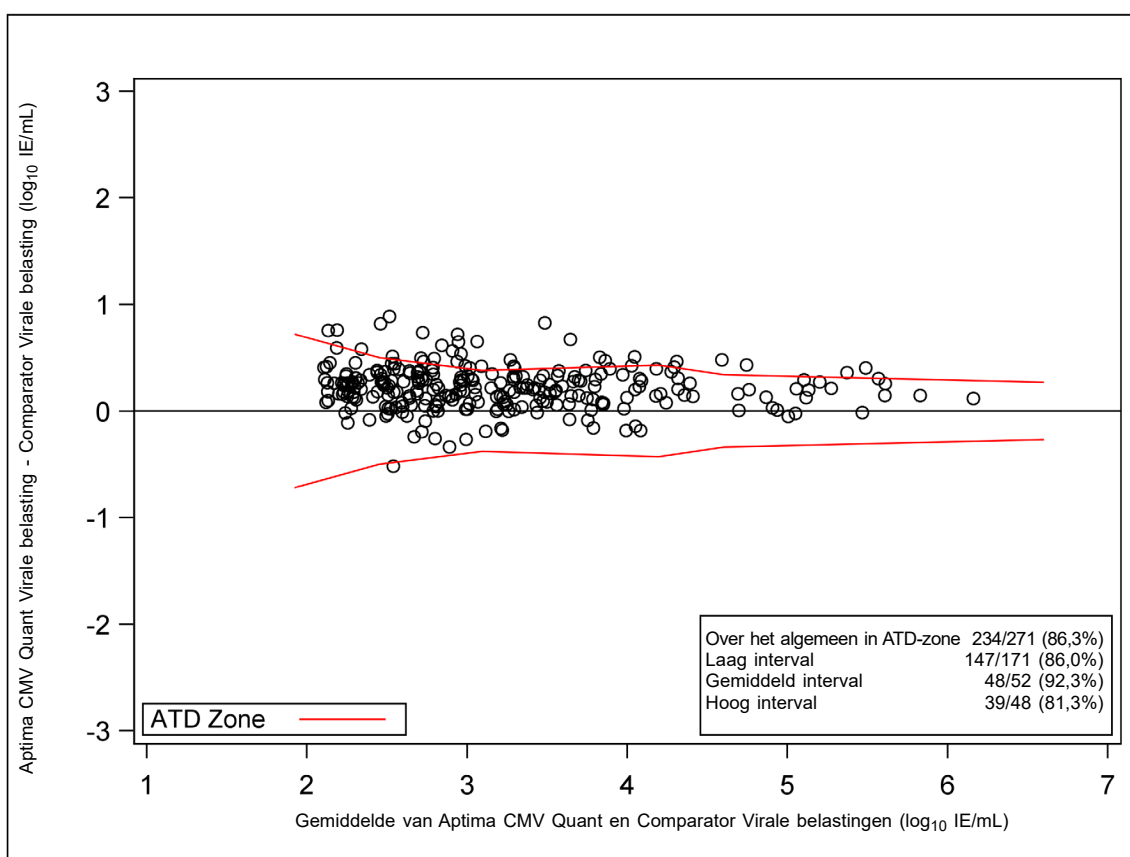
Tabel 31: Percentage van gepaarde monsterverschillen binnen toegestane totale verschilzone (ATD) bij verschillende virale belastingsintervallen per type monster en transplantatiegroep

Sample Type [Monstertype]	Transplanta- tiegroep	Virale belastingintervallen ^a (log ₁₀ IE/mL)	N ^b	Verschillen gepaarde monster binnen ATD-zone				
				n (%)	percentielen			
					2,5%	5%	95%	97,5%
Klinisch	Totaal	Alles	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Laag (≥2,1 t/m <3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Medium (≥3,3 t/m <3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Hoog (≥3,9 t/m <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
	SOTRs	Alles	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Laag (≥2,1 t/m <3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Medium (≥3,3 t/m <3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Hoog (≥3,9 t/m <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
	HSCTRs	Alles	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Laag (≥2,1 t/m <3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Medium (≥3,3 t/m <3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Hoog (≥3,9 t/m <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Kunstmatig	N.v.t.	Alles	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Laag (≥2,1 t/m <3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Medium (≥3,3 t/m <3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Hoog (≥3,9 t/m <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

^a Gepaarde monsters worden ingedeeld in beslissingsintervallen op basis van het goedgekeurde testresultaat.

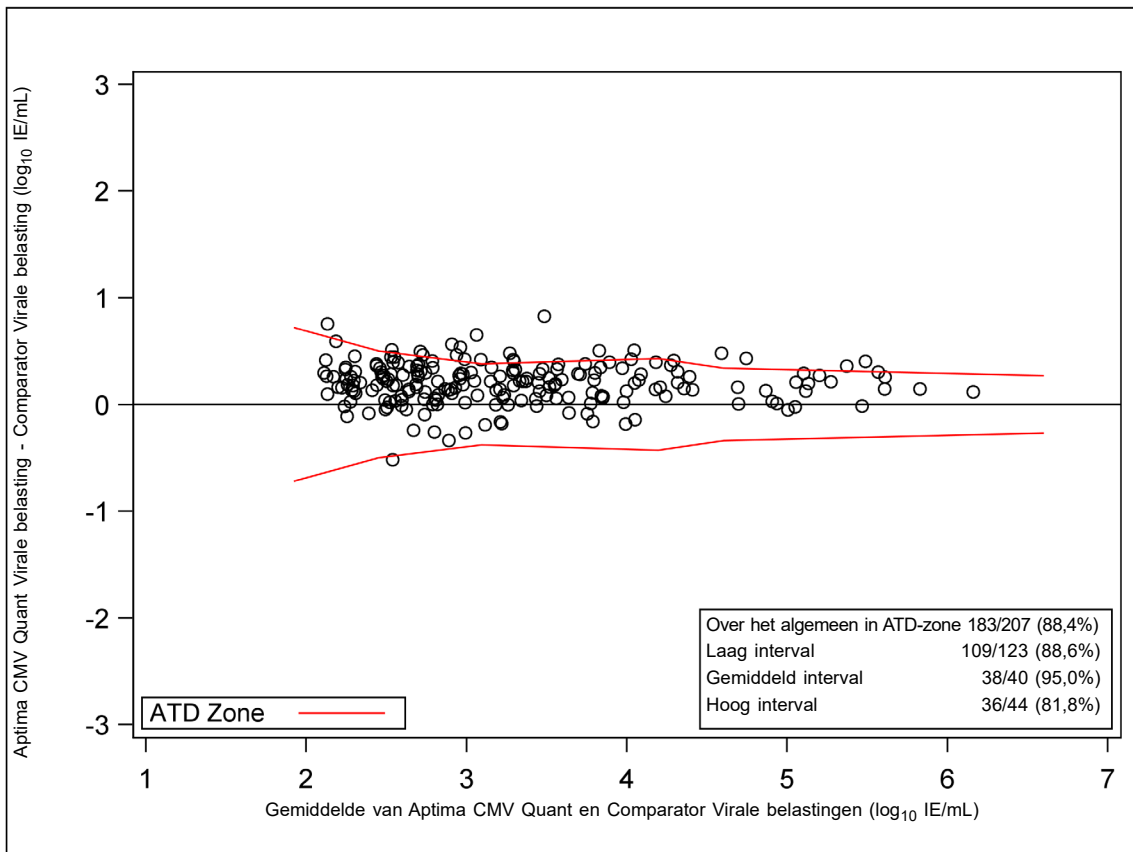
^b Aantal gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays.



Afbeelding 19. Verschilgrafiek van gepaarde monsters en ATD-zone (klinische monsters: SOTRs en HSCTRs gecombineerd)

ATD=toegestaan totaal verschil, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

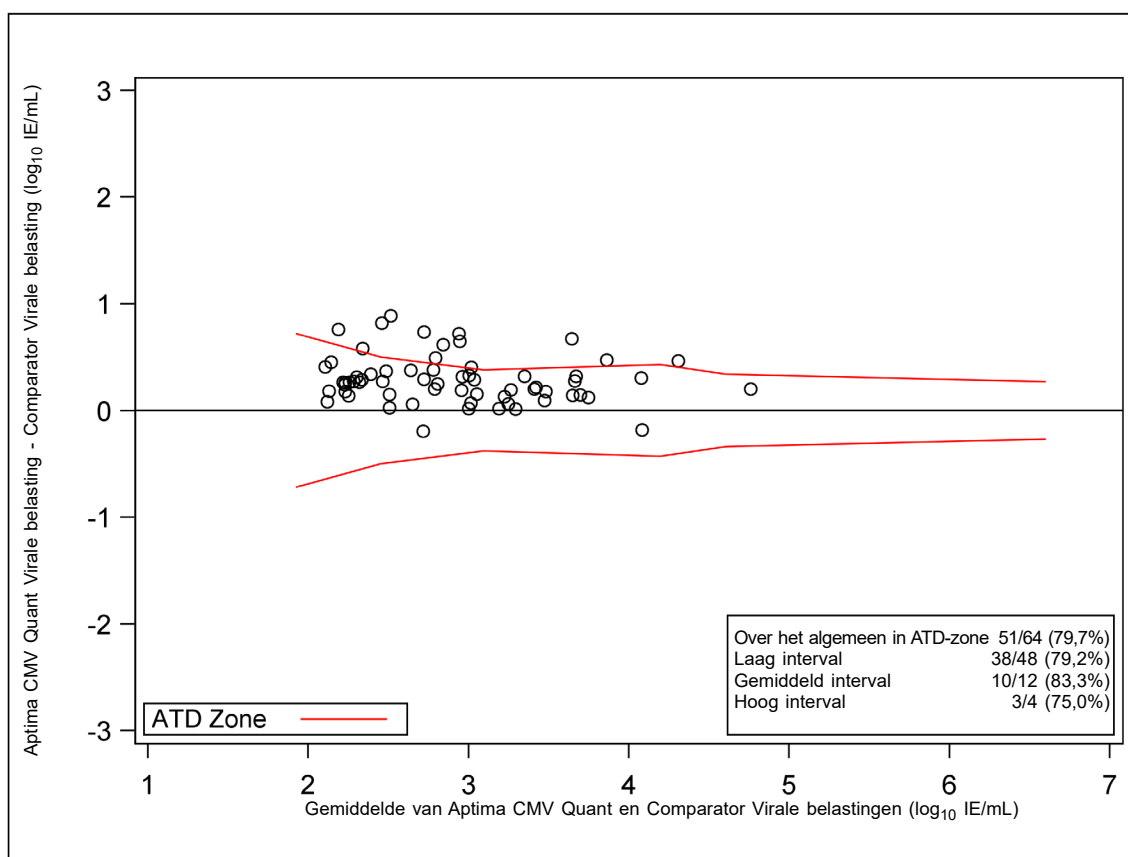
Opmerking: Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.



Afbeelding 20. Verschilgrafiek van gepaarde monsters en ATD-zone (klinische monsters: alleen SOTRs)

ATD=toegestaan totaal verschil, SOTR's=ontvangers van transplantaten van solide organen

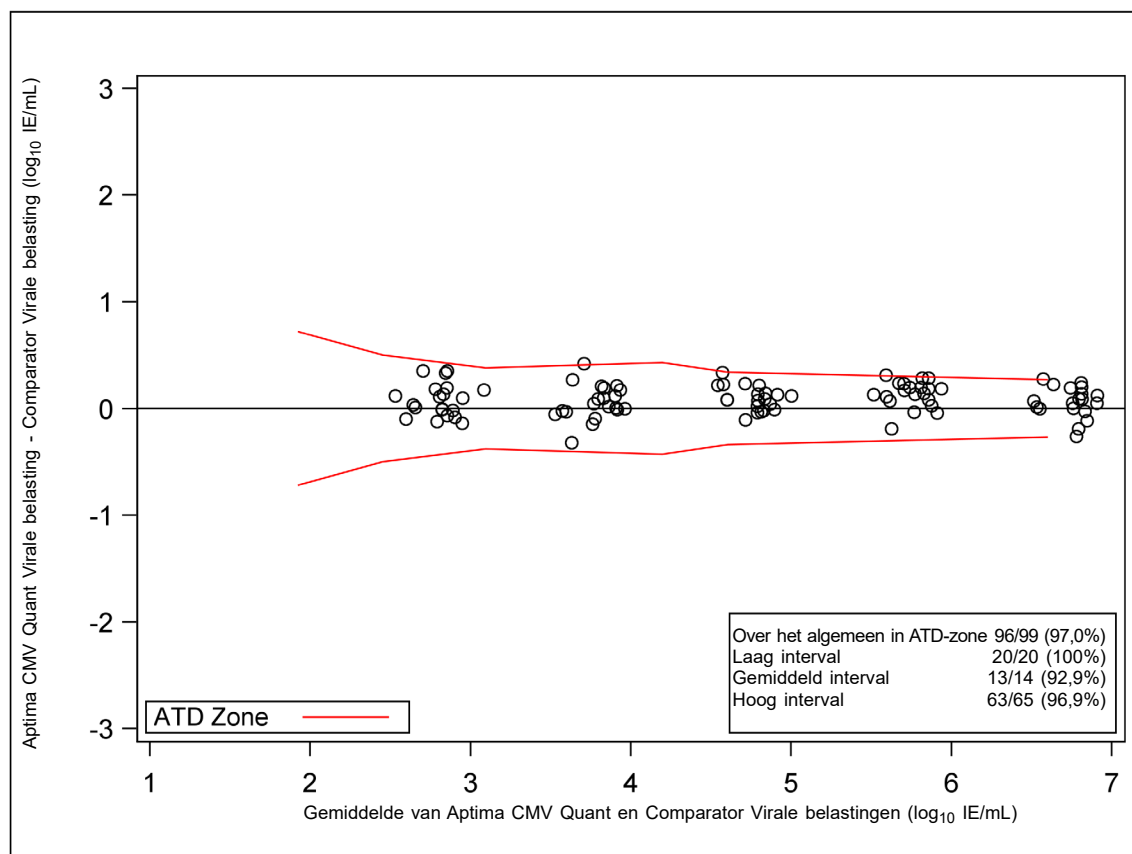
Opmerking: Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.



Afbeelding 21. Verschilgrafiek van gepaarde monsters en ATD-zone (klinische monsters: alleen HSCTRs)

ATD=toegestaan totaal verschil, HSCTR's=ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantatie

Opmerking: Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.



Afbeelding 22. Verschildplot van gepaarde monsters en ATD-zone (kunstmatige monsters)

ATD=toegestaan totaal verschil

Opmerking: Gepaarde monsters met resultaten in het gemeenschappelijke lineaire bereik voor beide assays inbegrepen.

Literatuur

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

Contactgegevens en overzicht van de wijzigingen



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Ga voor landspecifieke technische ondersteuning en klantenservice, e-mailadres en telefoonnummer naar www.hologic.com/support.

Ernstige incidenten met betrekking tot het medische hulpmiddel in de Europese Unie dienen te worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de zorgverlener en/of de patiënt gevestigd is.

Hologic, Aptima en Panther Fusion zijn handelsmerken en/of gedeponeerde handelsmerken van Hologic, Inc. en/of zijn dochterondernemingen in de Verenigde Staten en/of andere landen.

Alle andere handelsmerken in deze bijsluiters zijn eigendom van de respectieve eigenaars ervan.

Dit product is mogelijk beschermd door een of meer Amerikaanse octrooien vermeld op www.hologic.com/patents.

© 2021-2023 Hologic, Inc. Alle rechten voorbehouden.

AW-27747-1501 Versie 001

2023-06

Overzicht van wijzigingen	Datum	Beschrijving
AW-27747 Versie 001	Juni 2023	<ul style="list-style-type: none"> Aptima CMV Quant-assay IFU AW-27747 Rev. 001 gemaakt op basis van AW-25509 Rev. 003 voor naleving van de regelgeving met IVDR. Samenvatting van veiligheid en prestaties toegevoegd Bijgewerkte Algemene informatie Bijgewerkte Gevareninformatie. Geüpdatete secties van Analytische prestaties. en Tabel geleverde materialen , Toegevoegde klinische prestaties: Klinische overeenkomst, methodevergelijking, gemiddeld gepaard verschil, afwijking bij geselecteerde virale belastingsniveaus en toelaatbaar totaal verschil (Allowable Total Difference - ATD). Contactgegevens bijgewerkt, waaronder: Erkende vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap, CE-markering, de gegevens van de vertegenwoordiger in Australië, en technische ondersteuning. Diverse aanpassingen aan stijl en opmaak.