

Aptima® CMV Quant Assay

Brugsanvisning
Til *in vitro*-diagnostisk brug
Kun til eksport fra USA

Generel information	2
Tilslaget anvendelse	2
Resume og forklaring af testen	2
Procedurens principper	2
Oversigt over sikkerhed og præstation	3
Advarsler og forsigtighedsregler	3
Reagensopbevaring og håndteringskrav	7
Prøvetagning og -forberedelse	8
Prøver på det integrerede Panther-system	10
Prøvetransport	10
Panther System	11
Vedlagte reagenser og materialer	11
Påkrævede materialer, der fås separat	13
Valgfri materialer	14
Testprocedure til Panther System	14
Procedurenoter	21
Kvalitetskontrol	22
Kalibrering af assayet	22
Negative og positive kontroller	22
Intern kalibrator/intern kontrol	22
Fortolkning af resultater	23
Begrænsninger	25
Analytisk præstation	26
Detektionsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard	26
Detektionsgrænse for CMV-genotyper og lægemiddelresistente mutanter	27
Lineært område	29
Linearitet på tværs af CMV-genotyper	31
Nedre kvantificeringsgrænse ved brug af 1. Internationale WHO-standard	33
Bestemmelse af den nedre kvantificeringsgrænse for CMV-genotyper og lægemiddelresistente mutanter	35
Sporbarhed til 1. WHO's internationale standard	38
Præcision	40
Potentielt interfererende stoffer	41
Specificitet	42
Analytisk specificitet	43
Fortynding af plasmaprøve ved brug af CMV Negativ kontrol (1:3)	44
Bekræftelse af LoD og LLoQ ved brug af CMV 1. internationale WHO-standarder fortyndet i Aptima CMV negativ kontrol	45
Overførsel	45
Korrelation mellem metoder	45
Reproducerbarhed	48
Klinisk præstation	50
Klinisk overensstemmelse	50
Metodesammenligning	56
Gennemsnitlig parret forskel	61
Bias ved Vælg virusmængdeniveauer	62
Tilladt forskel i alt (ATD)	63
Bibliografi	68
Kontaktinformation og revisionshistorik	69

Generel information

Tilsvigtet anvendelse

Aptima® CMV Quant assay er en in vitro nukleinsyreamplifikationstest til kvantitering af humant cytomegalovirus DNA i humant EDTA-plasma og fuldblod på det fuldt automatiske Panther® System.

Aptima CMV Quant assayet er beregnet til brug til at hjælpe i diagnosen og i behandlingen af patienter med solidt organ- og hæmatopoietisk stamcelletransplantat.

Aptima CMV Quant assayet er ikke beregnet til brug som et screeningassay for tilstedeværelse af CMV i blod eller blodprodukter.

Resume og forklaring af testen

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

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

Kvantitativ nukleinsyreamplifikationstest er den foretrukne metode til overvågning af CMV-infektion og sygdom hos transplantationsmodtagere, fordi den er hurtig og følsom.⁴ Nylige retningslinjer anbefaler mindst ugentlig overvågning af CMV-virusbelastning for at styre beslutninger om at starte anti-CMV-terapi og for at overvåge respons på terapi.^{5,6,7,8} Generelt er højere virale belastningsværdier korreleret med øget risiko for CMV-sygdom.^{4,9} CMV-DNA i forbindelse med klinisk præsentation og andre laboratoriemarkører er afgørende i behandlingen af patienter med CMV-infektion.

Procedurens principper

Aptima CMV Quant-analysen er en in vitro-nukleinsyreamplifikationstest, der bruger realtidsbaseret transkriptionsmedieret amplifikationsteknologi (TMA) på Panther-systemet* til at kvantificere CMV-DNA, genotype 1, 2, 3 og 4. Primer-designet retter sig mod det stærkt konserverede UL56-gen for at sikre nøjagtig kvantificering af CMV-DNA'et. Analysen er standardiseret til 1. WHO International Standard (NIBSC-kode: 09/162) til humant cytomegalovirus.²¹

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

*Inklusive varianter af Panther-systemet.

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

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

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

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

Oversigt over sikkerhed og præstation

SSP (Summary of Safety and Performance) (Oversigt over sikkerhed og præstation) er tilgængelig i den europæiske database for medicinsk udstyr (Eudamed), hvor den er knyttet til udstyrsidentifikationer (Basis UDI-DI). Se Basic Unique Device Identifier (BUDI) (Basis unik udstyrsidentifikation) for at finde SSP for Aptima CMV Quant assayet:

54200455DIAGAPTCMVAP.

Advarsler og forsigtighedsregler

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

Laboratoriesrelateret

- D. **FORSIGTIG:** Kontrollerne til dette assay indeholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitis B overfladeantigen (HBsAg), antistoffer mod HCV, antistoffer mod HIV-1- og HIV-2- og HIV-antigen ved testning med procedurer godkendt af USA's Food and Drug

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

Prøverelateret

- L. Prøver kan være infektiøse. Brug universelle forholdsregler^{10,11,12} ved udførelse af denne analyse. Korrekte håndterings- og bortskaffelsesmetoder skal etableres i henhold til lokale regler.¹¹ Kun personale, der er tilstrækkeligt uddannet i brugen af Aptima CMV Quant-assayet og uddannet i håndtering af infektiøse materialer, må udføre denne procedure.
- M. Under forsendelse af prøver skal korrekte opbevaringsforhold bevares for at sikre prøvens integritet. Prøvestabilitet under forsendelsesforhold, der er anderledes end de anbefalede forhold, er ikke blevet vurderet.

- N. Undgå krydskontaminering under prøvehåndteringstrinnene. Udvis især forsigtighed for at undgå kontaminering fra spredning af aerosoler ved løsning eller fjernelse af hætter fra prøver. Prøver kan indeholde meget høje niveauer af organismer. Pas på, at prøvebeholdere ikke rører hinanden, og bortskaf brugte materialer uden at føre dem hen over åbne beholdere. Skift handsker, hvis de kommer i kontakt med prøvemateriale.

Assay-relateret




- O. I tilfælde af et ugyldigt resultat på grund af ML2-fejl bedes du ikke teste den ufortyndede plasmaprøve igen. Se *Testprocedure til Panther System*, trin E.5, i denne indlægsseddel for anvisninger til at fortynde plasmaprøven.

Bemærkning: For ML2-fejl, se den relevante *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System)* for anvisninger i rengøring af magnetisk vask.

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

Bemærkning: Farekommunikation afspejler EU-sikkerhedsdatabladenes (SDS) klassificeringer. For farekommunikation, der er specifik for din region, kan du se de regionsspecifikke sikkerhedsdatablade (SDS) i *Safety Data Sheet Library (Arkivet med sikkerhedsdataark)* på www.hologic.com. For mere information om symbolerne henvises til symbolforklaringen på <http://www.hologic.com/package-inserts>

Fareerklæring EU	
Amplification Reagent Magnesium Chloride 65-70 %	
—	—
	H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med lang virkning.
	P273 - Undgå udledning til miljøet.
	P501 - Indholdet/beholderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.

	<p>Enzyme Reagent <i>Triton X-100 0-5 %</i> <i>HEPES 1-5 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H402 - Skadelig for vandlevende organismer. P273 - Undgå udledning til miljøet. P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.</p>
	<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20 - 25 %</i> <i>Triton X-100 5-10 %</i> <i>HEPES 1-5 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H402 - Skadelig for vandlevende organismer. P273 - Undgå udledning til miljøet. P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.</p>
	<p>Promoter Reagent <i>Magnesium Chloride 55-60 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med lang virkning. P273 - Undgå udledning til miljøet. P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.</p>
	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15-20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10 %</i> <i>Succinic Acid 1-5 %</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5 %</i></p> <p>—</p> <p>—</p> <p>H402 - Skadelig for vandlevende organismer. P273 - Undgå udledning til miljøet P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.</p>
 	<p>Target Enhancer Reagent (TER) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10 %</i></p> <p>FARE H302 - Farlig ved indtagelse H314 - Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. P264 - Vask ansigtet, hænderne og andre blottede hudområder grundigt efter brug. P270 - Der må ikke spises, drikkes eller ryges under brugen af dette produkt. P301 + P312 - I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Ring til GIFTLINJEN eller en læge i tilfælde af ubehag. P330 - Skyl munden. P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg. P260 - Indånd ikke pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P280 - Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjensbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P301 + P330 + P331 - I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: Skyl munden. Fremkald IKKE opkastning. P303 + P361 + P353 - VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Tilsmudset tøj tages straks af. Skyl [eller brus] huden med vand. P304 + P340 - VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. P305 + P351 + P338 - VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis disse er tilstede og kan let udføres. Fortsæt skylning. P310 - Ring omgående til en GIFTLINJEN eller en læge. P321 - Særlig behandling (se supplerende anvisninger vedrørende førstehjælp på denne etiket). P363 - Tilsmudset tøj skal vaskes, før det kan anvendes igen. P405 - Opbevares under lås.</p>
	<p>CMV Kit Controls <i>Human Serum/Human Plasma 95-100 %</i> <i>Sodium Azide < 1 %</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Skadelig for vandlevende organismer, med lang virkning P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg P273 - Undgå udledning til miljøet</p>

Kit Calibrator
Lauryl Sulfate Lithium Salt 0-10 %
Succinsyre 0-10 %

- — H402 - Skadelig for vandlevende organismer
 P273 - Undgå udledning til miljøet
 P501 - Indholdet/holderen bortskaffes i et godkendt affaldsbehandlingsanlæg.

Reagensopbevaring og håndteringskrav

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

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

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

- B. Kassér ubrugte rekonstituerede reagenser, target capture-reagens (TCR) og target enhancer-reagens (TER) efter 30 dage eller efter Master Lot-udløbsdatoen, alt efter hvad der kommer først.
- C. Reagenser opbevaret i Panther System er stabile i 96 timer i systemet. Reagenser kan sættes i Panther System op til 8 gange. Panther System registrerer hver gang, der isættes reagenser.
- D. Efter kalibratoren er optøet, skal opløsningen være klar, dvs. den må ikke være uklar eller have udfældninger. Sørg for, at udfældninger er opløst. Brug ikke kalibratoren, hvis den danner gel, udfældning, eller der er uklarhed.

- E. Det lyofiliserede promotorreagens og rekonstituerede promotorreagens er lysfølsomme. Beskyt disse reagenser mod lys under opbevaring og klargøring til brug.
- F. QCMV Target Enhancer-reagens skal være ved 15 °C til 30 °C inden brug.

Prøvetagning og -forberedelse

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

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

Bemærkning: Kun sekundære plastrør anbefales til opbevaring af prøver.

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

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

A. Prøvetagning

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

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

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

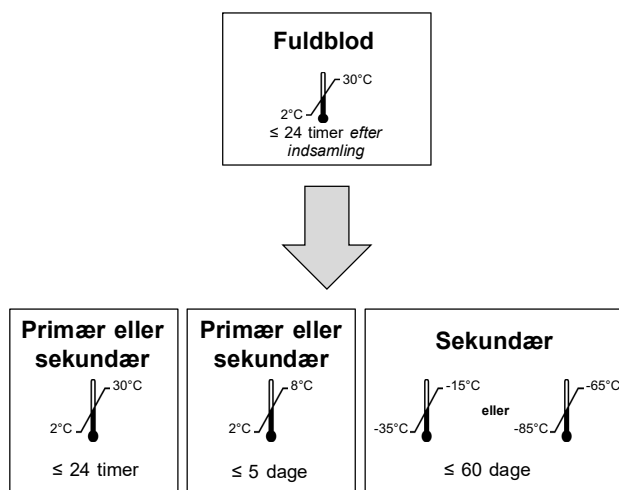
2. Fuldblod skal behandles ved hjælp af forudfyldte fuldblodfortyndende rør, før de testes på Panther-systemet. Overskrid ikke 3 fryse-optøningscyklusser for uforarbejdede helblodsprøver.

B. Betingelser for opbevaring af prøver

1. EDTA-plasmaprøver

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

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

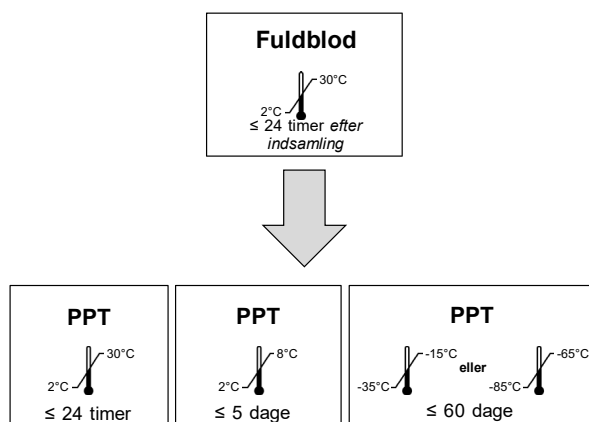


Figur 1. Opbevaringsbetingelser for EDTA-rør

2. PPT-prøver

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

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



Figur 2. Opbevaringsbetingelser for PPT'er

3. Fortynding af plasmaprøver

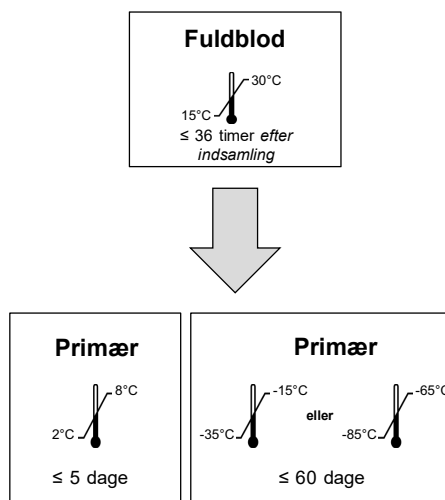
Plasmaprøver kan fortyndes i SAT eller et sekundærrør med henblik på testning på Panther systemet. Se *Panther System Test Procedure* (Testprocedure til Panther System), trin E.5 nedenfor for flere oplysninger.

Bemærkning: Hvis en prøve fortyndes, skal den testes straks efter fortyndingen. En fortyndet prøve må ikke nedfryses.

4. Fuldblodsprøver

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

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



Figur 3. Opbevaringsbetingelser for helblodsprøver

Prøver på det integrerede Panther-system

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

Prøvetransport

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

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

Panther System

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

Vedlagte reagenser og materialer

Aptima CMV Quant Assay Kit,, 100 tests (kat. nr. PRD-05074)

(1 assayæske, 1 æske med target enhancer-reagens, 1 kalibratorkit og 1 kontrolkit)

Aptima CMV Quant Assay-æske

(opbevares ved 2 °C til 8 °C ved modtagelsen)

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

Æske med Aptima CMV Quant Target Enhancer-reagens

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

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

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

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

Aptima CMV Quant Controls Kit (kat. nr. PRD-05076)
(opbevares ved -15 °C til -35 °C ved modtagelsen)

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

Påkrævede materialer, der fås separat

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

Materiale	Kat. nr.
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Continuous Fluid and Waste (Kontinuerlig væske og affald) (Panther Plus)	PRD-06067
Panther Run Kit for Real Time Assays (Panther-kørselskit til realtids-assays) (kun til realtids-assays)	PRD-03455 (5000 tests)
<i>Aptima® Assay Fluids Kit Aptima Assay Fluids Kit (Aptima assayvæskekit) (også kendt som Universal Fluids Kit) (Universalvæskekit) (indeholder Aptima Wash Solution (Aptima vaskeopløsning), Aptima Buffer for Deactivation Fluid (Buffer til deaktiveringsvæske) og Aptima Oil Reagent (Aptima oliereagens))</i>	303014 (1000 tests)
<i>Multireagensglasenheder (Multi-tube units, MTU'er)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit (affaldsposekit)</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover (Panther affaldsbin-afdækning)</i>	504405
Eller Panther System Run Kit (Panther System kørselskit) (ved kørsel af ikke-realtids TMA assays parallelt med realtids TMA assays) indeholder MTU'er, affaldsposer, afdækningsstykker til affaldsbeholder, automatisk detektion og assayvæsker	303096 (5000 tests)
Rør til fuldblodsfortynder (kun til behandling af fuldblodsprøver)	PRD-06783 (100 fyldte rør pr. pose)
Spidser, 1000 µL, filtrerede, ledende, væskeregistrering og til engangsbrug	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Ikke alle produkter er tilgængelige i alle regioner. Kontakt din repræsentant for regionsspecifik information.</i>	
Blegemiddel 5 % til 8.25% (0,7 M til 1,16 M) natriumhypochloritopløsning	—
Engangshandsker uden pudder	—
Uigennemtrængelige udskiftningshætter	103036A
Massive udskiftningshætter fra Hologic (rørhætte til engangsbrug til behandling af fuldblod)	PRD-06720
Udskiftningshætter til reagens <i>Amplifikations-, enzym- og promotorreagens Rekonstitutionsflasker</i>	
	CL0041 (100 hætter)
TCR-flaske	CL0040 (100 hætter)
TER-flaske	903302 (100 hætter)
Beskyttelsespapir til laboratoriebord med plastikbagside	—
Fnugfri servietter	—
Pipette	—
Spidser	—

Materiale	Kat. nr.
Indstillinger for primær opsamlingsrør (EDTA og PPT):	—
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
Centrifuge	—
Vortexmixer	—

Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Der kan anvendes følgende sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima-rør til prøvealiquot (SATs) (100 stk.)	FAB-18184
Hætte til transportrør (100 stk.)	504415
hætte til SAT	
Aptima prøvfortynder	PRD-03003
Aptima prøvfortynderkit	PRD-03478
indeholder Aptima prøvfortynding, 100 SAT'er og 100 hætter	
Overførselspipetter	—
Podepinde med vatspids	—
Reagensglasryster	—

Testprocedure til Panther System

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

A. Forberedelse af arbejdsområde

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

B. Klargøring af kalibrator og kontroller

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

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

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

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

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

C. Reagensrekonstituering/klargøring af et nyt kit

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

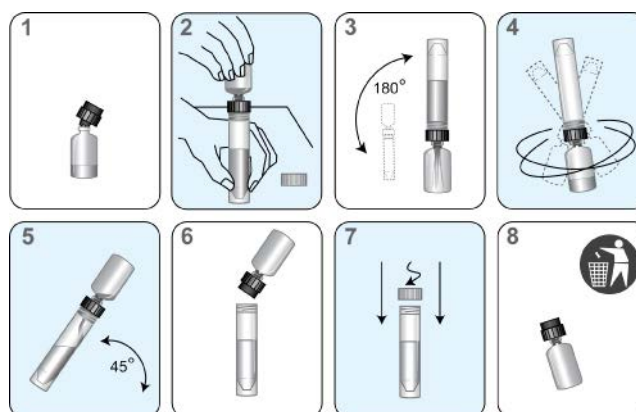
1. Target capture reagens (TCR) klargøres på følgende måde:
 - a. Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C). Kontrollér lotnummeret på TCR-flasken for at sikre, at det stemmer overens med lotnummeret på stregkodelisten for hovedlot.
 - b. Omryst straks TCR-flasken kraftigt 10 gange. Lad TCR-flasken blive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

Valgmulighed. TCR-flasken kan klargøres på et vendeapparat på følgende måde: Fjern TCR fra opbevaring (2 °C til 8 °C), og ryst straks omhyggeligt 10 gange. Placér TCR-flasken i et vendeapparat, og efterlad TCR-flasken ved 15 °C til 30 °C til opvarmning i mindst 45 minutter.

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

- viii. Efter det frysetørrede reagens er blevet blandet med opløsningen, hvirvles de samlede flasker i mindst 10 sekunder, og derpå vippes opløsningen let frem og tilbage i hætteglasset, så indholdet blandes grundigt.
- c. Vend langsomt de samlede flasker igen, så hele opløsningen kan løbe tilbage i flasken med rekonstitueringsopløsning (Figur 4, trin 5).
- d. Fjern forsigtigt rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 4, trin 6).
- e. Sæt låget på flasken igen. Registrér operatørinitialer og rekonstitueringsdato på etiketten (Figur 4, trin 7).
- f. Bortskaf rekonstitueringsmanchetten og hætteglasset (Figur 4, trin 8).

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



Figur 4. Reagensrekonstitutionsproces

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

D. Klargøring af reagens for tidligere klargjorte reagenser

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

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

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

E. Håndtering af plasmaprøver

- 1. Kontrollér, at de behandlede prøver i primærrør eller ufortyndede prøver i sekundærrør er opbevaret korrekt i henhold til *Prøvetagning og -forberedelse*.

2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Bland de optøede prøver i vortexmixer i 3 til 5 sekunder, så de blandes omhyggeligt.
3. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på det integrerede Panther-system* for yderligere oplysninger.
4. Sørg for, at hvert primær prøvetagningsrør indeholder op til 1200 µL prøve, eller at hvert sekundærrør indeholder mindst 700 µL prøve. Se tabellen i *Prøvetagning* vedrørende kravene til dødvolumen for hver type primær- og sekundærrør. Hvis fortynding af prøven er nødvendig, skal du i tilfælde af prøve med lav mængde og/eller de prøver, som kræver gentagen testning, se trin E.5 herunder for yderligere oplysninger.
5. Fortynd plasmaprøve

En plasmaprøve kan fortyndes i 1:3 i et SAT eller sekundærrør med henblik på testning på Panther systemet.

a. Optø Aptima CMV negativ kontrol

- i. Fjern ét reagensglas til negativ kontrol fra opbevaring (-15 °C til -35 °C), og placér det ved 15 °C til 30 °C. Vend forsigtigt op og ned på reagensglasset under optøningsprocessen, så de blandes grundigt. Sørg for, at reagensglassets indhold er tøet helt op inden brug.

Valgmulighed: Reagensglasset til kontrol kan lægges på et vippebord, så det blandes grundigt. Sørg for, at reagensglassets indhold er tøet helt op inden brug.

- ii. Når reagensglassets indhold er tøet op, skal du tørre reagensglasset udvendigt med en ren, tør engangsserviet.
- iii. Åbn ikke reagensglasset endnu for at undgå kontaminering.

b. Fortynd plasmaprøve

Bemærkning: Hvis en prøve fortyndes, skal den testes umiddelbart efter klargøring af fortyndingen.

- i. Placér 240 µL prøve i SAT'et.
- ii. Tilsæt 480 µL negativ kontrol.
- iii. Sæt hætte på reagensglasset.
- iv. Vend reagensglasset forsigtigt op og ned 5 gange for at blande.

Prøver, der er fortyndet 1:3, kan testes ved brug af 1:3 valgmuligheden på Panther systemet (se *Brugervejledning til Panther/Panther Fusion systemet* for flere oplysninger). Softwaren rapporterer automatisk et ufortyndet resultat ved at anvende denne fortyndingsfaktor. Disse prøver markeres som værende fortyndede prøver.

6. Umiddelbart inden isætning af prøverne i et prøvestativ centrifugeres hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Fjern ikke hæfterne på dette trin.

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

F. Håndtering af fuldblodsprøver

1. Sørg for, at ubehandlede prøver i primære reagensglas opbevares korrekt iht. *Prøvetagning og -forberedelse*.
2. Sørg for, at frosne prøver er tøet helt op. Lad prøverne nå 15 °C til 30 °C før behandlingen. Se *Prøver på det integrerede Panther-system* for yderligere oplysninger.

3. Vend forsigtigt fuldblodsører mindst 3 gange, eller bland forsigtigt på et vendeapparat, indtil blodet er homogent.
4. I den prøvebehandling skal du udføre følgende procedure på hver prøve.
 - a. Blod i primærrørene skal blandes grundigt ved inversion, og prøven skal straks overføres til røret, der indeholder fortyndingsmiddel til fuldblod.
 - b. Tilføj 500 µL helblodsprøve til det fyldte helblodfortyndingsører.
 - c. Sæt hættten på og bland prøven i en vortexmixer i mindst 5 sekunder.Se trin G.2 herunder for oplysninger om isætning i stativet og fjernelse af hættter.

G. Klargøring af systemet

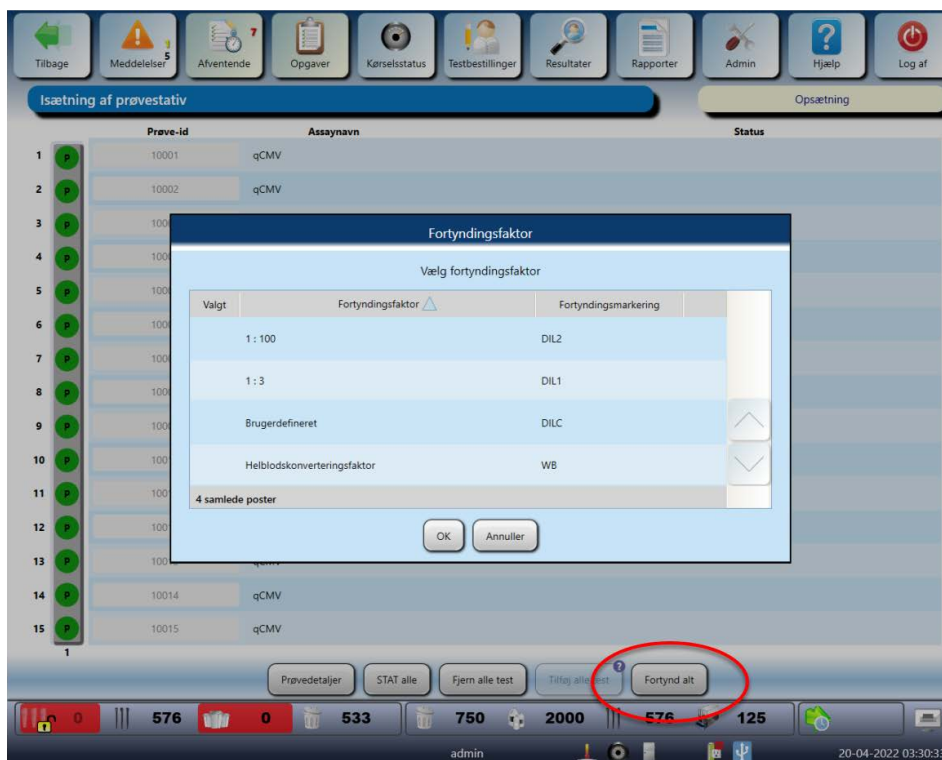
1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i *brugervejledning til Panther/Panther Fusion System* og *Procedurenoter*. Sørg for, at der anvendes reagensstativer og TCR-adapttere af passende størrelse.
2. Sæt prøverne i prøvestativet. Udfør de følgende trin for hvert prøverør (prøve og, hvor nødvendigt, kalibrator og kontroller):
 - a. Løsn én prøverørshætte, men tag den ikke helt af.
Bemærkning: Vær især forsigtig med at undgå kontamination fra spredning af aerosoler. Løsn forsigtigt hættterne på prøverne.
 - b. Sæt prøverøret i prøvestativet.
 - c. Gentag trin 2.a og 2.b for hver resterende prøve.
 - d. Når prøverne er sat i prøvestativet, fjernes og bortskaffes hvert prøverørs hætte i ét prøvestativ. For at undgå kontamination må en hætte ikke føres hen over andre prøvestativer eller prøverør.
 - e. Brug om nødvendigt en ny engangs overførselspipette til at fjerne eventuelle bobler eller skum. Bobler i rørene påvirker niveaumålingen i Panther System.
 - f. Når den sidste hætte er fjernet, skal prøvestativet sættes i prøvebåsen.
Bemærkning: Hvis der køres andre assays og prøvetyper på samme tid, skal prøveholderen (retainer) sikres, før prøvestativet sættes i prøvebåsen.
 - g. Gentag trin 2.a og 2.f for det næste prøvestativ.

H. Prøveforberedelse. Anvendelse af konverteringsfaktor for helblodsprøve.

1. Sæt systemet op ifølge anvisningerne i brugervejledningen til *Panther/Panther Fusion System*.
2. Fyld prøvestativet
3. Anvend fuldblodskonverteringsfaktor til at analysere testbestillinger for fuldblodsprøver.
Bemærkning: Fuldblodskonverteringsfaktor kan anvendes på et helt stativ eller en enkelt testordre.

Anvend fuldblodskonverteringsfaktor til at analysere testbestillinger for fuldblodsprøver.

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



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

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

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

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

Sådan anvender du konverteringsfaktor for fuldblod til en enkel testbestilling (se illustration nedenfor):

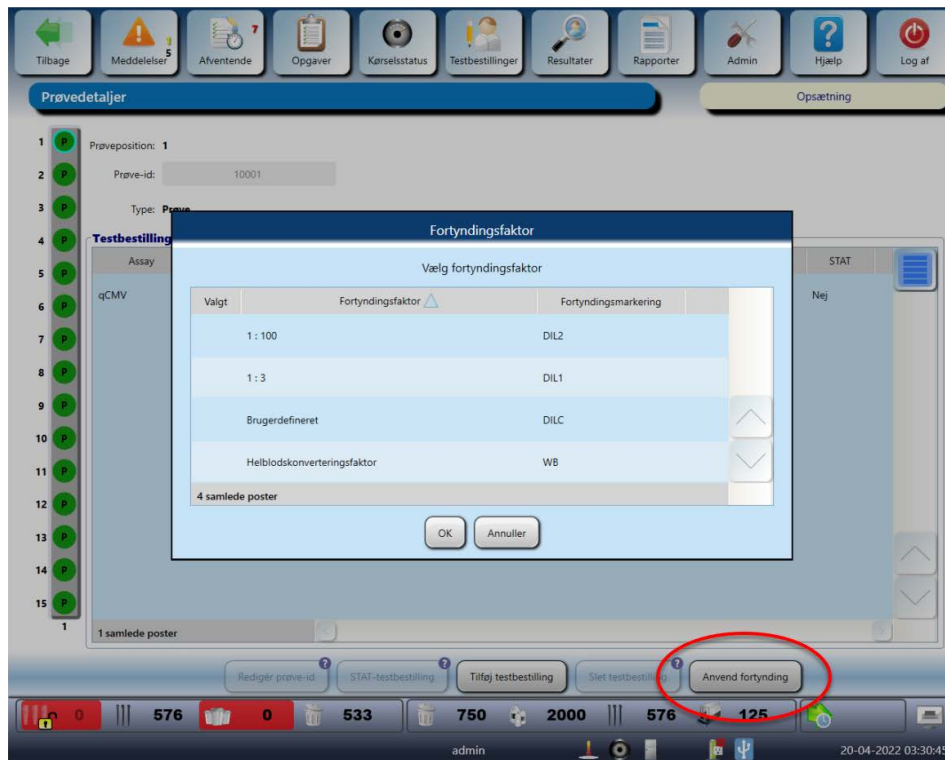
- a. Fra skærbilledet *Sample Rack Bay* (prøvestativbås) dobbeltklikkes på det isatte stativ, der inkluderer præparatet/præparaterne af interesse.

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

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

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

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



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

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

Sådan slettes fuldblodskonverteringsfaktoren fra et helt stativ:

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

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

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

Sådan slettes assay-testbestillinger på fuldblodskonverteringsfaktoren:

1. Fra skærmbilledet *Sample Rack Bay* (prøvestativbås) dobbeltklikkes på det isatte stativ, der inkluderer præparatet/præparaterne af interesse.
Skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativ) vises for det valgte prøvestativ.

2. Fra skærmen *Sample Rack Loading* (Isætning af prøvestativer) dobbeltklikkes på det ønskede præparat.
Skærmen *Sample Details* (Prøvedetaljer) åbnes sammen med de aktuelle testbestillinger for det valgte præparat.
3. Vælg den relevante testbestilling fra panelet *Test Orders* (Testbestillinger).
4. Vælg **Apply Dilution (anvend fortynding)**
5. I vinduet *Dilution Factor* (fortyndingsfaktor) fravælges **Whole Blood Conversion Factor (fuldblodskonverteringsfaktor)**.
6. Vælg **OK** for at slette fuldblodskonverteringsfaktoren fra testbestillingen.

Procedurenoter

A. Kalibrator og kontroller

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

B. Handskepulver

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

Kvalitetskontrol

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

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

I tilfælde af et ugyldigt resultat på grund af ML2-fejl må du ikke teste den ufortyndede plasmaprøve igen. Se *Testprocedure til Panther System*, trin E.5, i denne indlægsseddel for anvisninger til at fortynde prøven.

Bemærkning: For ML2-fejl, se den relevante *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Brugervejledning til Panther/Panther Fusion System)* for anvisninger i rengøring med magnetisk vask.

Kalibrering af assayet

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

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

Negative og positive kontroller

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

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

Intern kalibrator/intern kontrol

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

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

Fortolkning af resultater

Panther systemet bestemmer automatisk koncentrationen af CMV DNA for prøver og kontroller ved at sammenligne resultaterne med en kalibreringskurve. CMV DNA koncentrationer rapporteres i IU/mL og \log_{10} IU/mL. Fortolkningen af resultater er vist i Tabel 1 og Tabel 2. Hvis fortyndingsmuligheden for fuldblod eller plasma bruges på Panther systemet, beregner softwaren automatisk CMV DNA koncentrationen for den ufortyndede prøve ved at gange den fortyndede koncentration med fortyndingsfaktoren, og prøveresultaterne markeres.

Bemærkning: For fortyndede plasmaprøver kan resultater, vist som "Not detected" (Ikke detekteret) eller "<53 detected" (<53 detekteret) blive genereret ved fortynding af en prøve med en koncentration over, men tæt på LoD (detektionsgrænse) eller LLoQ (nedre kvantiteringsgrænse). Det anbefales at indsamle og teste en anden ufortyndet prøve, hvis et kvantitativt resultat ikke kan opnås.

Tabel 1: Fortolkning af plasmaresultat

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

^aUgyldige resultater vises med blå skrift.

Tabel 2: Fortolkning af helblodsresultat

Rapporteret Aptima CMV Quant Assay-resultat		Fortolkning
IE/ml	Log ₁₀ værdi	
Ikke detekteret	Ikke detekteret	CMV DNA ikke detekteret.
< 176 detekteret	< 2,24	CMV DNA detekteres, men på et niveau, der ligger under den nedre kvantificeringsgrænse (LLoQ)
176 til 10.000.000	2,24 til 7,00	CMV DNA koncentrationen ligger inden for det lineære område mellem LLoQ to ULoQ IU/ml.

Tabel 2: Fortolkning af helblodsresultat

> 10.000.000	> 7,00	CMV DNA-koncentration er over den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ).
Ugyldig ^a	Ugyldig ^a	Der opstod en fejl under udarbejdelsen af resultatet. Prøven skal testes igen.

^aUgyldige resultater vises med blå skrift.

Bemærkning: For fortyndede plasmaprøver rapporterer Panther systemet resultater, der er større end ULoQ (øvre kvantiteringsgrænse), ved hjælp af videnskabelig notation, hvis den fortyndede prøves resultat ligger inden for assayområdet, før fortyndingsfaktoren påføres.

Godkendelseskriterierne for hver af Aptima CMV Quant assaykontrollerne er angivet i Tabel 3.

Bemærkning: Indvindingsområdet, der er angivet nedenfor, skifter på basis af den tildelte værdi af hvert specifikke lot. Se den tildelte koncentration, der er angivet på indlægssedlen til kontrollens stregkodeliste, der leveres med hver kontrolæske.

Tabel 3: Godkendelseskriterier for indvindingsområde for Aptima CMV Quant Assay

Komponent	Indvindingsområde for gyldige kørsler
Negativ kontrol	N/A
Lav positiv kontrol	+/- 0,6 log ₁₀ copies/mL
Høj positiv kontrol	+/- 0,5 log ₁₀ copies/mL

Begrænsninger

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

Analytisk præstation

Detektionsgrænse ved brug af WHO's 1. internationale standard

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

Detektionsgrænse ved brug af 1. Internationale WHO-standard i plasma

LoD blev bestemt ved at teste paneler af 1. Internationale WHO-standard (NIBSC-kode 09/162)²¹ for CMV fortyndet i negativt humant plasma. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD-værdierne, som vises i Tabel 4, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Aptima Aptima CMV Quant ved brug af WHO's 1. internationale standard er 40,7 IE/ml for plasma.

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

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

Detektionsgrænse ved brug af 1. internationale WHO-standarder i fuldblod

LoD blev bestemt ved testpaneler af 1. WHO International Standard (NIBSC for CMV fortyndet i CMV-negativt humant plasma. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. Der blev udført probit-analyser for at generere de forventede detektionsgrænser. LoD-værdierne, som vises i Tabel 5, er resultaterne fra det reagenslot, der har den højeste forventede detektionsgrænse. LoD for Aptima Aptima CMV Quant ved brug af WHO's 1. internationale standard er 131,0 IE/ml for helblod.

Tabel 5: Detektionsgrænse for fuldblod ved brug af 1. Internationale WHO-standard for CMV

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

Detektionsgrænse for CMV-genotyper og lægemiddelresistente mutanter

Detektionsgrænse for CMV-genotyper og lægemiddelresistente mutanter i plasma.

LoD blev verificeret for tre forskellige genotyper baseret på Glycoprotein B-sekvens⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) og lægemiddelresistente mutanter ved at teste flere forskellige koncentrationer af CMV omkring fastslået LoD for plasma ved brug af 1. internationale WHO-standard (genotype gB-1). Testning blev udført med 30 replikater pr. panelmedlem pr. reagenslot ved brug af to lot af Aptima CMV Quant reagenser. Det højeste LoD, der blev verificeret for alle tre genotyper og lægemiddelresistente mutanter, var 40 IU/mL ved brug af begge reagenslot.

Bemærkning: Præstationen af Aptima CMV Quant assay med lægemiddelresistente mutationer af CMV blev kun vurderet i plasmaprøver.

Tabel 6: Detektionsgrænse for CMV-genotyper og lægemiddelresistente mutanter i plasma

Genotyper/Mutanter	Koncentration (IU/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Lægemiddelresistent mutant UL54 og UL97 *	35
Lægemiddelresistent mutant UL56 **	35

* UL54 genmutationer kan føre til krydsresistens over for flere antiviraler til behandling af CMV-infektion som f.eks. ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) og foscarnet (PFA). UL97 genmutationer fører også til resistens over for ganciclovir (GCV).

** UL56 genmutationer fører til resistens over for letermovir (LET).

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

Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper i helblod

LoD blev verificeret for tre forskellige Glycoprotein B genotyper (gB-2, gB-3 og gB-4) ved at teste flere forskellige koncentrationer af CMV omkring fastslået LoD for fuldblod ved brug af CMV 1. Internationale WHO-standard (genotype gB-1). Testning blev udført med 30 replikater pr. panelmedlem pr. reagenslot ved brug af to lot af Aptima CMV Quant reagenser. Det højeste LoD, der blev verificeret for alle tre genotyper, var 150 IU/mL ved brug af begge reagenslot.

Tabel 7: Detektionsgrænse på tværs af CMV-genotyper i helblod

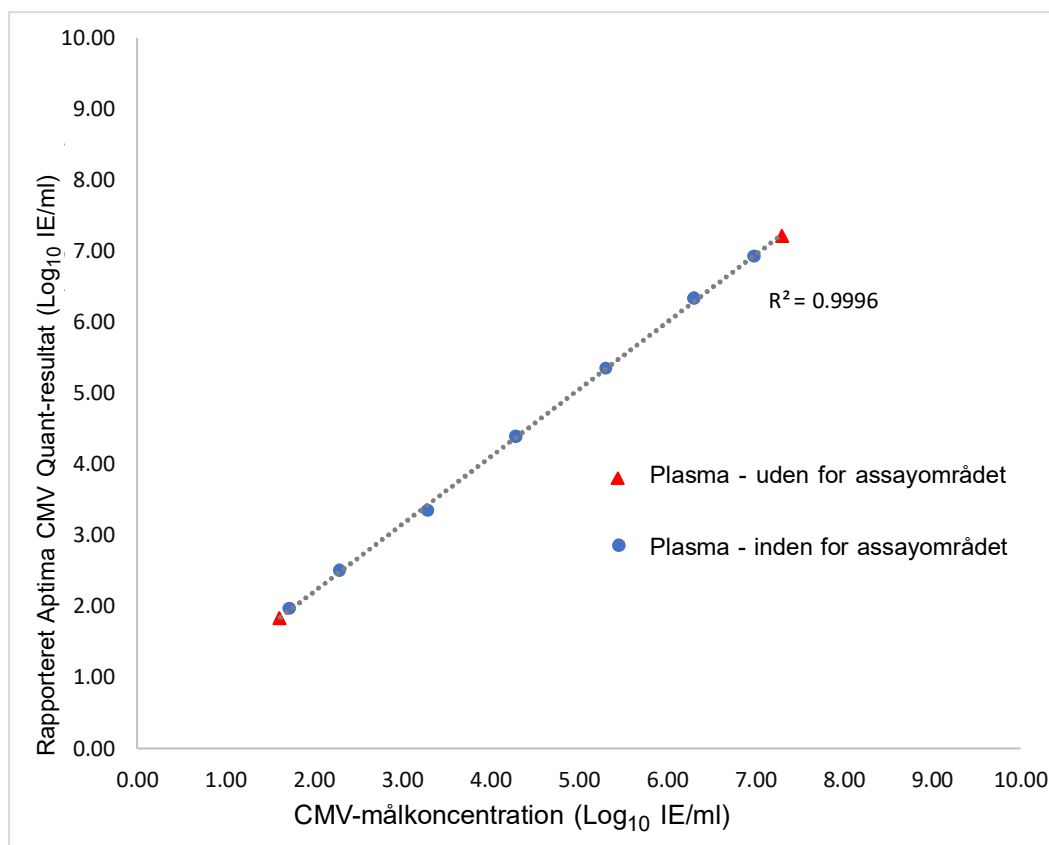
Genotype	Koncentration (IE/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Den samlede LoD i helblod er 150 IE/ml.

Lineært område

Lineært område i plasma

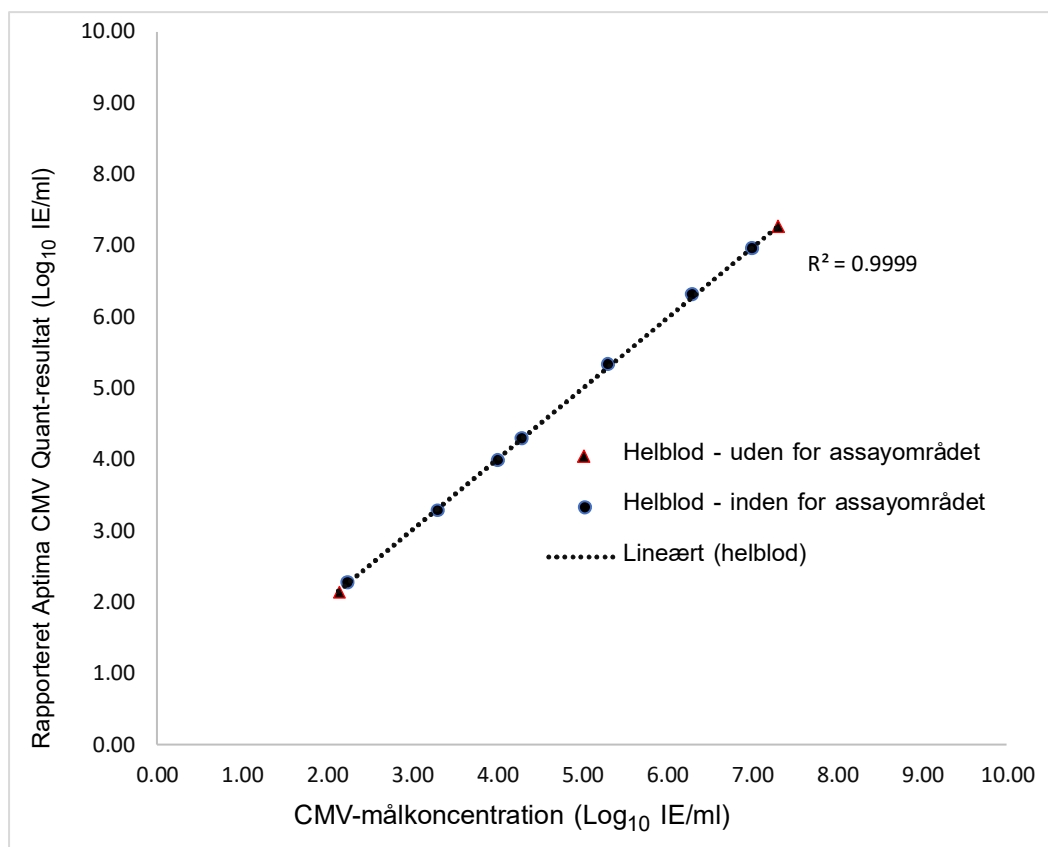
Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af CMV DNA fortyndet i CMV-negativt humant plasma ifølge CLSI EP06-A.¹⁵ Paneler varierede i koncentration fra 1,62 log₁₀ IE/mL til 7,30 log₁₀ IE/mL. Aptima CMV Quant-analysen viste linearitet i det testede område. Den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen er 7 log₁₀ IE/mL som vist i Figur 7.



Figur 7. Linearitet i plasma

Lineært område i helblod

Det lineære område blev fastlagt ved testning af paneler, bestående af CMV DNA fortyndet i CMV-negativt humant fuldblod ifølge CLSI EP06-A.¹⁵ Paneler varierede i koncentration fra 2,15 log₁₀ IE/mL til 7,3 log₁₀ IE/mL for fuldblod. Aptima CMV Quant-analysen viste linearitet i det testede område. Den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen er 7 log₁₀ IE/mL som vist i Figur 8.

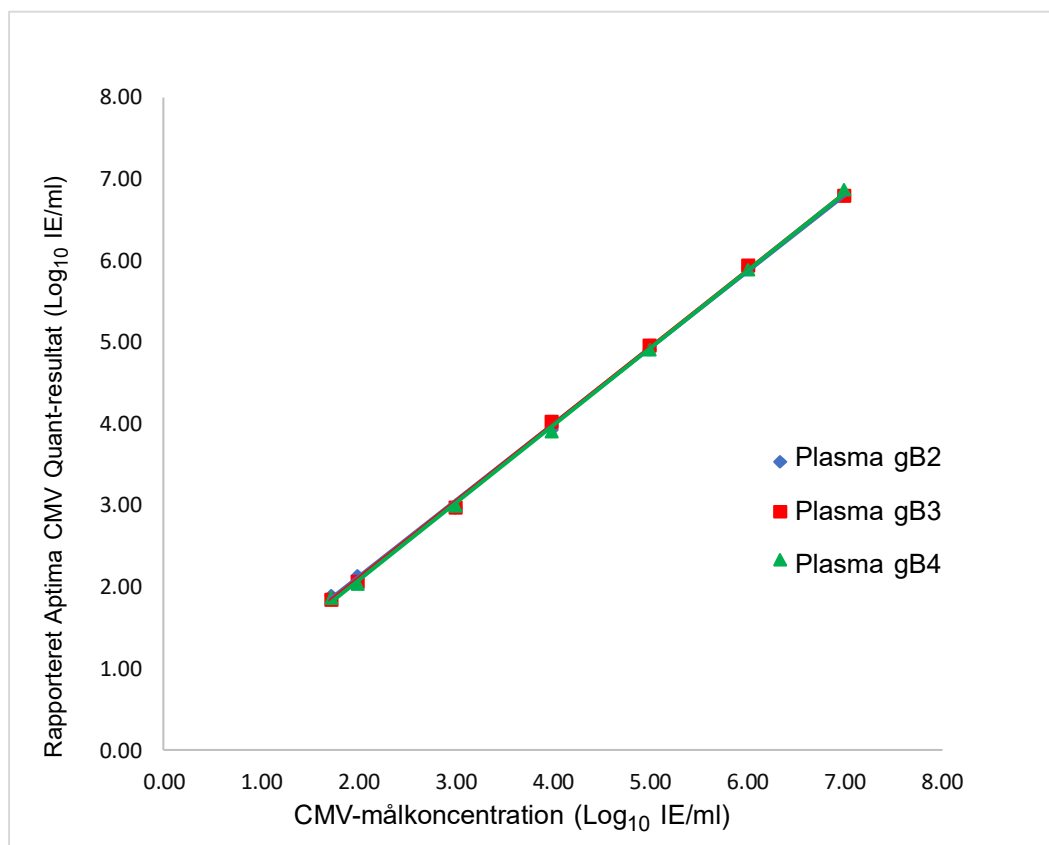


Figur 8. Linearitet i helblod

Linearitet på tværs af CMV-genotyper

Linearitet på tværs af CMV-genotyper i plasma

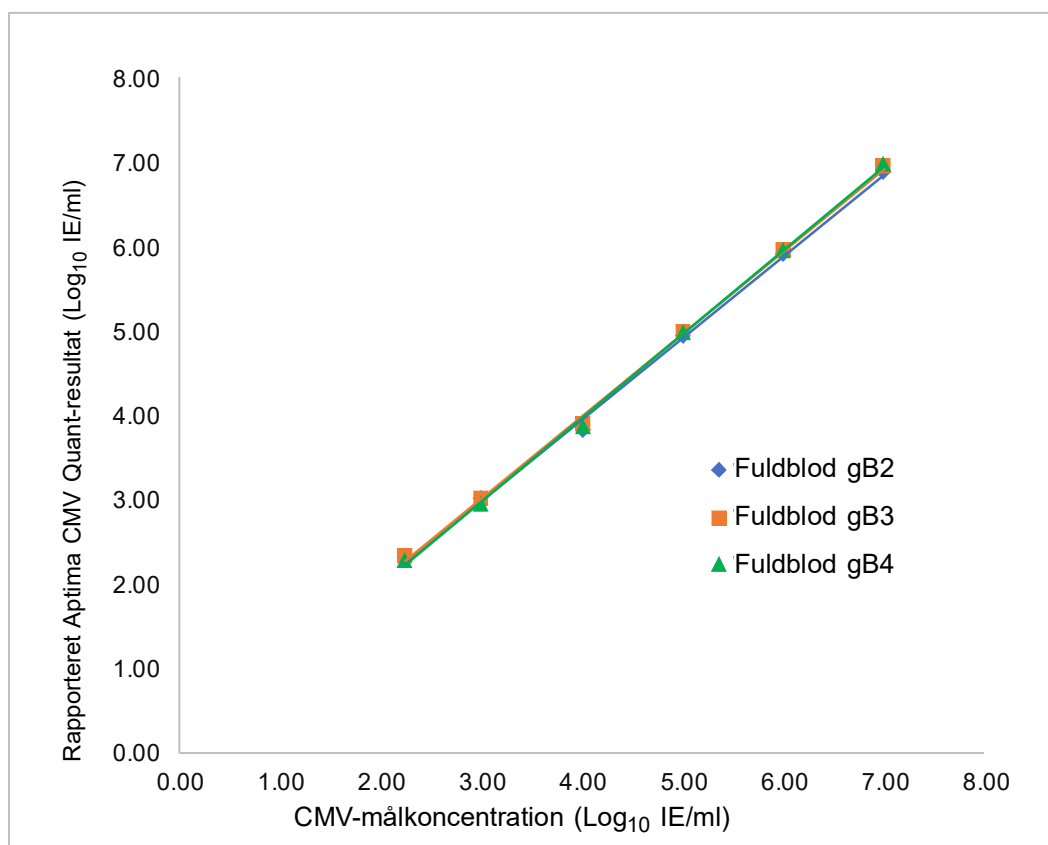
Lineariteten for glycoprotein-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 blev verificeret ved testpaneler af CMV fortyndet i CMV-negativt plasma i koncentrationer i området fra 1,72 log₁₀ IE/mL til 7,00 log₁₀ IE/mL. Linearitet blev påvist på tværs af det område for alle testede genotyper, som vist i Figur 9.



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

Linearitet på tværs af CMV-genotyper i helblod

Det lineære respons for glycoprotein-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 blev verificeret ved testpaneler af CMV fortyndet i CMV-negativt helblod i koncentrationer i området fra 2,25 log₁₀ IE/mL til 7,00 log₁₀ IE/mL. Linearitet blev påvist på tværs af det område for alle testede genotyper, som vist i Figur 10.



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

Nedre kvantificeringsgrænse ved brug af 1. Internationale WHO-standard

Den nedre kvantiteringsgrænse (LLoQ) defineres som den laveste koncentration ved hvilken, CMV DNA på pålidelig vis kan kvantiteres inden for grænserne for analytisk usikkerhed ifølge CLSI EP17-A2.¹⁴ Total fejl blev beregnet ved hjælp af to metoder: Total fejl (TE) = |bias| + 2SD. For at sikre nøjagtighed af målinger blev analytisk usikkerhed for Aptima CMV Quant Assay sat til 1 log₁₀ IE/ml (dvs. at ved LLoQ er forskellen mellem to målinger på mere end 1 log₁₀ IE/ml statistisk signifikant).

Nedre kvantiteringsgrænse ved brug af 1. Internationale WHO-standard i plasma

LLoQ blev bestemt ved at teste paneler af den 1. Internationale WHO-standard (NIBSC code 09/162, genotype gB-1)²¹ for CMV DNA fortyndet i CMV negativt humant plasma. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. LLoQ-resultaterne for de tre reagenslot er vist i Tabel 8. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration, som opfylder TE-kravene og ≥ 95 % detektion er opsummeret i Tabel 9. LLoQ genereret med den 1. WHO internationale standard for CMV i plasma er 53 IE/ml.

Tabel 8: Bestemmelse af LLoQ ved brug af WHO's 1. internationale standard for CMV fortyndet i plasma

Reagenslot	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
1	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
2	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
3	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SD= standardafvigelse

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

Tabel 9: Resumé af LLoQ for plasma ved anvendelse af 1. WHO's internationale standard for CMV

Reagenslot	(IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Nedre kvantificeringsgrænse ved brug af 1. Internationale WHO-standard i fuldblod

LLoQ blev bestemt ved testpaneler af 1. WHO International Standard (NIBSC for CMV fortyndet i CMV-negativt humant helblod. 60 replikater af hver fortynding blev testet med hver af de tre reagenslot til en kombineret total på 180 replikater pr. fortynding. Resultaterne for de tre reagenslot er vist i Tabel 10. Resultaterne fra reagenslottet med den højeste koncentration, som opfylder TE-kravene og $\geq 95\%$ detektion er opsummeret i Tabel 11. LLoQ genereret med den 1. WHO internationale standard for CMV i helblod er 176 IE/ml.

Tabel 10: Bestemmelse af LLoQ ved brug af WHO's 1. internationale standard for CMV fortyndet i helblod

Reagenslot	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregn et TE
			(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ ml)	(log ₁₀ IE/ ml)	(log ₁₀ IE/ ml)	(log ₁₀ IE/ml)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

SD= standardafvigelse

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

Tabel 11: Resumé af LLoQ for fuldblod ved anvendelse af 1. WHO's internationale standard for CMV

Reagenslot	(IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Bestemmelse af den nedre kvantiteringsgrænse for CMV-genotyper og lægemiddelresistente mutanter

Nedre kvantiteringsgrænse for genotyper og lægemiddelresistente mutanter i plasma

LLoQ, der blev fastslået ved brug af 1. Internationale WHO-standard blev verificeret ved at teste fortyndinger af CMV genotyper gB-2, gB-3, gB-4 og lægemiddelresistente mutanter i CMV negativt humant plasma. 60 replikater af hvert panelmedlem blev testet med ét reagenslot. Resultaterne vises i Tabel 12. Den beregnede LLoQ for genotyper gB-2, gB-3, gB-4 og lægemiddelresistente mutanter fra reagenslottet med den højeste koncentration, der opfylder TE-kravene og ≥ 95 % detektion er opsummeret i Tabel 12. Den samlede LLoQ for plasma i dette assay er 53 IU/mL.

Bemærkning: Præstationen af Aptima CMV Quant assay med lægemiddelresistente mutationer af CMV blev kun vurderet i plasmaprøver.

Tabel 12: Bestemmelse af LLoQ af genotyper og lægemiddelresistente mutanter i plasma

Genotyper/ Mutanter	N	% detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/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 12: Bestemmelse af LLoQ af genotyper og lægemiddelresistente mutanter i plasma (forts.)

Genotyper/ Mutanter	N	% detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/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
Lægemiddelr esistent mutant (UL54 og 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
Lægemiddelr esistent 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= standardafvigelse

Panelmedlemmer, som opfyldte nøjagtighedsmålet (TE ≤1) og ≥95 % detektion for Reagenslots 1, 2 og 3, er skraverede.

Tabel 13: Oversigt over LLoQ af genotyper og lægemiddelresistente mutanter i plasma

Genotyper/Mutanter	LLoQ	
	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Lægemiddelresistent mutant UL54 og UL97 *	38	1,57
Lægemiddelresistent mutant UL56 **	35	1,54

* UL54 genmutationer kan føre til krydsresistens over for flere antiviraler til behandling af CMV-infektion som f.eks. ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) og foscarnet (PFA).
UL97 genmutationer fører også til resistens over for ganciclovir (GCV).

** UL56 genmutationer fører til resistens over for letermovir (LET).

Nedre kvantificeringsgrænse på tværs af genotyper i fuldblod

LLoQ fastslået ved brug af 1. Internationale WHO-standard blev verificeret ved at teste fortyndinger af CMV-genotyper gB-2, gB-3, gB-4 og i CMV-negativt humant fuldblod. 60 replikater af hvert panelmedlem blev testet med et reagenslot. Resultaterne er vist i Tabel 14. Den beregnede LLoQ for genotyperne gB-2, gB-3 og gB-4 fra reagenslottet med den højeste koncentration, der opfylder TE-kravene og $\geq 95\%$ påvisning er opsummeret i Tabel 15. Den samlede LLoQ for helblod i dette assay er 176 IE/ml.

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

Genotype	N	N detekteret	Targetkoncentration	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
gB-2	60	56	2,08	1,77	0,43	0,30	1,16
	60	56	2,15	1,87	0,39	0,27	1,06
	60	56	2,20	1,80	0,59	0,40	1,58
	60	58	2,26	1,97	0,41	0,28	1,11
	60	59	2,30	2,06	0,50	0,24	1,24
	60	57	2,34	2,01	0,52	0,33	1,38
	60	59	2,38	2,11	0,36	0,27	1,00
	60	60	2,41	2,19	0,30	0,23	0,84
gB-3	60	46	2,08	1,73	0,59	0,35	1,53
	60	54	2,15	1,78	0,50	0,36	1,37
	60	54	2,20	1,87	0,50	0,33	1,34
	60	58	2,26	2,02	0,52	0,23	1,27
	60	58	2,30	2,02	0,32	0,28	0,92
gB-4	60	55	2,08	1,78	0,53	0,30	1,37
	60	57	2,15	1,97	0,40	0,18	0,97
	60	58	2,20	2,09	0,39	0,12	0,89

SD= standardafvigelse

Tabel 15: Resume af LLoQ på tværs af genotyper i fuldblod

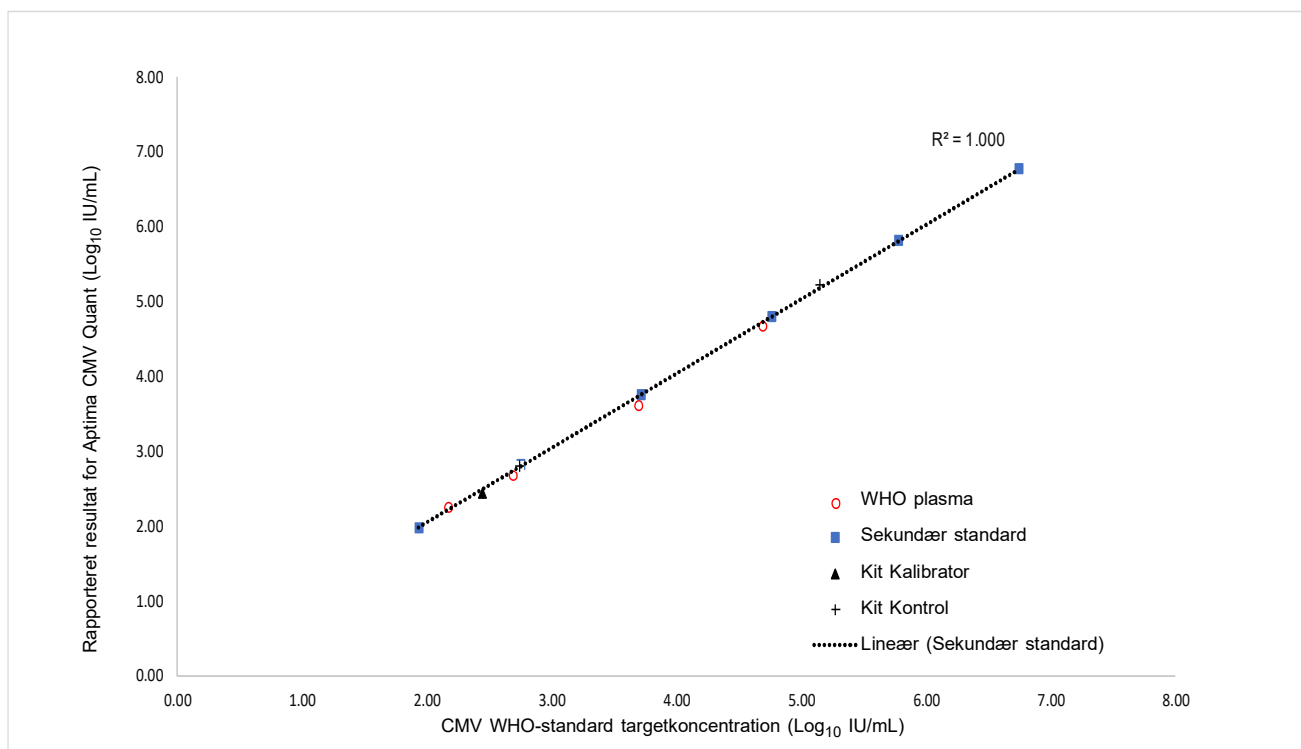
Genotype	LLoQ	
	(IE/ml)	(log ₁₀ IE/ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Sporbarhed til 1. WHO's internationale standard

En række sekundære standarder med kendte koncentrationer blev brugt gennem hele produktudviklingen og produktfremstillingen for at fastslå sporbarheden til den 1. internationale WHO-standard. CMV 1. internationale WHO-standard blev fortyndet og testet sammen med de sekundære standarder såvel som assaykontroller og kalibratorer, der blev anvendt i Aptima CMV Quant assayet til at vurdere sporbarheden iht. CLSI EP32-R.¹⁶ De sekundære standarder varierede i koncentration fra 1,80 til 6,60 log₁₀ IU/mL

Sporbarhed til 1. Internationale WHO-standard ved brug af plasma

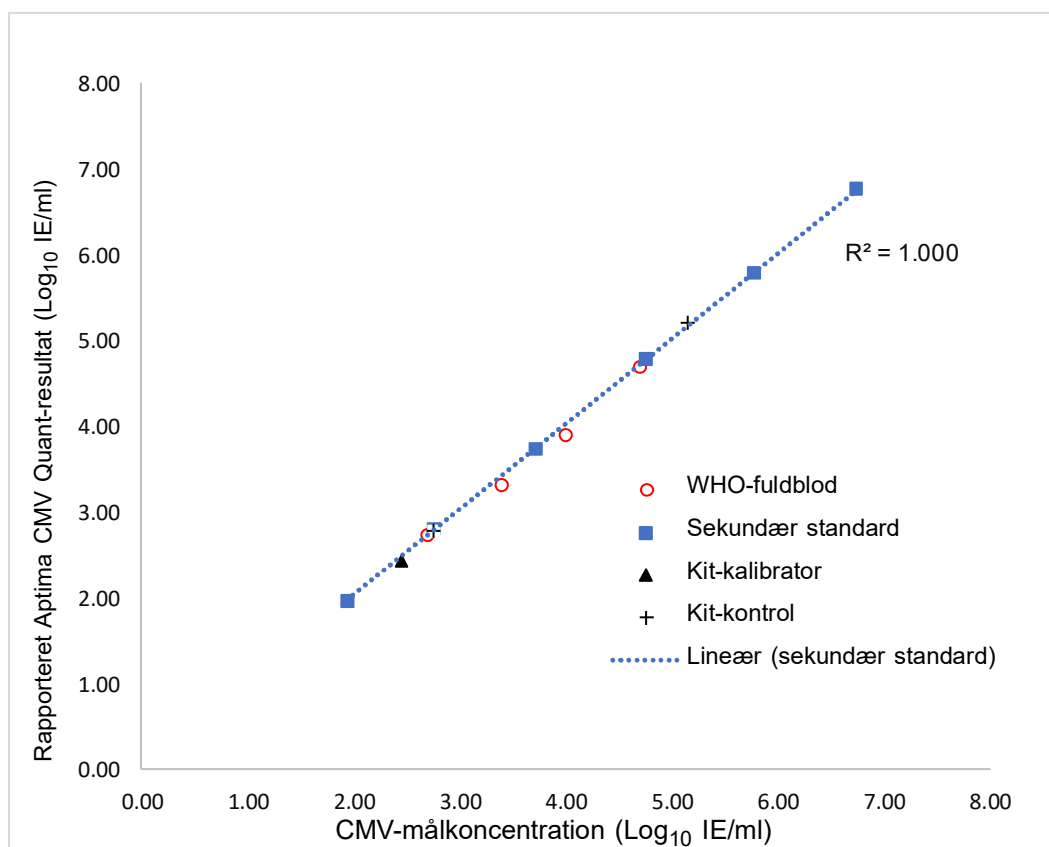
De koncentrationer, der blev testet til CMV 1. Internationale WHO-standard, var mellem 2,18 til 4,70 log₁₀ IU/ mL. WHO-plasmapaneler, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer blev genindvundet som forventet på tværs af assayets lineære område, som det kan ses fra Figur 11.



Figur 11. Sporbarhed mellem den 1. CMV internationale WHO-standards targetkoncentrationer og rapporterede koncentrationer i Aptima CMV Quant Assay (WHO-standard fortyndet i plasma)

Sporbarhed til den 1. internationale WHO-standard ved brug af fuldblod

De koncentrationer, der blev testet til CMV 1. internationale WHO-standard i fuldblod var mellem 2,70 til 4,70 \log_{10} IU/mL. Fuldblodspaneler med WHO-standarder, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratore blev indvundet, som forventet på tværs af assayets lineære område, som det kan ses af Figur 12.



Figur 12. Sporbarhed mellem 1. CMV internationale WHO-standards targetkoncentrationer og rapporterede koncentrationer i Aptima CMV Quant Assay (WHO-standard fortyndet i fuldblod)

Præcision

Plasma

For at vurdere præcision blev der fremstillet et panel med 6 medlemmer ved at fortynde CMV positive kliniske prøver eller podet CMV i CMV negativt plasma. Panelet blev testet af tre operatører ved brug af tre reagenslots på tre Panther systemer over 20 eller flere testdage. Hver operatør udførte to kørsler pr. dag, og hvert panelmedlem blev testet i duplikat i hver kørsel. Undersøgelsen blev tilrettelagt og analyseret iht. anbefalingerne i CLSI EP-05-A3.¹⁷

Table 16 viser præcisionen af assayresultaterne (i \log_{10} IU/mL) mellem instrumenter, operatører, reagenslot, kørsler, dage, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 16: Præcision af Aptima CMV Quant Assay i plasma

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

SD= standardafvigelse

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

Helblod

For at vurdere præcision blev der fremstillet et panel med 6 medlemmer ved at fortynde CMV positive kliniske prøver eller spiking podet CMV i CMV negativt fuldblod. Panelet blev testet af tre operatører ved brug af tre reagenslots på tre Panther systemer over 20 eller flere testdage. Hver operatør udførte to kørsler pr. dag, og hvert panelmedlem blev testet i duplikat i hver kørsel.

Tabel 17 viser præcisionen af assay-resultaterne (i \log_{10} IU/ml) mellem instrumenter, operatører, lots, kørsler, dage, inden for kørsler og i alt. Samlet variabilitet var primært pga. inden for kørsel-variabilitet (dvs. tilfældig fejl).

Tabel 17: Præcision af Aptima CMV Quant Assay i fuldblod

N	Middelkoncentration (log ₁₀ IE/ml)	Mellem-Lot SD	Mellem-instrument SD	Mellem-operatør SD	Mellem-dag SD	Mellem-kørsel SD	Inden for kørsel SD	I alt SD
108	2,78	0,00	0,01	0,05	0,00	0,08	0,14	0,17
108	3,38	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,13	0,14
108	3,95	0,06	0,00	0,07	0,05	0,05	0,13	0,18
108	4,76	0,03	0,01	0,08	0,00	0,07	0,12	0,16
108	5,64	0,01	0,00	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13
108	6,74	0,03	0,00	0,05	0,00	0,04	0,09	0,12

SD= standardafvigelse

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

Potentielt interfererende stoffer

Følsomheden af Aptima CMV Quant assayet for interferens fra forhøjede niveauer af endogene stoffer, antikoagulanter og fra lægemidler, der normalt ordineres til patienter med transplantat, blev evalueret. Testkoncentrationerne for hver af de interfererende stoffer blev valgt på basis af tilgængelige litteraturhenvisninger og vejledning leveret af CLSI EP07¹⁸ og EP37¹⁹. CMV negative plasmaprøver og prøver med tilsætning af CMV til en koncentration på 2,22 log₁₀ IU/mL og 3,30 log₁₀ IU/mL blev testet. CMV-negative fuldblodsprøver og prøver med tilsætning af CMV til en koncentration på 2,72 og 4,00 log₁₀ IU/mL CMV DNA blev testet for hæmoglobin

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

Kliniske plasmaprøver fra patienter med eleverede niveauer af definerede stoffer eller fra patienter med de sygdomme, som angives i Tabel 18, blev testet med Aptima CMV Quant-assay. Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation.

Tabel 18: Testede kliniske prøvetyper

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

Der blev ikke observeret interferens af assayets præstation ved tilstedeværelse af de eksogene stoffer, vist i Tabel 19 ved koncentrationer mindst tre gange højere end $C_{maks.}$ for stoffer i humant plasma.

Tabel 19: Eksogene stoffer

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

Specificitet

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

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

Tabel 20: Specificitet i plasma- og helblodsprøver

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

CI=confidence interval (konfidensinterval)

Analytisk specificitet

Potentiel krydsreaktivitet over for de patogener, der er anført i Tabel 21, blev evalueret i CMV-negativt humant plasma tilstedeværelsen eller fraværet af 2,2 Log₁₀ IE/ml og 3,3 Log₁₀ IE/ml CMV. Tre blodparasitter fundet i fuldblodsprøver blev også evalueret i CMV-negativt fuldblod i tilstedeværelse eller fravær af 2,7 Log₁₀ IE/ml og 4,0 log IE/ml CMV. Patogener blev testet ved den højeste tilgængelige koncentration. Der blev ikke observeret krydsreaktivitet eller interferens.

Tabel 21: Patogener testet for analytisk specificitet

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

^aTCID50/mL = Infektøse dosisenheder i vævskultur pr. mL

^bcp/mL = Viruskopier pr. mL

^cIU/mL = Internationale enheder pr. mL

^dCFU/mL = colony forming units (kolonidannende enheder) pr. mL

* testet med fuldblodsprøvetype

Fortynding af plasmaprøve ved brug af CMV Negativ kontrol (1:3)

For at vurdere kvantiteringsnøjagtigheden af CMV DNA i plasmaprøver, fortyndet med Aptima CMV negativ kontrol, blev prøver med koncentrationer fordelt på tværs af det lineære område fortyndet 1:3 med Aptima CMV negativ kontrol (240 uL prøve kombineret med 480 uL Aptima CMV negativ kontrol). Ufortyndede og fortyndede prøver blev testet i triplikat. Testning blev udført ved brug af ét lot af reagenser på ét Panther system med to lot af Aptima CMV negativ kontrol. Forskellen mellem de ufortyndede og fortyndede testresultater blev beregnet for hvert prøvesæt, som vist i Tabel 22. Prøvekoncentrationerne blev nøjagtigt genvundet i de fortyndede prøver efter at have indføjet fortyndingsfaktoren.

Tabel 22: Repeterbarhed af kliniske plasmaprøver fortyndet i negativ kontrol

Ufortyndet plasmaprøve Gennemsnitlig rapporteret koncentration (\log_{10} IU/mL) n= 3	Fortyndet plasmaprøve Gennemsnitlig rapporteret koncentration (\log_{10} IU/mL) n= 6	Forskel (\log_{10} IU/mL)
2,30	2,42 ^a	0,12
2,50	2,60	0,11
3,03	3,02	-0,01
3,46	3,45	-0,01
3,29	3,29	0,00
4,64	4,43	-0,21
5,32	5,31	-0,01
6,43	6,44	0,01
6,91 ^b	6,95	0,05
>ULoQ ^c	7,41 ^d	N/A

^aResultat af to replikater. Fire resultater blev "Detekteret", men ikke kvantificeret.

^bResultat af to replikater. Ét resultat blev "Detekteret", men ikke kvantificeret, fordi det var >ULoQ.

^cTre resultater blev "Detekteret", men ikke kvantificeret, fordi de var >ULoQ.

^dResultat af fire replikater. To resultater blev "Detekteret", men ikke kvantificeret, fordi de var >ULoQ.

Bekræftelse af LoD og LLoQ ved brug af CMV 1. internationale WHO-standarder fortyndet i Aptima CMV negativ kontrol

LoD og LLoQ af Aptima CMV Quant assay blev bekræftet med CMV 1. internationale WHO-standard (NIBSC-kode 09/162) i plasma, fortyndet 1:3 ved brug af Aptima CMV negativ kontrol. Prøver blev klargjort i CMV negativt humant plasma med CMV koncentrationer ved 90, 105, 120, 135, 150 og 165 IU/mL. Hvert panel blev fortyndet 1:3 i Aptima CMV negativ kontrol lige før testning til slutkoncentrationer på ca. 30, 35, 40, 45, 50 og 55 IU/mL. I alt 60 replikater af hvert panelmedlem blev testet med ét reagenslot over tre dage. Total fejl blev vurderet ved brug af Westgard-modellen: Total fejl (TE) = |bias| + 2SD. Alle prøver med en koncentration på ≥ 45 IU/mL had ≥ 95 % detektion og total fejl (TE) på $\leq 1 \log_{10}$ IU/mL, som vist i Tabel 23. Dette bekræfter LLoQ af CMV med prøver fortyndet med negativ kontrol.

Tabel 23: LoD og LLoQ af plasmaprøver fortyndet 1:3 ved brug af negativ kontrol

N	% Detekteret	Targetkoncentration	Targetkoncentration	Aptima	SD	Bias	Beregnet TE
		efter 1:3 fortynding	efter 1:3 fortynding	CMV Quant til fortyndet prøve			
		(IU/mL)	(\log_{10} IU/mL)	(\log_{10} IU/mL)	(\log_{10} IU/mL)	(\log_{10} IU/mL)	(\log_{10} IU/mL)
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

Overførsel

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

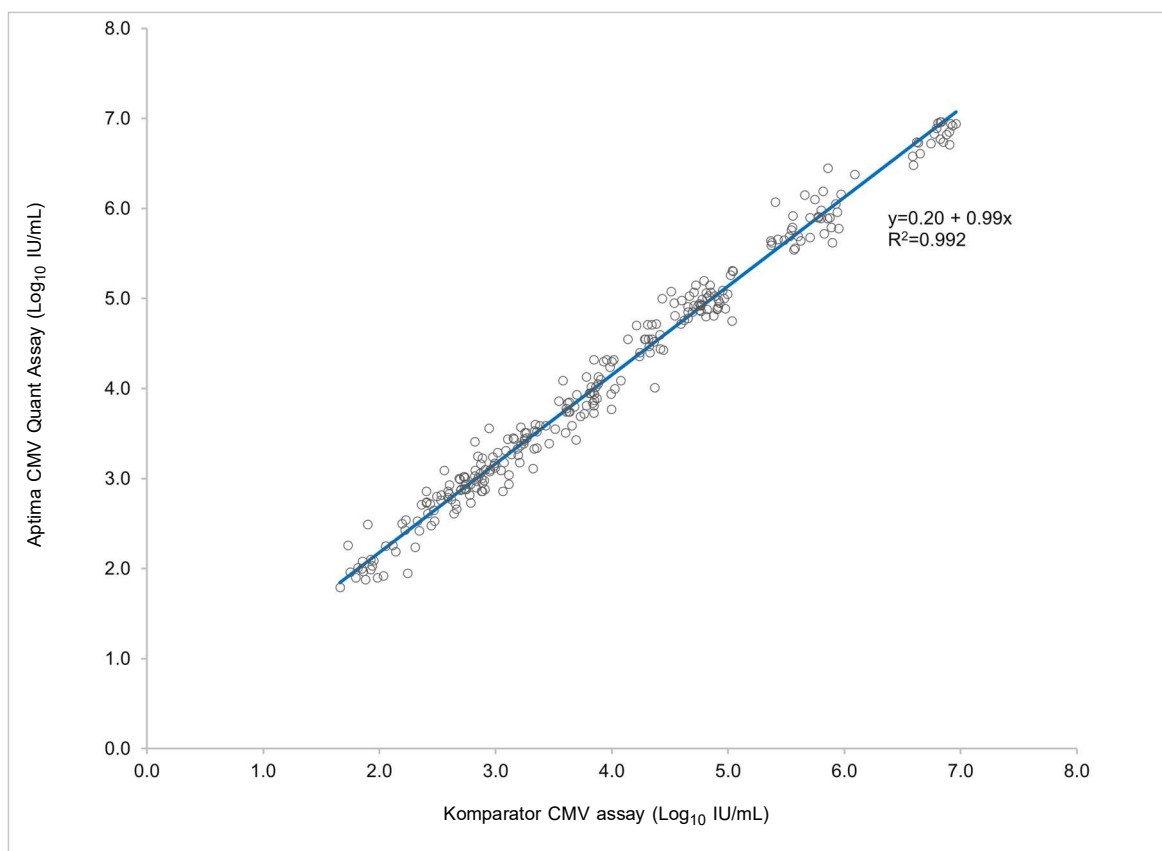
Korrelation mellem metoder

Denne undersøgelse blev udformet i overensstemmelse med CLSI EP09c.19

Korrelation mellem plasmametoder

Aptima CMV Quant assayets præstation blev vurderet i forhold til komparator CMV assayet ved at teste ufertyndede kliniske prøver fra CMV-positive patienter og konstruerede prøver fremstillet af forskellige stammer af dyrket virus, tilhørende alle fire genotyper tilsat i individuelt donornegativt EDTA-plasma. Der blev anvendt i alt 160 kliniske prøver og 115

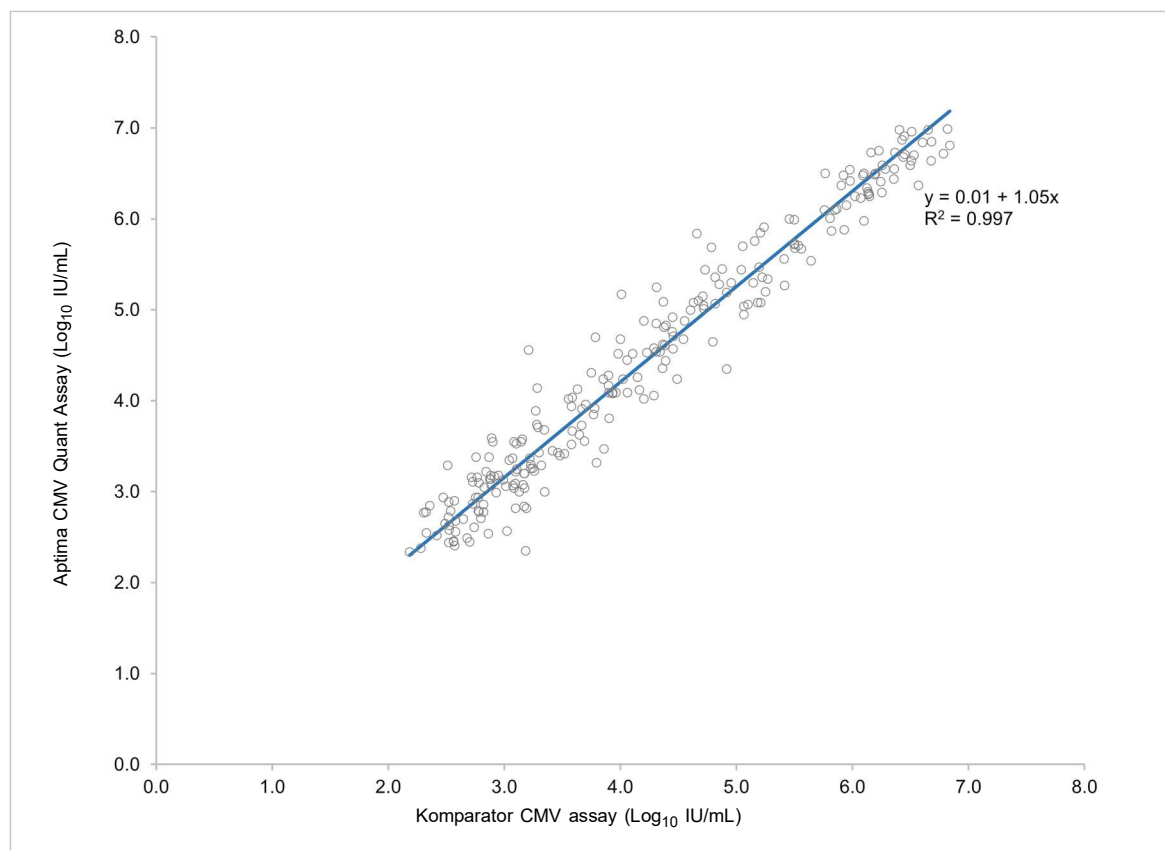
konstruerede prøver inden for det lineære område, fælles for begge assays, til beregning af regression, som vist i Figur 13.



Figur 13. Korrelation mellem CMV virusmængde i Aptima CMV Quant assay og komparator CMV assay ved testning af plasmaprøver

Korrelation mellem helblodsmetoder

Aptima CMV Quant assayets præstation blev vurderet i forhold til komparator CMV assayet ved at teste uforyndede kliniske prøver fra CMV-positive patienter og konstruerede prøver fremstillet af dyrket virus, tilsat i individuelt donornegativt EDTA-fuldblod. Der blev anvendt i alt 159 kliniske prøver og 83 konstruerede prøver inden for det lineære område, fælles for begge assays til Demings regression, som vist i Figur 14.



Figur 14. Korrelation mellem CMV virusmængde i Aptima CMV Quant assay og komparator CMV assay ved testning af fuldblodsprøver

Reproducerbarhed

Reproducerbarhed i plasmaprøver

Reproducerbarhed af Aptima CMV Quant assay i plasma blev vurderet i tre eksterne laboratorier. To operatører udførte testning i hvert laboratorium. Hver operatør udførte én kørsel pr. dag over 5 dage ved brug af ét reagenslot i løbet af testningen. Hver kørsel havde tre replikater af hver panelmedlem.

Reproducerbarhed blev testet ved brug af panelmedlemmer, der blev forberedt ved at fortynde CMV positive kliniske prøver eller podet CMV i CMV negativt EDTA plasma. CMV DNA koncentrationer strakte sig over assayets lineære område.

Tabel 24 viser reproducerbarheden og præcisionen af assayresultaterne for hvert positivt panelmedlem mellem laboratorier, mellem operatører, mellem dage, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt. Variationskoefficienten blev beregnet ved brug af den følgende ligning, hvor σ^2 er prøvevariansen af dataene efter \log_{10} transformation.

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

Tabel 24: Reproducerbarheden af Aptima CMV Quant assay CMV DNA-niveauer på Panther System i positive Panelmedlemmer i plasma

N	lagttaget gennemsnit		Bidrag til varians i alt SD (%CV ²)					Varians i alt SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Mellem Laboratorier	Mellem Operatører	Mellem Dage	Mellem kørsler	Inden for Kørsler	
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-normal variationskoefficient, SD=standardafvigelse (log₁₀ IU/ml)

Bemærkning: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde vises SD og %CV som 0.

Reproducerbarhed i fuldblodsprøver

Reproducerbarhed af Aptima CMV Quant assay i fuldblod blev vurderet i tre eksterne laboratorier. To operatører udførte testning i hvert laboratorium. Hver operatør udførte én kørsel pr. dag over 5 dage ved brug af ét reagenslot i løbet af testningen. Hver kørsel havde tre replikater af hver panelmedlem.

Reproducerbarhed blev testet ved brug af panelmedlemmer, der blev forberedt ved at fortynde CMV positive kliniske prøver eller podet CMV i CMV negativt EDTA fuldblod. CMV DNA koncentrationer strakte sig over assayets lineære område.

Tabel 25 viser reproducerbarheden og præcisionen af assayresultaterne for hvert positivt panelmedlem mellem laboratorier, mellem operatører, mellem dage, mellem kørsler, inden for kørsler og i alt ved at udelukke én iagttaget afvigende værdi (0,2 %, 1/533). Variationskoefficienten blev beregnet ved brug af den følgende ligning, hvor σ^2 er prøvevariansen af dataene efter \log_{10} transformation.

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

For alle CMV positive og CMV negative panelmedlemmer var overensstemmelsesværdierne 100 %.

Tabel 25: Reproducerbarheden af Aptima CMV Quant assay CMV DNA-niveauer på Panther System i positive Panelmedlemmer i plasma

N	Iagttaget gennemsnit		Bidrag til varians i alt SD (%CV ²)					Varians i alt SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Mellem Laboratorier	Mellem Operatører	Mellem Dage	Mellem kørsler	Inden for Kørsler	
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-normal variationskoefficient, SD=standardafvigelse (log₁₀ IU/ml)

Bemærkning: Variabilitet pga. visse faktorer kan være numerisk negativ. Dette kan forekomme, hvis variabiliteten pga. disse faktorer er meget lille. I disse tilfælde vises SD og %CV som 0.

^aVariansresultat i alt med udelukkelse af den afvigende værdi, som potentielt kan være et resultat af et prøveforberedelsesproblem.

Klinisk præstation

Klinisk overensstemmelse

Undersøgelsen af klinisk præstation var designet til at vurdere den kliniske overensstemmelse mellem Aptima CMV Quant assayet og en godkendt komparatortest. Under den prospektive kliniske multicenterundersøgelse på otte kliniske steder blev plasmaprøver indsamlet fra recipienter af transplantat af solidt organ (SOTR'er) og transplantatrecipienter af hæmatopoietisk stamcelle (HSCTR'er), der gennemgik CMV-overvågning i rutinemæssig klinisk praksis. Derudover blev der opnået frosne restprøver fra SOTR'er og HSCTR'er fra leverandører af klinisk prøve.

Af de 88 forsøgspersoner, der deltog i den prospektive undersøgelse, kunne seks forsøgspersoner ikke vurderes, fordi de trak sig tilbage (n = 5) eller ikke havde gyldige prøveresultater med Aptima CMV Quant assay og den godkendte test (n = 1). Tabel 26 viser de demografiske og baseline kliniske karakteristika for de 82 forsøgspersoner, som kan vurderes.

Tabel 26: Demografiske og baseline kliniske karakteristika for forsøgspersoner, som kan vurderes samlet og efter transplantattype

Karakteristika		SOTR'er	HSCTR'er	Alle
I alt, N		62	20	82
Køn, n (%)	Mand	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Kvinde	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Alder (år)	Gennemsnitlig ± (SD)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Median	53,0	54,5	54,0
	Minimum	20	22	20
	Maksimum	81	69	81
Etnicitet, n (%)	Spansktalende eller latinamerikansk amerikaner	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Ikke spansktalende eller latinamerikansk amerikaner	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Ukendt	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Race, n (%)	Amerikansk indianer/indfødt fra Alaska	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiat	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Sort eller afrikansk-amerikaner	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Indfødt hawaiianer/Person fra stillehavsø	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Hvid	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Andet	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Ukendt	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Organtype, n (%)	Nyre	25 (40,3)	--	--
	Lever	15 (24,2)	--	--
	Lunge	10 (16,1)	--	--
	Hjerte	12 (19,4)	--	--

Tabel 26: Demografiske og baseline kliniske karakteristika for forsøgspersoner, som kan vurderes samlet og efter transplantattype (forts.)

Karakteristika		SOTR'er	HSCTR'er	Alle
Stamcelletype, n (%)	Allogene	--	18 (90,0)	--
	Autolog	--	2 (10,0)	--
CMV serologistatus, n (%)	Donorpositiv / Recipientnegativ	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Donornegativ / Recipientpositiv	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Donorpositiv / Recipientpositiv	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
På CMV antiviral behandling, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Dage på CMV antiviral behandling op til deltagelse				
n		41	12	53
Middelværdi		13,6	13,3	13,5
Median		11	9,5	11
Minimum		1	1	1
Maksimum		47	45	47

HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, SD = standardafvigelse, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

I den prospektive undersøgelse blev der indsamlet 365 plasmaprøver fra de 82 forsøgspersoner, som kunne vurderes. Derudover blev der opnået 261 frosne restprøver fra leverandører af klinisk prøve. Af de 626 kliniske plasmaprøver (dvs. prøver indsamlet i den prospektive undersøgelse og resterende frosne prøver kombineret) blev 597 parrede (dvs. med et gyldigt resultat både på Aptima CMV Quant assay og den godkendte test) kliniske plasmaprøver inkluderet i overensstemmelsesanalyser. Af de 597 parrede kliniske prøver blev 339 prøver indsamlet i den prospektive undersøgelse, og 258 var frosne restprøver.

Overensstemmelsesanalyser blev udført separat på 181 parrede prøver indsamlet fra forsøgspersoner efter, at de indledte CMV-antiviral behandling som en del af deres rutinemæssige behandling under den prospektive undersøgelse.

Tabel 27 viser overensstemmelsesanalysen og procentvis overensstemmelse mellem Aptima CMV Quant assay og den godkendte test ved forskellige tærskler (samlet og efter transplantatgruppe). Overensstemmelsesanalyse ved forskellige intervaller af virusmængde (samlet og efter transplantatgruppe) vises i Tabel 28. Det blev iagttaget, at fire ud af 597 samlede resultater var uoverensstemmende på tværs af mere end den umiddelbart tilstødende kategori, hvoraf 3 var fra HSCTR'er.

Tabel 27: Overensstemmelse og procentvis overensstemmelse ved forskellige tærskler (samlet og efter transplantatgruppe)

Transplantat Gruppetærskel	N ^a	Komparator ^b og Aptima CMV Quant resultater				PPA % (n/N) [95 % CI] ^c	NPA % (n/N) [95 % CI] ^c
		Comp [≥] ACMV [≥]	Comp ^{<} ACMV [≥]	Comp ^{<} ACMV ^{<}	Comp [≥] ACMV ^{<}		
Samlet							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/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 IU/mL (500 IU/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 IU/mL (1800 IU/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 IU/mL (7943,3 IU/mL)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTR'er							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/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 IU/mL (500 IU/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 IU/mL (1800 IU/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 IU/mL (7943,3 IU/mL)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTR'er							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/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 IU/mL (500 IU/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 IU/mL (1800 IU/mL)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/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=konfidensinterval, Comp=komparatorassay, HSCTR'er=transplantatrecipient med hæmatopoietisk stamcelle, NPA=negativ procentvis overensstemmelse, PPA=positiv procentvis overensstemmelse, SOTR'er= recipienter af transplantater af solidt organ, TND=target ikke detekteret

Bemærkninger:

≥: Resultatet er større end eller lig med den givne tærskelværdi

<: Resultatet er mindre end eller lig med den givne tærskelværdi

PPA opsummerer resultater, der er større end eller lig med den givne tærskel; NPA opsummerer resultater, der er mindre end den givne tærskel.

^a Antal parrede kliniske prøver (prøver indsamlet i den prospektive undersøgelse og frosne restprøver opnået fra leverandører af klinisk prøve kombineret).

^bgodkendt test

^cScore CI

^dLLoQ af en alternativ godkendt test

Tabel 28: Overensstemmelsesanalyse ved forskellige intervaller af virusmængde (samlet og efter transplantatgruppe) vises

Transplantatgruppe Resultat med Aptima CMV assay	Resultat af komparator ^b (log ₁₀ IU/mL)						
	I alt ^a , N	TND	Detekteret, <2,1	≥2,1 til <2,7	≥2,7 til <3,3	≥3,3 til <3,9	≥3,9
Samlet							
Antal i alt af parrede prøver, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥2,1 til <2,7 log ₁₀ IU/mL	105	0	46	54	5	0	0
≥2,7 til <3,3 log ₁₀ IU/mL	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥3,3 til <3,9 log ₁₀ IU/mL	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTR'er							
Antal i alt af parrede prøver, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥2,1 til <2,7 log ₁₀ IU/mL	69	0	26	39	4	0	0
≥2,7 til <3,3 log ₁₀ IU/mL	60	0	0	25	34	1	0
≥3,3 til <3,9 log ₁₀ IU/mL	43	0	0	0	15	28	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTR'er							
Antal i alt af parrede prøver, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥2,1 til <2,7 log ₁₀ IU/mL	36	0	20	15	1	0	0
≥2,7 til <3,3 log ₁₀ IU/mL	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥3,3 til <3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	6	0	0	0	0	2	4

HSCTRs=transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, SOTR'er=recipienter af transplantat af solidt organ, TND=target ikke detekteret

^a Antal parrede kliniske prøver (prøver indsamlet i den prospektive undersøgelse og frosne restprøver opnået fra leverandører af klinisk prøve kombineret).

^b godkendt test

^c LLoQ af en alternativ godkendt test

^d Det blev iagttaget, at fire ud af 597 samlede resultater var uoverensstemmende på tværs af mere end den umiddelbart tilstødende kategori; 1 af de 4 var fra et SOTR og 3 af de 4 var fra HSCTR'er. Af de 2 HSCTR'er, der gennemgik testning med en alternativ NAAIT, blev 1 fundet i overensstemmelse med Aptima CMV Quant analyseresultaterne.

Tabel 29 viser overensstemmelseanalysen og procentvis overensstemmelse ved forskellige tærskler (samlet og efter transplantatgruppe) for prøver indsamlet fra forsøgspersoner efter, at de startede CMV-antiviral behandling som en del af rutinemæssig behandling i den prospektive undersøgelse. Overensstemmelseanalysen ved forskellige intervaller af virusmængde ved anvendelse af alle tidspunkter efter behandlingsstart kombineret (samlet og efter transplantatgruppe) vises i Tabel 30. Det blev iagttaget, at én ud af 181 samlede resultater var uoverensstemmende på tværs af mere end den umiddelbart tilstødende kategori, som blev iagttaget i et SOTR.

Tabel 29: Overensstemmelseanalyse og procentvis overensstemmelse ved forskellige tærskler ved anvendelse af alle tidspunkter efter behandlingsstart kombineret (samlet og efter transplantatgruppe)

Transplantat Gruppætærskel	N ^a	Komparator ^b og Aptima CMV Quant resultater				PPA % (n/N) [95 % CI] ^c	NPA % (n/N) [95 % CI] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
Samlet							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/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 IU/mL (500 IU/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 IU/mL (1800 IU/mL)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTR'er							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/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 IU/mL (500 IU/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 IU/mL (1800 IU/mL)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTR'er							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

ACMV=Aptima CMV Quant assay, CI=konfidensinterval, Comp=komparatorassay, HSCTR'er=transplantatrecipenter med hæmatopoietisk stamcelle, NPA=negativ procentvis overensstemmelse, PPA=positiv procentvis overensstemmelse, SOTR'er= recipenter af transplantater af solidt organ, TND=target ikke detekteret

Bemærkninger:

- ≥: Resultatet er større end eller lig med den givne tærskelværdi
- <: Resultatet er mindre end eller lig med den givne tærskelværdi
- PPA opsummerer resultater, der er større end eller lig med den givne tærskel; NPA opsummerer resultater, der er mindre end den givne tærskel.

^a Antal af parrede prøver, der blev indsamlet fra forsøgspersoner, som var i CMV-antiviral behandling ved deltagelsen, eller som indledte CMV-antiviral behandling under den prospektive undersøgelse.

^b godkendt test

^c Score CI

^d LLoQ af en alternativ godkendt test

Tabel 30: Overensstemmelsesanalyse ved forskellige intervaller af virusmængde ved anvendelse af alle tidspunkter efter behandlingsstart kombineret (samlet og efter transplantatgruppe)

Transplantatgruppe Resultat for Aptima CMV Quant	Resultat af komparator ^b (log ₁₀ IU/mL)						
	I alt ^a , N	TND	Detekteret, <2,1	≥2,1 til <2,7	≥2,7 til <3,3	≥3,3 til <3,9	≥3,9
Samlet							
Antal i alt af parrede prøver, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥2,1 til <2,7 log ₁₀ IU/mL	33	0	15	17	1	0	0
≥2,7 til <3,3 log ₁₀ IU/mL	23	0	0	9	14	0	0
≥3,3 til <3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	0	4	9	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	15	0	0	0	1 ^d	2	12
SOTR'er							
Antal i alt af parrede prøver, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥2,1 til <2,7 log ₁₀ IU/mL	30	0	15	14	1	0	0
≥2,7 til <3,3 log ₁₀ IU/mL	19	0	0	8	11	0	0
≥3,3 til <3,9 log ₁₀ IU/mL	10	0	0	0	4	6	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	0	1 ^d	2	10
HSCTR'er							
Antal i alt af parrede prøver, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Detekteret, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥2,1 til <2,7 log ₁₀ IU/mL	3	0	0	3	0	0	0
≥2,7 til <3,3 log ₁₀ IU/mL	4	0	0	1	3	0	0
≥3,3 til <3,9 log ₁₀ IU/mL	3	0	0	0	0	3	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	2	0	0	0	0	0	2

HSCTRs=transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, SOTR'er=recipienter af transplantat af solidt organ, TND=target ikke detekteret

^a Antal af parrede prøver, der blev indsamlet fra forsøgspersoner, som var i CMV-antiviral behandling ved deltagelsen, eller som indledte CMV-antiviral behandling under den prospektive undersøgelse.

^b godkendt assay

^c LLoQ af en alternativt godkendt test

^d Det blev iagttaget, at 1 ud af 181 samlede resultater var uoverensstemmende på tværs af mere end den umiddelbart tilstødende kategori.

Metodesammenligning

Undersøgelsen med metodesammenligning blev udført for at vurdere præstationen af Aptima CMV Quant assayet sammenlignet med en godkendt test. I alt 309 parrede CMV-positive kliniske prøver bestående af 165 prøver indsamlet i den prospektive undersøgelse og 144 frosne restprøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays blev inkluderet i metodesammenligningsanalyserne. Derudover blev i alt 105 konstruerede prøver fremstillet ved at tilsætte dyrket CMV virus i CMV-negativt EDTA-plasma, hvoraf 103 var i det fælles lineære område for begge assays. Konstruerede prøver blev analyseret separat.

Tabel 31 præsenterer Demings regressionsparameterestimer (log₁₀ IU/mL). Figur 15 til Figur 18 viser Demings regression for resultaterne af virusmængde (log₁₀ IU/mL) fra Aptima CMV Quant assay og den godkendte test.

Tabel 31: Demings regressionsparameter vurderer efter prøvetype og transplantatgruppe

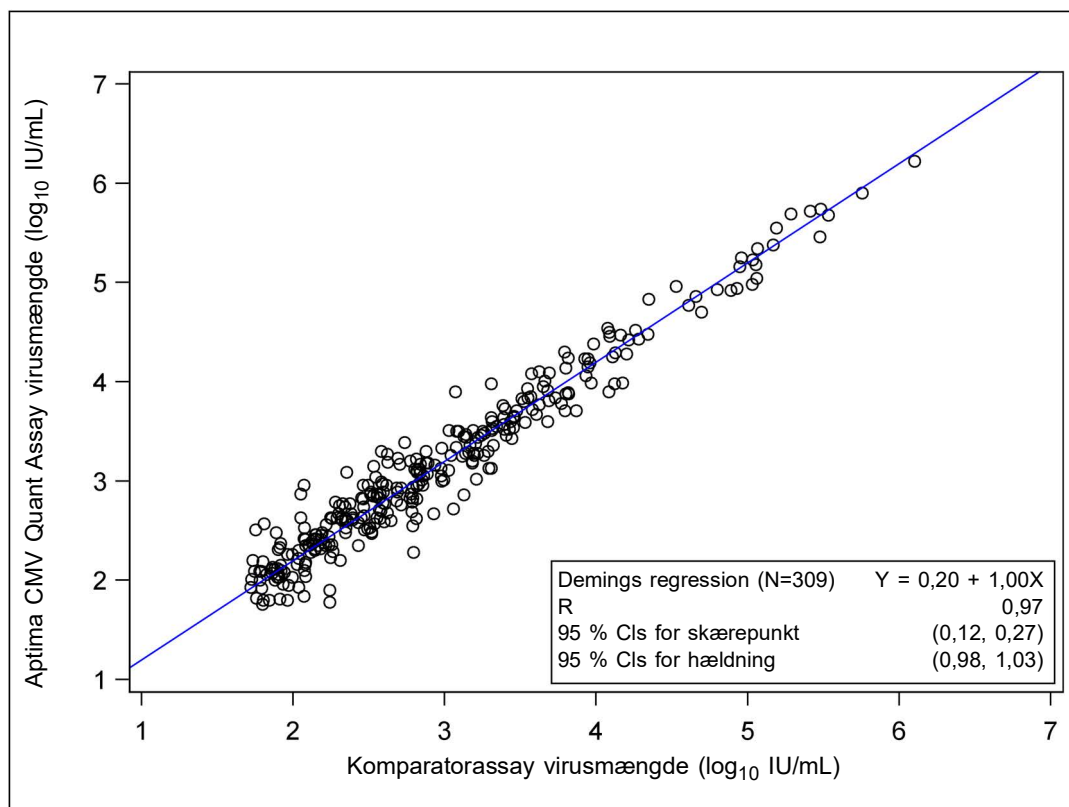
Prøvetype	Transplan- tatgruppe	Virusmæng- deenhed	Parameters (Parametre)	N ^a	Estimat	Jackknife-metoden ^b		Bootstrap-metoden ^c		r
						SE	95 % CI	SE	95 % CI	
Klinisk	Samlet	Log ₁₀ IU/mL	Skæringspunkt	309	0,20	0,038	(0,12; 0,27)	0,021	(0,15; 0,24)	0,97
			Hældning		1,00	0,011	(0,98; 1,03)	0,007	(0,99; 1,02)	
	SOTR'er	Log ₁₀ IU/mL	Skæringspunkt	227	0,17	0,043	(0,09; 0,26)	0,025	(0,12; 0,22)	0,98
			Hældning		1,01	0,012	(0,98; 1,03)	0,008	(0,99; 1,02)	
	HSCTR'er	Log ₁₀ IU/mL	Skæringspunkt	82	0,16	0,101	(-0,04; 0,36)	0,048	(0,07; 0,26)	0,95
			Hældning		1,03	0,037	(0,96; 1,11)	0,017	(1,00; 1,07)	
Konstruerede	n/a	Log ₁₀ IU/mL	Skæringspunkt	103	0,06	0,058	(-0,05; 0,18)	0,059	(-0,05; 0,18)	1,00
			Hældning		1,01	0,011	(0,98; 1,03)	0,012	(0,98; 1,03)	

CI=konfidensinterval, HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, r = korrelationskoefficient, SE = standardfejl, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

^a Antal af prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays.

^b Uafhængighed antages mellem alle prøver; jackknife-metode brugt til at estimere SE og CI.

^c Kliniske prøver blev justeret for korrelation inden for forsøgspersonen ved hjælp af bootstrap-prøvetagningsmetoden med 500 iterationer; denne metode blev også brugt til konstruerede prøver, men uden stratificering efter forsøgsperson.

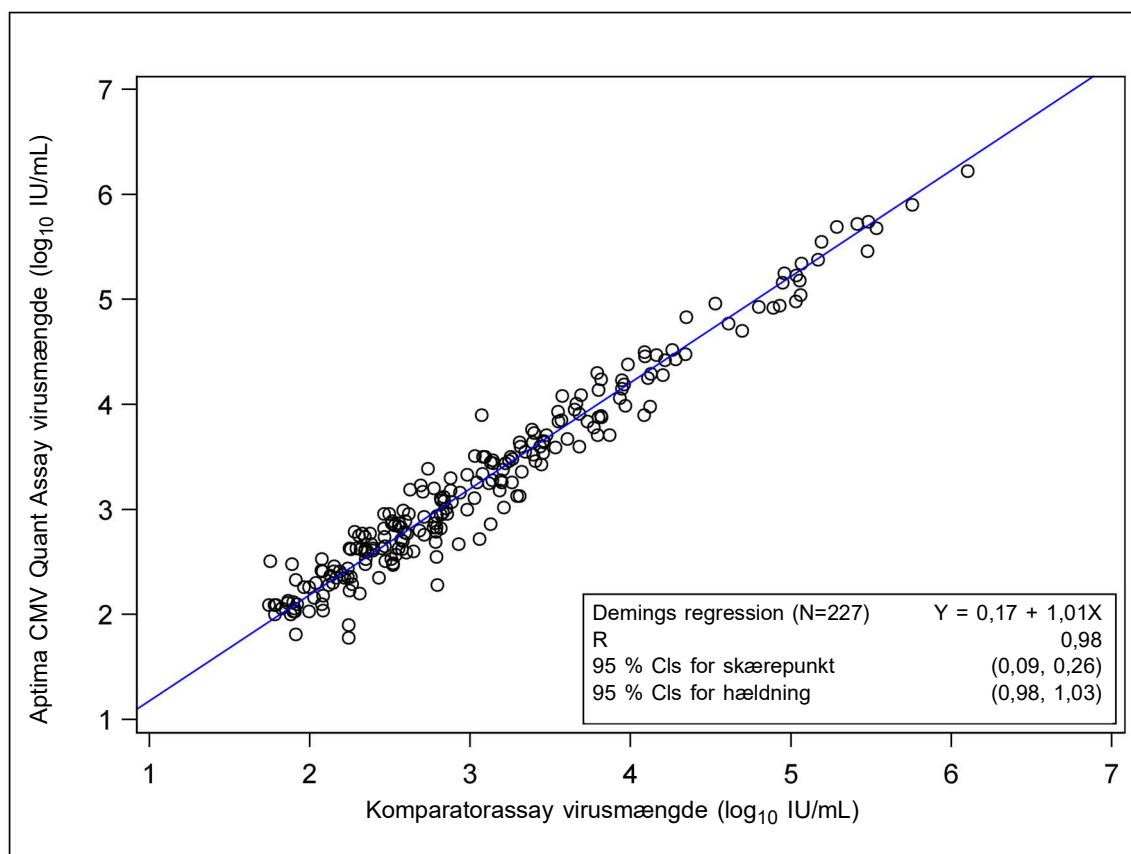


Figur 15. Demings lineære regressionsplot (kliniske prøver: SOTR'er og HSCTR'er kombineret)

CI=konfidensinterval, HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, R=korrelationskoefficient, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

Bemærkninger:

- Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.
- Demings regressionsmodel forudsætter uafhængighed mellem alle prøver; jackknife-metode, der bruges til at estimere CI'er.

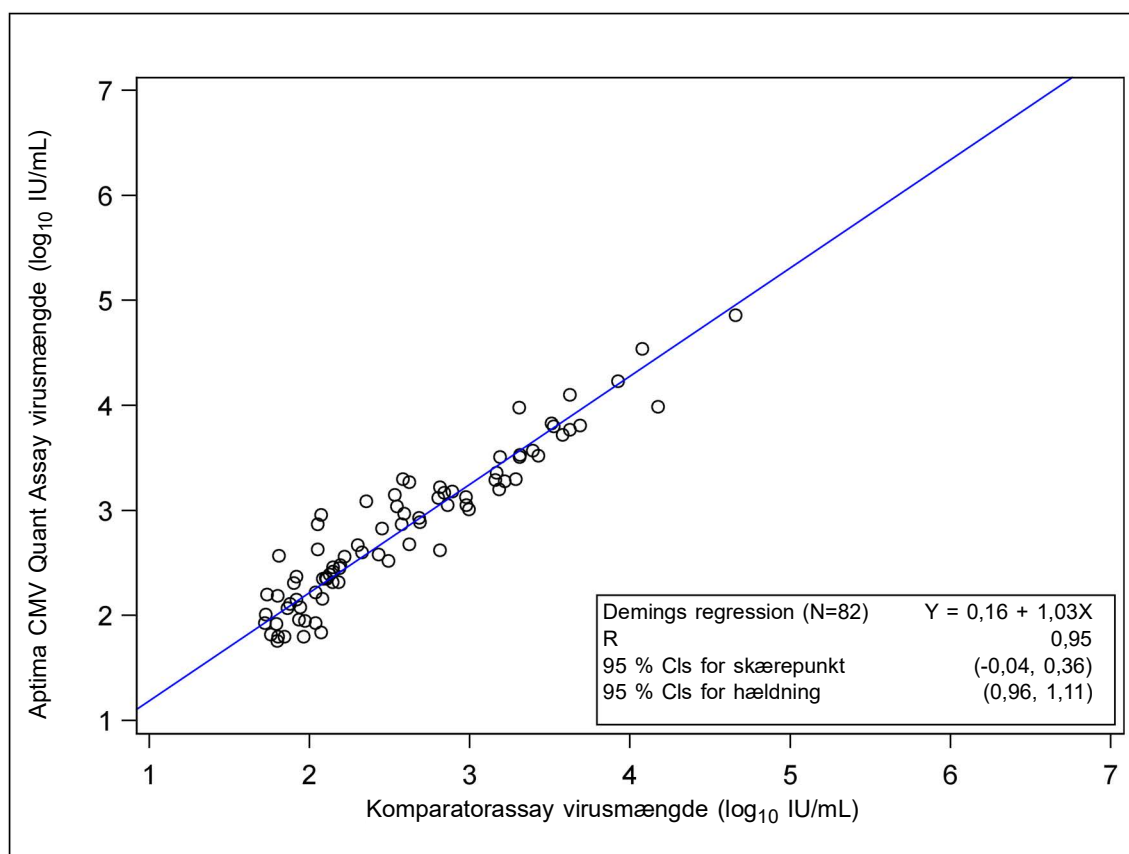


Figur 16. Demings lineære regressionsplot af virusmængder (kliniske prøver: kun SOTR'er)

CI=konfidensinterval, SOTRs=recipienter af transplantat af solidt organ, R=korrelationskoefficient

Bemærkninger:

- Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.
- Demings regressionsmodel forudsætter uafhængighed mellem alle prøver; jackknife-metode, der bruges til at estimere CI'er.

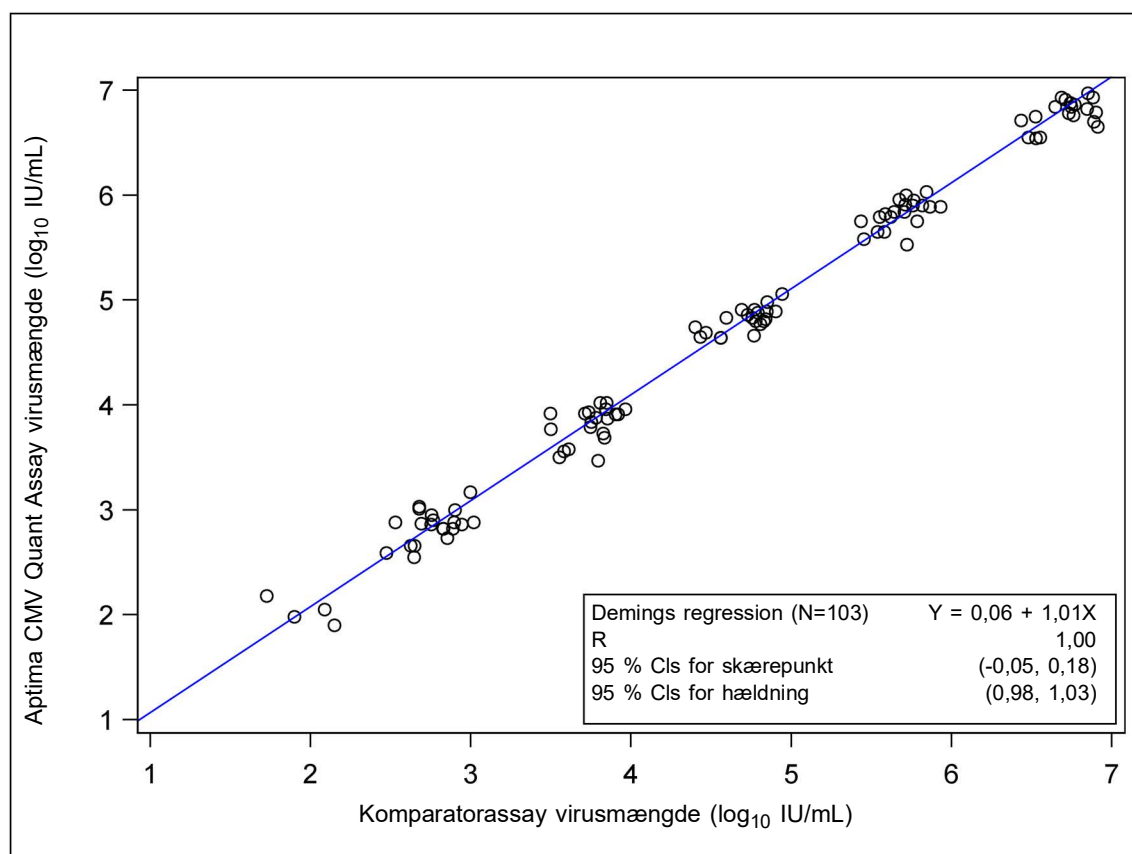


Figur 17. Demings lineære regressionsplot af virusmængder (kliniske prøver: Kun HSCTR'er)

CI=konfidensinterval, HSCTR'er=transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, R=korrelationskoefficient

Bemærkninger:

- Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.
- Demings regressionsmodel forudsætter uafhængighed mellem alle prøver; jackknife-metode, der bruges til at estimere CI'er.



Figur 18. Demings lineære regressionsplot af virusmængder (konstruerede prøver)

CI=konfidensinterval, R=korrelationskoefficient

Bemærkninger:

- Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.
- Demings regressionsmodel forudsætter uafhængighed mellem alle prøver; jackknife-metode, der bruges til at estimere CI'er.

Gennemsnitlig parret forskel

Tabel 32 nedenfor vises den gennemsnitlige parrede forskel mellem Aptima CMV Quant assay og den godkendte test med repræsentative beslutningsintervaller.

Tabel 32: Gennemsnit af forskelle i virusmængde med repræsentative beslutningsintervaller efter prøvetype og transplantatgruppe

Prøvetype	Transplantatgruppe	repræsentative beslutningsintervaller ^a (log ₁₀ IU/mL)	Antal i alt af parrede prøver ^b (N)	Gennemsnit lig (SE)	95 % CI	
Klinisk	Samlet	Alle	254	0,20 (0,012)	(0,17; 0,22)	
		≥2,1 til <3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18; 0,25)	
		≥3,0 til <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15; 0,23)	
		≥4,0 til <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09; 0,25)	
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10; 0,26)	
	SOTR'er	Alle	199	0,18 (0,014)	(0,16; 0,21)	
		≥2,1 til <3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14; 0,23)	
		≥3,0 til <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13; 0,23)	
		≥4,0 til <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09; 0,25)	
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10; 0,26)	
	HSCTR'er	Alle	55	0,26 (0,026)	(0,20; 0,31)	
		≥2,1 til <3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22; 0,36)	
		≥3,0 til <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13; 0,30)	
		≥4,0 til <5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65; 0,97)	
		≥5,0	0	NC (NC)	NC	
	Konstruerede	n/a	Alle	100	0,08 (0,014)	(0,05; 0,11)
			≥2,1 til <3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00; 0,15)
			≥3,0 til <4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03; 0,12)
			≥4,0 til <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04; 0,15)
			≥5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06; 0,14)

CI=konfidensinterval, HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, NC = kan ikke beregnes, SE = standardfejl, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

^a Parrede prøver fordeles i beslutningsintervaller baseret på det godkendte testresultat.

^b Antal af parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays.

Bias ved Vælg virusmængdeniveauer

Tabel 33 nedenfor viser bias mellem Aptima CMV Quant assay og den godkendte test ved fem vælg virusmængdeniveauer fra 2,1 log₁₀ IU/mL til 7,0 log₁₀ IU/mL med tilknyttede ikke-transformerede ækvivalenter.

Tabel 33: Bias/Systematisk forskel ved Vælg virusmængdeniveauer efter prøvetype og transplantatgruppe

Prøvetype	Transplantatgruppe	Vælg virusmængdeniveauer log ₁₀ IU/mL (IU/mL)	Systemisk forskel ^a log ₁₀ IU/mL (IU/mL)
Klinisk	Samlet	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)
	SOTR'er	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)
	HSCTR'er	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)
Konstruerede	udfyldes ikke	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'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ
^aDen systematiske forskel er forskellen mellem udfaldsvariablen (Y) og virusmængden (X) afledt ved hvert af de udvalgte virusmængdeniveauer ved hjælp af Demings regressionsestimater for hældning og skæringspunkt.

Tilladt forskel i alt (ATD)

Tabel 34 sammen med Figur 19 til Figur 22 nedenfor viser ATD-resultaterne ved at bruge de parrede forskelle mellem Aptima CMV Quant assay og den godkendte test versus deres gennemsnit ved repræsentative tærskler og procentdelen af parrede resultater i ATD-zonen.

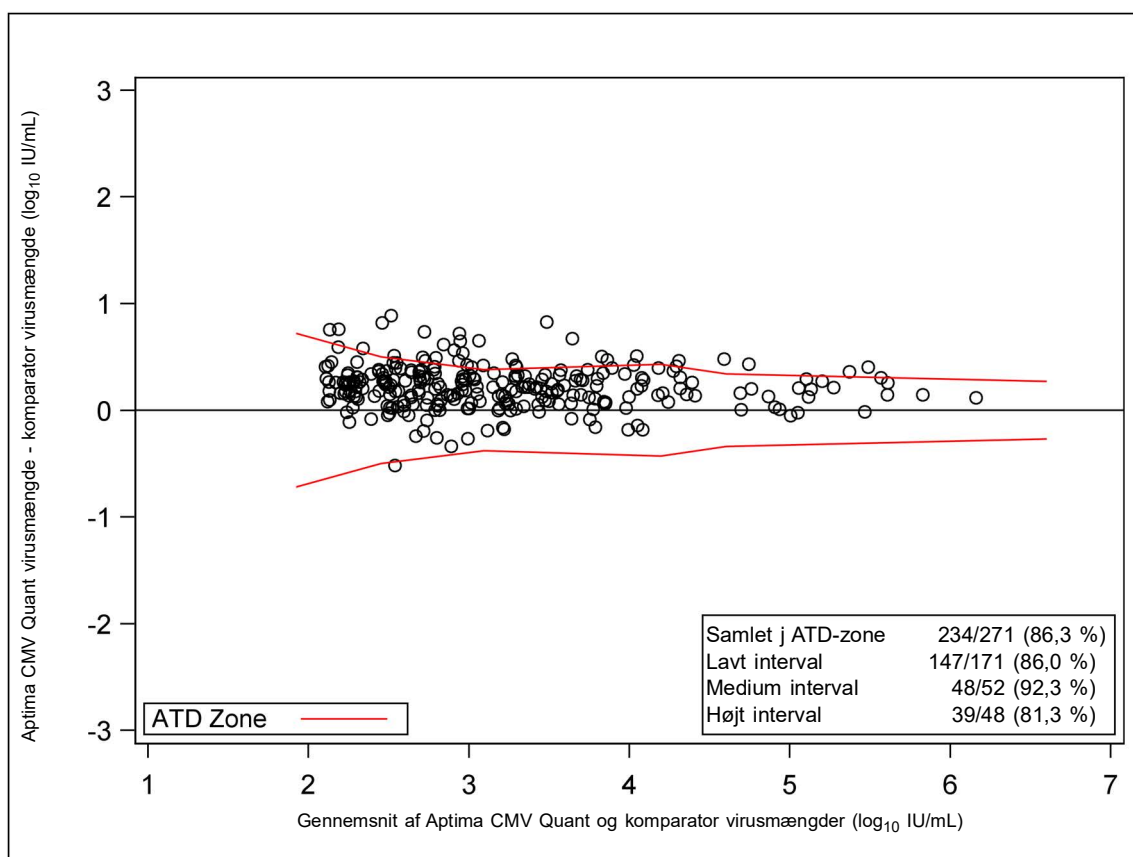
Tabel 34: Procentdel af parrede prøvforkelle inden for tilladt forskelszone i alt (ATD) ved forskellige intervaller af virusmængde efter prøvetype og transplantatgruppe

Prøvetype	Transplan- tatgruppe	Intervaller af virusmængde ^a (log ₁₀ IU/mL)	N ^b	Parrede prøvforkelle inden for ATD-zone				
				n (%)	Percentiler			
					2,5%	5%	95%	97,5%
Klinisk	Samlet	Alle	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Lav (≥2,1 til <3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Medium (≥3,3 til <3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Høj (≥3,9 til <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
SOTR'er		Alle	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Lav (≥2,1 til <3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Medium (≥3,3 til <3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Høj (≥3,9 til <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
HSCTR'er		Alle	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Lav (≥2,1 til <3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Medium (≥3,3 til <3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Høj (≥3,9 til <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Konstruerede	udfyldes ikke	Alle	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Lav (≥2,1 til <3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Medium (≥3,3 til <3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Høj (≥3,9 til <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

^a Parrede prøver fordeles i beslutningsintervaller baseret på det godkendte testresultat.

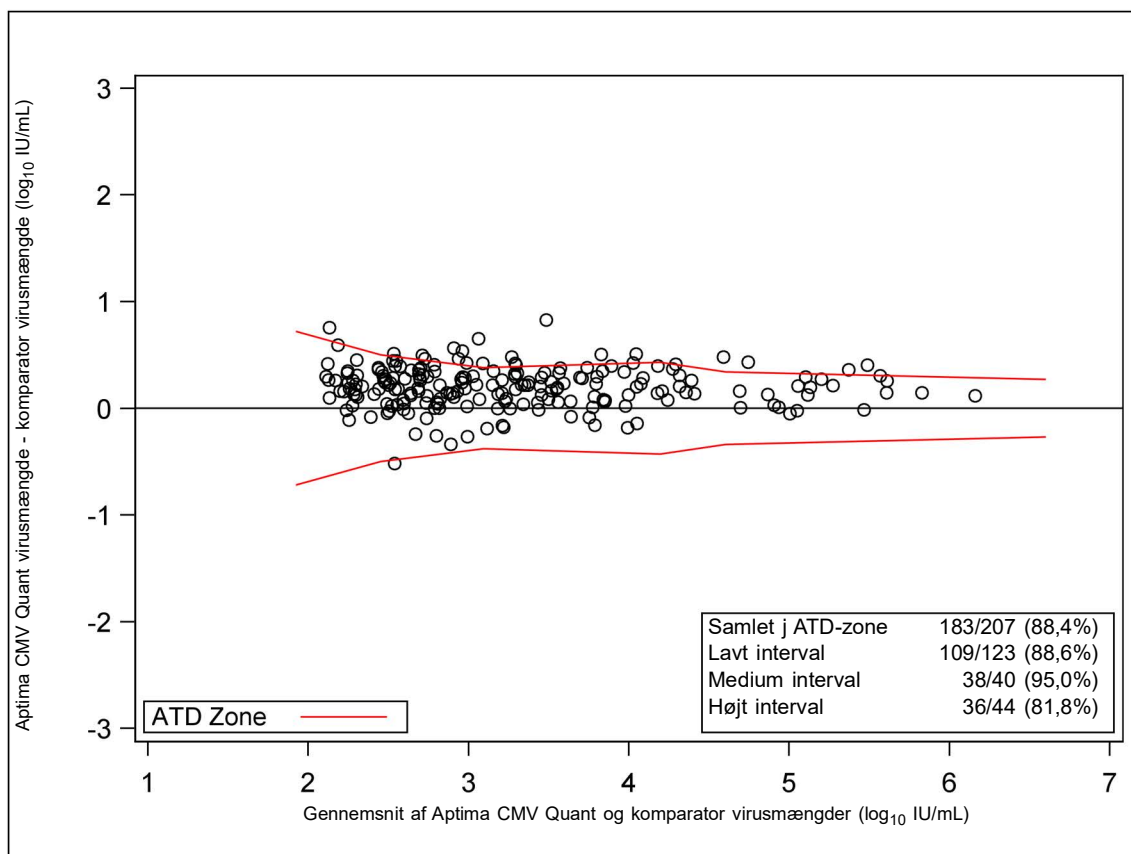
^b Antal af parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays.



Figur 19. Forskelsplot af parrede prøver og ATD-zone (kliniske prøver: SOTR'er og HSCTR'er kombineret)

ATD=tilladt forskel i alt, HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

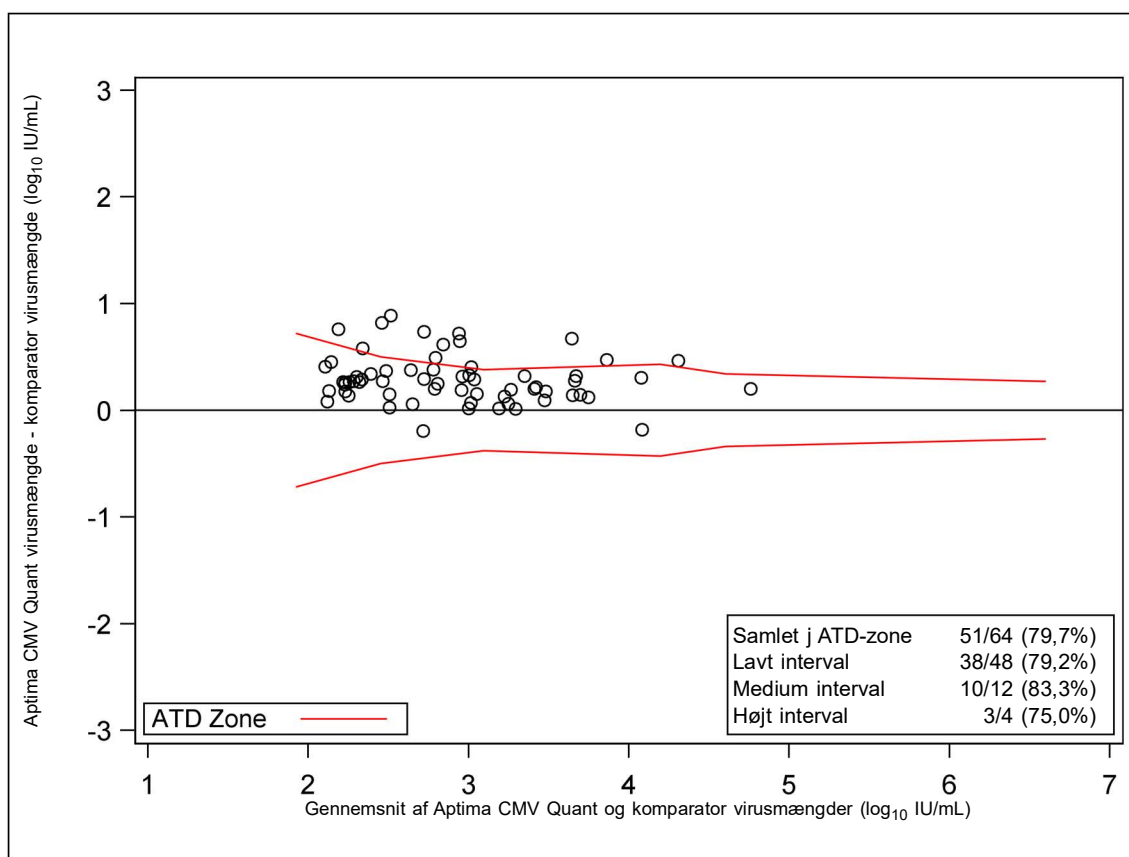
Bemærk: Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.



Figur 20. Forskelsplot af parrede prøver og ATD-zone (kliniske prøver: kun SOTR'er)

ATD=tilladt forskel i alt, SOTR'er = recipienter af transplantat af solidt organ

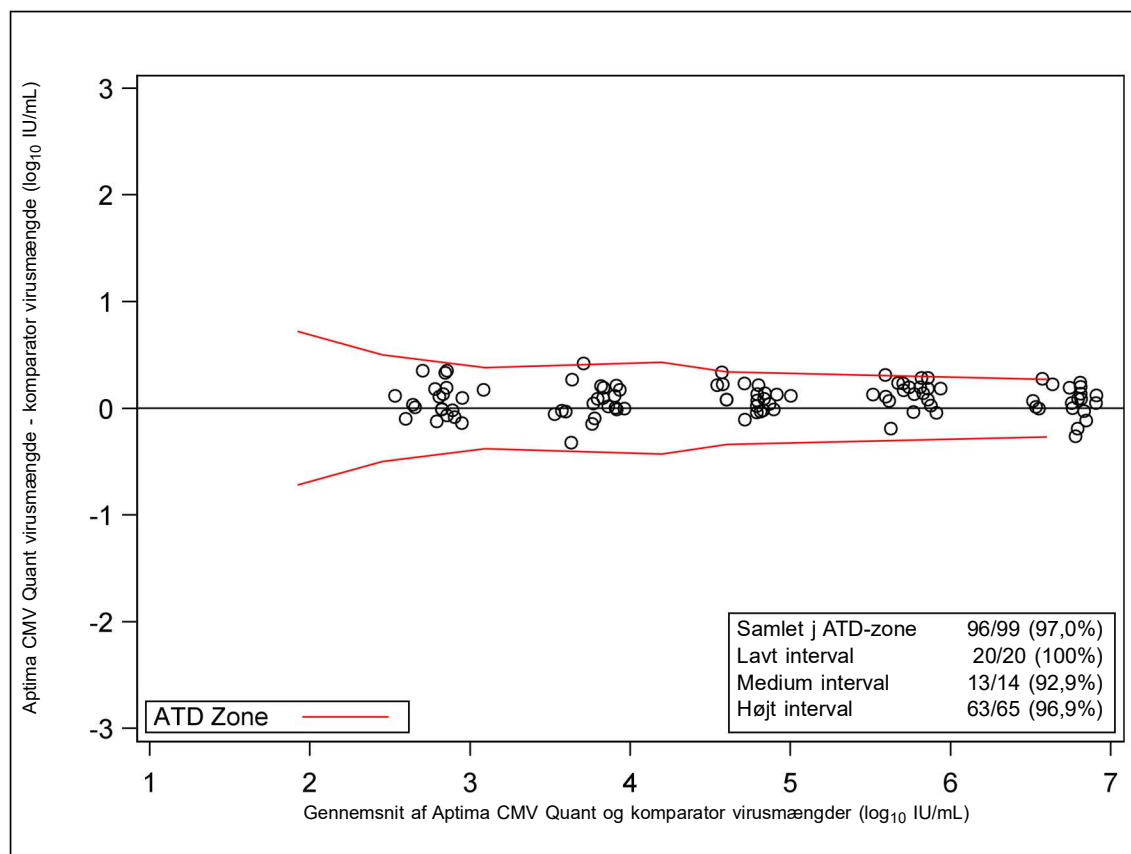
Bemærk: Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.



Figur 21. Forskelsplot af parrede prøver og ATD-zone (kliniske prøver: Kun HSCTR'er)

ATD=tilladt forskel i alt, HSCTR'er = transplantatrecipienter med hæmatopoietisk stamcelle

Bemærk: Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.



Figur 22. Forskelsplot af parrede prøver og ATD-zone (konstruerede prøver)

ATD=tilladt forskel i alt

Bemærk: Parrede prøver med resultater i det fælles lineære område for begge assays inkluderet.

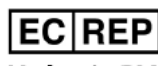
Bibliografi

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

Kontaktinformation og revisionshistorik



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

For e-mailadresse og telefonnummer til landespecifik Teknisk support og Kundeservice henvises til www.hologic.com/support.

Alvorlige hændelser, der opstår i forbindelse med udstyret i EU, bør rapporteres til producenten og den relevante myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten er etableret.

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

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

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

© 2021-2024 Hologic, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

AW-27747-1901 Rev. 002

2024-06

Revisionshistorik	Dato	Beskrivelse
AW-27747 Rev. 001	Juni 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Brugsanvisning AW-27747 Rev. 001 til Aptima CMV Quant assay er udarbejdet på basis af AW-25509 Rev. 003 for overholdelse af myndighedskrav til IVDR. • Oversigt over Sikkerhed og Præstation er tilføjet • Opdaterede generelle oplysninger • Opdaterede fareoplysninger. • Opdaterede afsnit af Analytisk præstation og tabel over Medfølgende materialer, • Tilføjet Klinisk Præstation: Klinisk overensstemmelse, Metodesammenligning, Gennemsnitlig parret forskel, Bias ved Vælg virusmængdeniveauer og Tilladt forskel i alt (ATD). • Opdateret kontaktinformation, herunder: Information om EU-repræsentant, CE-mærke, australsk repræsentant og teknisk support. • Diverse stil- og formateringsopdateringer.
AW-27747 Rev. 002	Juni 2024	<ul style="list-style-type: none"> • Revideret for at inkorporere arbejdsgangen for fortynding af plasmaprøve • Opdaterede afsnit angivet nedenfor: <ul style="list-style-type: none"> • Advarsler og forholdsregler • Indsamling og opbevaring af prøve • Nødvendige materialer, der skal anskaffes separat • Testprocedure til Panther System • Fortolkning af resultater • Analytisk specificitet