

## Aptima™ CMV Quant-assay

Til *in vitro* diagnostisk bruk

Kun for USA-eksport

<b>Generell informasjon</b> .....	<b>2</b>
Bruksområder .....	2
Oppsummering og forklaring av testen .....	2
Prosedyrens prinsipper .....	2
Advarsler og forholdsregler .....	3
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser .....	7
Prøvetaking og oppbevaring .....	8
Prøver ombord i Panther System .....	11
Prøvetransport .....	11
<b>Panther System</b> .....	<b>12</b>
Reagenser og materialer som følger med .....	12
Materialer som er nødvendig, men leveres separat .....	14
Valgfri materialer .....	15
Testeprosedyre for Panther System .....	15
Prosedyrenotater .....	21
<b>Kvalitetskontroll</b> .....	<b>22</b>
Assaykalibrering .....	22
Negative og positive kontroller .....	22
Intern kalibrator / intern kontroll .....	22
<b>Tolkning av resultater</b> .....	<b>23</b>
<b>Begrensninger</b> .....	<b>24</b>
<b>Ytelse</b> .....	<b>25</b>
Deteksjonsgrense ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard .....	25
Deteksjonsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter .....	26
Lineært område .....	28
Linearitet på tvers av CMV-genotyper .....	30
Nedre kvantifiseringsgrense med VHOs 1. internasjonale standard .....	32
Fastslåelse av den nedre kvantitasjonsgrensen til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter .....	34
Sporbarhet til VHOs 1. internasjonale standard .....	37
Nøyaktighet .....	39
Potensielt interfererende stoffer .....	40
Spesifisitet .....	41
Analytisk spesifisitet .....	42
Overføring .....	43
Metodekorrelasjon .....	43
Reproduserbarhet .....	45
<b>Litteraturliste</b> .....	<b>47</b>
<b>Kontaktinformasjon</b> .....	<b>48</b>

## Generell informasjon

### Bruksområder

Aptima CMV Quant-assayet er en *in vitro* amplifikasjonstest av nukleinsyre til kvantifisering av humant cytomegalovirus DNA i humant EDTA-plasma og fullblod på helautomatisk Panther System.

Aptima CMV Quant-assayet er tiltenkt brukt som hjelp ved diagnostisering og som en hjelp ved håndtering av fast-organ-transplantasjonspasienter og hematopoetiske stamcelle-transplantasjonspasienter.

Aptima CMV Quant assay er ikke beregnet brukt som screening-assay for nærvær av CMV i blod eller blodprodukter.

### Oppsummering og forklaring av testen

Humant CMV er et allestedsnærværende, lineært dobbelt-trådet DNA-virus med 240 kb som tilhører herpes-familien. Avhengig av populasjonen som studeres og den geografisk regionen, er CMV-seroprevalensområdene fra 45 til 100 % globalt.<sup>1,2</sup> Hos immunkompetente verter er CMV-infeksjon generelt asymptomatisk og selvbegrenset. Hos immunokompromitterte individer som transplantatmottakere og individer som er smittet med humant immunsvikt virus, er imidlertid CMV en viktig årsak til morbiditet og mortalitet.

På lignende måte som ved andre herpes-virus, kan CMV etter primær infeksjon, bli en livslang latent infeksjon som kan reaktivere sporadisk. Hos transplantasjonsmottakere, kan overføring av latent CMV i transplantasjonen eller reaktivering av latent CMV-infeksjon i verten føre til vidstrakt virusreplikasjon og disseminering av flere organer, som ofte er livstruende.<sup>3</sup>

Kvantitativ nukleinsyre-amplifikasjonstesting er den foretrukket metoden for å overvåke CMV-infeksjon eller sykdommer hos transplantasjonsmottakere fordi den er rask og sensitiv.<sup>4</sup> Nylige retningslinjer anbefaler minst ukentlig overvåking av CMV-virusbelastning for å rettlegge beslutninger om å starte anti-CMV-terapi og for å måle responsen til terapien.<sup>5,6,8</sup> Generelt korreleres høyere virusbelastningsverdier med økt fare for CMV-sykdom.<sup>4,9</sup> Derfor er kvantifisering av CMV DNA i forbindelse med klinisk presentasjon og andre laboriemarkører kritisk i håndtering av pasienter med CMV-infeksjon.

### Prosedyrens prinsipper

Aptima CMV Quant-assayet er en *in vitro* amplifikasjonstest til nukleinsyrer som bruker sanntids transkripsjonsformidlet amplifikasjonsteknologi (TMA) på Panther System\* for å kvantifisere CMV DNA, genotyper 1, 2, 3 og 4. Primerdesignet utpeker det høyt konservative UL56-genet for å sikre nøyaktig kvantifisering av CMV DNA. Assayet er standardisert iht. VHOs 1. internasjonale standard (NIBSC-kode: 09/162) for humant cytomegalovirus<sup>21</sup>.

Aptima CMV-assayet har tre hovedtrinn som skjer i et enkelt rør på Panther System: målinnfanging, målampifikasjon av TMA og deteksjon av amplifikasjonsprodukter (amplikon) av fluorescensmerkede prober (torches).

\*Inkluderer varianter av Panther System.

Under en målinnfanging blir virus-DNA isolert fra prøvene. Prøven blir behandlet med et vaskemiddel for å oppløse viruskappen, denaturere proteiner og frigjøre viralt genomisk DNA. Innfangingsoligonukleotider hybridiseres til konserverte regioner på CMV DNA i testrøret, hvis disse er tilstede i testprøven. Det hybridiserte målet blir deretter fanget inn på magnetiske mikropartikler som er atskilt fra prøven i magnetfeltet. Vasketrinnene fjerner overflødig komponenter fra reaksjonsrøret.

Målampifikasjonen foregår via TMA, som er en transkripsjonsformidlet amplifikasjonsmetode med nukleinsyre som bruker to enzymer, Moloney murint leukemivirus (MMLV) revers transkriptase og T7 RNA-polymerase. Den reverse transkriptasen brukes til å generere en DNA-kopi (som inneholder en promotersekvens for T7 RNA-polymerase) av målsekvensen. T7 RNA-polymerase produserer flere kopier av RNA-amplikon fra DNA-kopimalen.

Deteksjon oppnås med enkelttrådet nukleinsyreprobe, som er tilstede under amplifikasjonen av målet og som hybridiserer spesifikt til amplikonet i sanntid. Hver probe har en fluorofor og en quencher. Når proben ikke er hybridisert til amplikon, er quencheren nær fluoroforen og undertrykker fluorescensen. Når proben bindes til amplikon, har quencheren større avstand til fluoroforen der den vil sende ut et signal med en spesifikk bølgelengde når den eksiteres av lyskilden. Når flere prober hybridiseres til amplikon, genereres signaler med høyere fluorescens. Tiden det tar for fluorescenssignalet å nå en satt terskelverdi er proporsjonal med starten på CMV-konsentrasjonen. Hver reaksjon har en intern kalibrator/intern kontroll (IC) som kontrollerer variasjoner i prøvebehandling, amplifikasjon og deteksjon. Konsentrasjonen i en prøve bestemmes av programvaren til Panther System som bruker CMV- og IC-signaler for hver reaksjon og sammenligner dem med kalibreringsinformasjonen.

Assay-resultater omdannes fra kopier/ml til IU/ml ved bruk av en ligning med konverteringsfaktor i programvaren for Panther. Samme ligning med konverteringsfaktor brukes både ved fullblods- og plasmaprøver. En fortynningsfaktor på 4 brukes ved CMV-virusbelastningsprøver for fullblodsprøver når konverteringsfaktoren ved fullblod velges på Panther.

## Advarsler og forholdsregler

- A. Til *in vitro*-diagnostisk bruk.
- B. Til profesjonell bruk.
- C. For å redusere risikoen for ugyldige resultater må du lese hele pakkevedlegget og *Håndbok for Panther-/Panther Fusion System* nøye før du utfører dette assayet.

## Laboratorierelatert

- D. FORSIKTIG: Kontrollene for dette assayet inneholder humant plasma. Plasmaet er negativt for hepatitt B-overflateantigen (HBsAg), antistoffer for HCV, antistoffer for HIV-1 og HIV-2, og HIV antigen når den testes med de lisensierte prosedyrene fra US Food and Drug Administration. I tillegg er plasmaet ikke-reaktivt for CMV DNA, HBV DNA, HCV RNA og HIV-1 RNA når det testes med lisensierte nukleinsyretester med poolde prøver. Alt materiale fra humane blodkilder skal betraktes som infeksjøs og skal håndteres med globale forholdsregler.<sup>10,11,12</sup>
- E. Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruken av Aptima CMV Quant-assay og håndtering av potensielt infeksjøs materiale, skal utføre denne prosedyren. Hvis det forekommer søl, skal det desinfiseres umiddelbart i samsvar med egnede prosedyrer for stedet.
- F. Bruk bare medfølgende eller spesifiserte engangs laboratorievarer.

- G. Bruk rutinemessige laboratorieforholdsregler. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i anviste arbeidsområder. Bruk pulverfrie engangshansker, øynevern og laboratoriefrakker når du håndterer prøver og settreagenser. Vask hendene grundig når du har håndtert prøver og settreagenser.
- H. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal jevnlig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning.
- I. Avfallshåndtering av alle materialer som har vært i kontakt med prøver og reagenser, skal utføres i samsvar med lokale og statlige regler.<sup>10,11,12,13</sup> Alle arbeidsflater skal rengjøres og desinfiseres grundig.
- J. Kontrollene inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Ikke bruk metallrør til overføring av reagens. Hvis løsninger som inneholder natriumazidsammensetninger avhendes i et VVS-system, skal de fortynnes og skylles med store mengder rennende vann. Disse forholdsreglene anbefales for å unngå oppsamling av avleiringer i metallrør der det kan utvikles eksplosjonsfare.
- K. God standard praksis for molekylærlaboratorier inkluderer miljøovervåkning. Laboratiemiljøet overvåkes med følgende anbefalte prosedyre:
1. Bruk en pinne med bomullspiss og et Aptima-prøvealikkvotrør (SAT).
  2. Merk hver SAT riktig.
  3. Fyll hver SAT med 1 ml Aptima-prøvefortynningsmiddel.
  4. Overflateprøver samles med en lett fuktet vattpinne med nukleasefritt deionisert vann.
  5. Før vattpinnen over overflaten med en opp-ned-bevegelse. Roter vattpinnen omtrent en halv omdreining mens du fører den over stedet.
  6. Sett vattpinnen øyeblikkelig i røret, og virvle vattpinnen forsiktig i prøvefortynningsmidlet for å trekke ut potensielt oppfanget materiale. Trykk vattpinnen på siden av transportrøret for å trekke ut mest mulig væske. Kast vattpinnen, og sett hette på røret.
  7. Gjenta trinnene for de andre vattpinneprøvene.
  8. Test vattpinnen med molekylær assay.





### Prøverelatert

- L. Prøvene kan være infeksjøs. Bruk globale forholdsregler<sup>10,11,12</sup> når du utfører dette assayet. Korrekt håndterings- og avhendingsmetoder skal etableres i henhold til lokale forskrifter.<sup>11</sup> Bare personell med tilstrekkelig opplæring i bruk av Aptima CMV Quant-assay og opplæring i håndtering av infeksjøs materialer skal utføre denne prosedyren.
- M. Sørg for tilfredsstillende oppbevaringsforhold under prøveforsendelsen for å sikre prøvens kvalitet. Prøvestabiliteten under prøveforsendelsene, annet enn anbefalt, er ikke evaluert.
- N. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Vær spesielt nøye for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler når prøvene løsnes eller hettene tas av. Prøver kan inneholde ekstremt høy konsentrasjon av organismer. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukte materialer uten å føre dem over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.

**Assayrelatert**

- O. Ikke bruk reagenssettet, kalibratoren eller kontrollene etter utløpsdatoen.
- P. Unngå å utveksle, blande eller kombinere assayreagenser fra sett med ulike hovedpartinumre. Assayvæsker kan være fra ulike partinumre. Kontroller og kalibratoren kan være fra ulike partinumre.
- Q. Unngå mikrobiell og nukleasekontaminasjon av reagenser.
- R. Sett på hetter, og oppbevar assayreagenser ved angitte temperaturer. Assayets ytelse kan påvirkes av bruk av feil oppbevarte assayreagenser. Se *Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser og Testeprosedyre for Panther System* for å finne mer informasjon.
- S. Ikke kombiner assayreagenser eller væsker uten spesifikk instruksjon. Ikke fyll reagenser eller væsker helt opp. Panther System angir reagensnivåene.
- T. Unngå at TER kommer i kontakt med hud, øyne og slimhinner. Vask med vann hvis du kommer i kontakt med denne reagensen. Dersom det skjer søl med denne reagensen, skal den fortynnes med vann og stedets aktuelle prosedyrer følges.
- U. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.

**Merk:** Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For informasjon om kommunikasjon av farer som gjelder spesifikt for din region, se det regionsspesifikke Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com).

EU fareinformasjon	
	<p><b>CMV-settkontroller</b>  <i>Humant plasma 95–100 %</i>  <i>Natriumazid &lt; 1 %</i></p>
	<p><b>ADVARSEL</b>            H312 - Skadelig ved hudkontakt            H412 - Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann            EUH032 - Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass            P273 - Unngå utslipp til miljøet            P280 - Benytt vernebriller/ansiktsbeskyttelse</p>
	<p><b>Målforbedringsreagens (TER)</b>  <i>Litiumhydroksidmonohydrat 5–10 %</i></p>
	<p><b>FARE</b>            H302 - Farlig ved svelging            H314 - Gir alvorlige etseskader på hud og øyne            P260 - Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/spray            P280 - Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm            P303 + P361 + P353 - VED HUDKONTAKT (eller hår): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann/dusj            P305 + P351 + P338 - VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett å skylle            P310 - Kontakt umiddelbart GIFTINFORMASJONSSENTRALEN eller lege</p>

**Fareinformasjon for Australia**



**CMV-settkontroller**

*Humant plasma 95–100 %  
Natriumazid < 1%*



**ADVARSEL**

H312 - Skadelig ved hudkontakt  
H412 - Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann  
EUH032 - Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass  
P273 - Unngå utslipp til miljøet  
P280 - Benytt vernebriller/ansiktsskjerm



**Målforbedringsreagens (TER)**

*Litiumhydroksidmonohydrat 5–10 %*



**FARE**

H302 - Farlig ved svelging  
H314 - Gir alvorlige etseskader på hud og øyne  
P260 - Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/spray  
P280 - Bruk vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm  
P303 + P361 + P353 - VED HUDKONTAKT (eller hår): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann/dusj  
P305 + P351 + P338 - VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett å skylle  
P310 - Kontakt umiddelbart GIFTINFORMASJONSSENTRALEN eller lege

**Settkalibrator**

*HEPES 15–20 %  
Litiumhydroksidmonohydrat 1-5%  
Ravsyre 1–5 %*

H312 - Skadelig ved hudkontakt  
H412 - Skadelig med langtidsvirkning for liv i vann  
EUH032 - Ved kontakt med syrer utvikles meget giftig gass  
P273 - Unngå utslipp til miljøet  
P280 - Benytt vernebriller/ansiktsskjerm

## Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

- A. Følgende tabell viser oppbevaringsforholdene og stabiliteten for reagenser, kontroller og kalibrator.

Reagens	Uåpnet oppbevaring	Åpent sett (rekonstituert)	
		Oppbevaring	Stabilitet
qCMV-amplifikasjonsreagens	2 °C til 8 °C		
qCMV-amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qCMV-enzymreagens	2 °C til 8 °C		
qCMV-enzymrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qCMV-promoterreagens	2 °C til 8 °C		
qCMV-promoterrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qCMV-målinnfangingsreagens	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qCMV PCAL (positiv kalibrator)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hetteglass til engangsbruk Bruk innen 24 timer
qCMV NC CONTROL – (negativ kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hetteglass til engangsbruk Bruk innen 24 timer
qCMV LPC CONTROL + (lav positiv kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hetteglass til engangsbruk Bruk innen 24 timer
qCMV HPC CONTROL + (høy positiv kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Hetteglass til engangsbruk Bruk innen 24 timer
qCMV-målforbedringsreagens	15 °C til 30 °C	15 °C til 30 °C	30 dager <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Når reagenser fjernes fra Panther System, skal de umiddelbart returneres til sine riktige oppbevaringstemperaturer.

- B. Kast eventuelle ubrukte, rekonstituerte reagenser, målinnfangingsreagens (TCR) og målforbedringsreagens (TER) etter 30 dager eller etter hovedpartiets utløpsdato, det som kommer først gjelder.
- C. Reagenser lagret på Panther System har 96 timers stabilitet ombord. Reagenser kan lastes på Panther System inntil 8 ganger. Panther System logges hver gang reagensene lastes inn.
- D. Etter å ha tint opp kalibratoren, skal væsken være klar, dvs. ingen grums eller bunnfall. Kontroller at felling er oppløst. Ikke bruk kalibratoren hvis det finnes gelering, felling eller uklarhet.
- E. Den lyofiliserte promotorreagensen og rekonstituert promoterreagens er lysfølsomme. Beskytt disse reagensene fra lys under oppbevaring og ved preparering.
- F. qCMV-målforbedringsreagensen må ha en temperatur på 15 °C til 30 °C før den brukes.

## Prøvetaking og oppbevaring

**Merk:** Håndter alle prøver som om de inneholder potensielt infeksjose stoffer. Bruk globale forholdsregler.

**Merk:** Påse at du unngår krysskontaminasjon under prøvehåndteringstrinnene. Brukt materiale skal for eksempel avhendes uten å føre dem over åpne rør.

**Merk:** Kun sekundærrør i plast anbefales for prøveoppbevaring.

Fullblodsprøver som tappes i følgende glass- eller plastrør, kan brukes for å preparere plasma:

- Rør som inneholder EDTA-antikoagulerer
- Plasmaprepareringsrør (PPT-er)

### A. Prøvetaking

1. Plasma: Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og må sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Separer plasmaet fra de pelleterte røde blodcellene i henhold til produsentens instruksjoner for røret som brukes. Plasma kan testes på Panther System i et primærrør eller overføres til et sekundærrør som f.eks. Aptima-prøvealiquotrør (SAT). For å skaffe 500 µl prøvevolumet, er minimumsvolumet med plasma til de primære oppsamlingsrørene inntil 1200 µl. Ved sekundære rør, er minimumsvolumet 700 µl for å skaffe 500 µl med prøvevolum. Følgende tabell angir krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør.

Rør (størrelse og type)	Dødvolum på Panther
Aptima-prøvealiquotrør (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 plasma ikke testes umiddelbart, kan det oppbevares i henhold til spesifikasjonene nedenfor. Hvis det overføres til et sekundærrør, kan plasma fryses ved -20 °C eller -70 °C. Ikke foreta mer enn 3 fryse/tine-sykluser. Ikke frys plasmaprøver i EDTA primære oppsamlingsrør.

2. Fullblod må behandles ved bruk av forhåndsfylte fullblods fortynningsrør før det testes på Panther System. Ikke flere enn 3 fryse-tine-sykluser på ubehandlede fullblodsprøver.

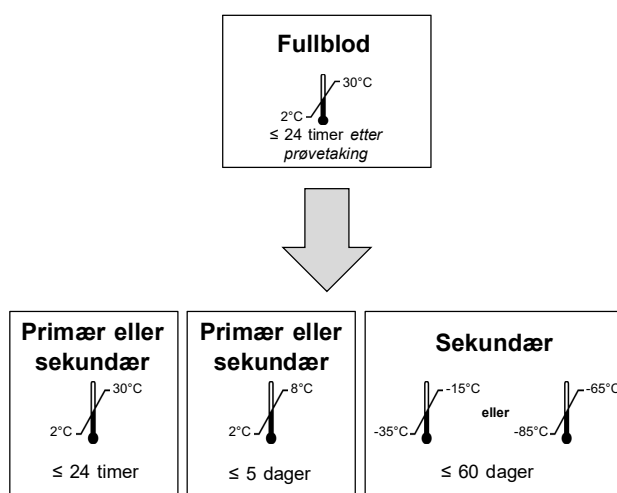


## B. Prøveoppbevaringsforhold

## 1. EDTA-plasmaprøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Plasma kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 30 °C i inntil 24 timer,
- I det primære oppsamlingsrøret eller sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I sekundærrøret ved -20 °C til -70 °C i inntil 60 dager.

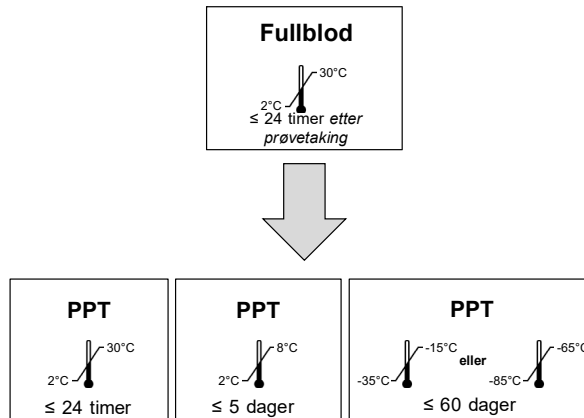


**Figur 1. Oppbevaringsforholdene til EDTA-rørene**

2. PPT-prøver

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og skal sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Plasma kan deretter oppbevares under ett av følgende forhold:

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

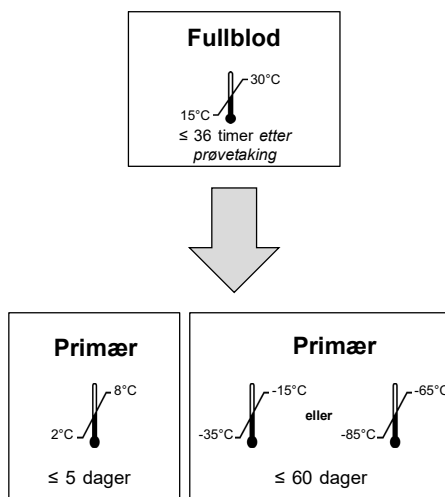


Figur 2. Oppbevaringsforhold for PPT-er.

3. Fullblodsprøver

Fullblod kan oppbevares ved 15 °C til 30 °C og må sentrifugeres innen 36 timer etter prøvetaking. Fullblodsprøver kan oppbevares under følgende forhold:

- I det primære prøvetakingsrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I det sekundære prøvetakingsrøret ved -20 °C eller -70 °C i inntil 60 dager.



Figur 3. Oppbevaringsforhold for fullblodsprøver

**Prøver ombord i Panther System**

Plasma- og behandlede fullblodsprøver kan forbli på Panther System uten hette i inntil 8 timer. Prøvene kan fjernes fra Panther System og testes så lenge den totale tiden ombord ikke overstiger 8 timer før Panther System pipetterer prøven.

**Prøvetransport**

Oppretthold prøveoppbevaringsforholdene som beskrevet i *Prøvetaking og oppbevaring*.

**Merk:** *Prøvene skal sendes i henhold til gjeldende statlige, internasjonale og regionale transportregler.*

## Panther System

Reagenser for Aptima CMV Quant-assayet er oppført nedenfor for Panther System. Reagensidentifikasjonssymbolene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

### Reagenser og materialer som følger med

**Aptima CMV Quant-assaysett**, 100 tester (kat. nr. PRD-05074)  
(1 assayeske, 1 kalibratorsett, 1 kontrollsett og 1 eske med målforbedringsreagens)

**Aptima CMV Quant-assayeske**  
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
<b>A</b>	<b>qCMV-amplifikasjonsreagens</b> <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>	1 hetteglass
<b>E</b>	<b>qCMV-enzymreagens</b> <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES bufret løsning.</i>	1 hetteglass
<b>PRO</b>	<b>qCMV-promoterreagens</b> <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>	1 hetteglass
<b>AR</b>	<b>qCMV-amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning</b> <i>Vannholdig løsning som inneholder glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 7,2 ml
<b>ER</b>	<b>qCMV-enzymrekonstitusjonsløsning</b> <i>HEPES bufret løsning som inneholder surfaktant og glyserol.</i>	1 x 5,8 ml
<b>PROR</b>	<b>qCMV-promoterrekonstitusjonsløsning</b> <i>Vannholdig løsning som inneholder glycerol og konserveringsmidler.</i>	1 x 4,5 ml
<b>TCR</b>	<b>qCMV-målinnfangingsreagens</b> <i>Nukleinsyrer i en bufret saltløsning som inneholder fastfasede ikke-infeksiøse nukleinsyrer og intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	<b>Rekonstitusjonskrager</b>	3
	<b>Strekcodeark for hovedparti</b>	1 ark

**Aptima CMV Quant-kalibratorsett** (kat. No. PRD-05075)  
(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
<b>PCAL</b>	<b>qCMV positiv kalibrator</b> <i>Plasmid DNA i bufret løsning.</i>	5 x 2,5 ml
	<b>Etikett med kalibratorstrekcode</b>	—

**Aptima CMV Quant-kalibratorsett** (kat. Nr. PRD-05076)  
(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
NC	<b>qCMV negativ kontroll</b> <i>CMV negativ defibrert humant plasma inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	<b>qCMV lav positiv kontroll</b> <i>Inaktivert CMV i defibrert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	<b>qCMV høy positiv kontroll</b> <i>Inaktivert CMV i defibrert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 0,8 ml
	<b>Kontrollstrekkeetikett</b>	—

**Eske med Aptima CMV Quant-målforbedringsreagens**  
(oppbevares ved 15 °C til 30 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
TER	<b>qCMV-målforbedringsreagens</b> <i>En konsentrert løsning med litiumhydroksid.</i>	1 x 46,0 ml

**Materialer som er nødvendig, men leveres separat**

**Merk:** Materialer tilgjengelig fra Hologic har oppførte katalognumre, med mindre annet er angitt.

Materialer	Kat. nr.
Panther <sup>®</sup> System	—
Panther-kjøringssett for sanntidsassayer (bare for sanntidsassayer)	PRD-03455 (5000 tester)
<i>Aptima™-assayvæskesett (også kalt globalt væskesett) inneholder Aptima-vaskeoppløsning, Aptima-buffer for deaktiveringsvæske og Aptima-oljereagens</i>	303014 (1000 tester)
<i>Multirørenheter (MTU-er)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit (Panther avfallspose-sett)</i>	902731
<i>Panther avfallsbeholder, deksel</i>	504405
Eller Panther System-kjøringssett <i>(når TMA-assayer som ikke kjøres i sanntid, kjøres parallelt med TMA-assayer i sanntid) inneholder multirørenheter, avfallsposer, avfallsbeholderdeksler, autosøk og assayvæsker</i>	303096 (5000 tester)
Fullblods-fortynningsrør (kun til behandling av fullblodsprøver)	PRD-06783 (100 forhåndsfylte rør per pose)
Spisser, 1000 µL filtrerte, ledende, væskefølsomme og til engangsbruk	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04128 MME-04134 (30180117 Tecan)
<i>Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle regionene. Kontakt representanten din for regionspesifikk informasjon</i>	
Blekemiddel, 5 % til 8.25% (0,7 M til 1,16 M) natriumhypoklorittløsning	—
Pulverfrie engangshansker	—
Ekstra ikke-penetrerbare hetter	103036A
Ekstra Hologic faste hetter (rørhetter til engangsbruk ved fullblodsbehandling)	PRD-06720
Ekstra reagenshetter <i>Amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser Rekonstitusjonsflasker</i>	
	<i>CL0041 (100 hetter)</i>
<i>TCR-flaske</i>	<i>CL0040 (100 hetter)</i>
<i>TER-flaske</i>	<i>903302 (100 hetter)</i>
Plastbelagte overtrekk for laboratoriebenker	—
Lofrie kluter	—
Pipette	—
Spisser	—
Primære oppsamlingsrør (EDTA og PPT) valgene:	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Sentrifuge	—
Virvelblander	—

## Valgfri materialer

Materiale	Kat. nr.
Alternativer for sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima</i> alikvot prøverør (SAT-er (Specimen Aliquot Tubes)) (100 per pakke)	503762
Transportrørhette (100 pakke) hette for SAT	504415
Aptima-prøvefortynningsmiddel	PRD-03003
Aptima-prøvefortynningssett inneholder <i>Aptima</i> -prøvefortynningsmiddel, 100 SAT-er og 100 hetter	PRD-03478
Overføringspipetter	—
Bomullspinner	—
Rørvugge	—

## Testprosedyre for Panther System

**Merk:** Se den aktuelle Operatørhåndbok for Panther-/Panther Fusion System for mer informasjon om prosedyren.

## A. Klargjøre arbeidsområdet

1. Rengjør arbeidsflatene der reagenser skal prepareres. Tørk av arbeidsflatene med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen være i kontakt med overflatene i minst 1 minutt, og følg deretter opp med deionisert (DI) vann. Ikke la natriumhypoklorittløsningen tørke inn. Dekk til benkeflatene med rene, plastbelagte, absorberende laboratoriebenktrekk.
2. Rengjør separate arbeidsflatene der reagenser skal prepareres. Bruk prosedyren beskrevet ovenfor (trinn A.1).
3. Rengjør eventuelle pipetter. Bruk rengjøringsprosedyrene beskrevet ovenfor (trinn A.1).

## B. Kalibrator- og kontrollklargjøring

La kalibratoren og kontrollene nå 15 °C til 30 °C før behandling slik:

1. Fjern kalibratoren og kontrollene fra oppbevaringen (-15 °C til -35 °C), og sett dem i 15 °C til 30 °C. Under tiningen skal hvert rør snus for å oppnå grundig blanding. Sørg for at rørrinnholdet er fullstendig tint før bruk.

**Alternativ.** Kalibrator- og kontrollrør kan plasseres på en rørvugge for å blandes grundig. Sørg for at rørrinnholdet er fullstendig tint før bruk.

**Merk:** Unngå å danne for mye skum når du snur kalibrator og kontroller. Skum vil ødelegge Panther Systems nivågjenkjenningssystem.

2. Når rørrinnholdet er tint, tørkes utsiden på røret med en ren, tørr engangsklut.
3. For å hindre kontaminasjon skal rørene ikke åpnes på dette tidspunkt.

## C. Reagensrekonstitusjon/preparering av et nytt sett

**Merk:** Rekonstitusjon av reagenser skal utføres før du starter arbeidet på Panther System.

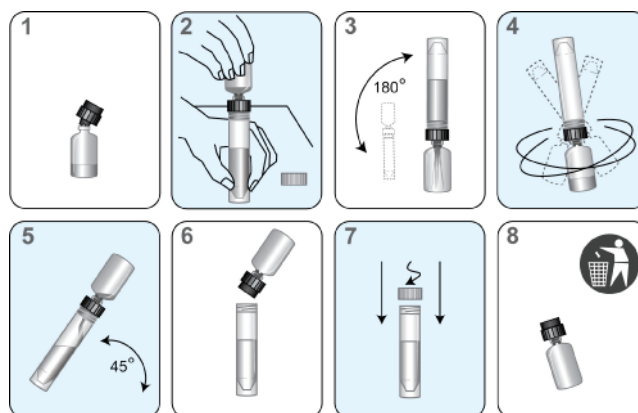
1. Gjør følgende for å preparere målinnfangingsreagens (TCR):
  - a. Fjern TCR fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C). Kontroller partinummeret på TCR-flasken for å påse at det samsvarer med partinummeret på strekkodearket for hovedpartiet.
  - b. Rist TCR-flasken straks kraftig 10 ganger. La TCR-flasken forbli ved 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 45 minutter. I denne perioden skal TCR-flasken virvles og snus minst hvert 10. minutt.

**Alternativ.** TCR-flasken kan prepareres på en rørvugge ved å følge disse instruksjonene: Fjern TCR fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C), og rist umiddelbart grundig 10 ganger. Sett TCR-flasken på en rørvugge, og la TCR stå i 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 45 minutter.
  - c. Sørg for at alt bunnfall er i løsningen og at de magnetiske partiklene er suspendert før bruk.
2. Gjør følgende for å rekonstituere amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser:
  - a. Fjern de lyofiliserte reagensene og tilsvarende rekonstitusjonsløsninger fra oppbevaring (2 °C til 8 °C). Koble hver rekonstitusjonsløsning med sin lyofilisert reagens.
  - b. Sørg for at rekonstitusjonsløsningen og den lyofiliserte reagensen har samsvarende etikettfarger. Kontroller partinumrene på strekkodearket for hovedpartiet for å sikre at riktige reagenser blir sammenkoblet.
    - i. Åpne det lyofiliserte reagenshetteglasset ved å fjerne metallforseglingen og gummistopperen.
    - ii. Sett enden med hakk inn i rekonstitusjonskragen (svart) på hetteglasset (Figur 4, trinn 1).
    - iii. Åpne den samsvarende rekonstitusjonsflasken og legg hetten på en ren, tildekket arbeidsflate.
    - iv. Sett flasken med rekonstitusjonsløsning på en stabil flate (for eksempel en benk). Deretter snus det lyofiliserte reagenshetteglasset over flasken med rekonstitusjonsløsning, og sett kragen fast på flasken med rekonstitusjonsløsning (Figur 4, trinn 2).
    - v. Snu de monterte flaskene langsomt (hetteglass festet til flasken med løsning) for å la løsningen tømmes inn i hetteglasset (Figur 4, trinn 3).
    - vi. Ta opp de monterte flaskene, og virvle de monterte flaskene i minst 10 sekunder (Figur 4, trinn 4).
    - vii. Vent i minst 30 minutter for å la den lyofiliserte reagensen blandes med løsningen.
    - viii. Når den lyofiliserte reagensen er blandet med løsningen, virvles de monterte flaskene i minst 10 sekunder og deretter vippes løsningen med hetteglasset frem og tilbake for å blande grundig.
  - c. Snu de monterte flaskene langsomt på nytt for å la all løsningen tømmes tilbake inn i rekonstitusjonsløsningsflasken (Figur 4, trinn 5).
  - d. Fjern rekonstitusjonskragen og hetteglasset forsiktig (Figur 4, trinn 6).
  - e. Sett hetten på flasken. Noter initialene til operatøren og rekonstitusjonsdatoen på etiketten (Figur 4, trinn 7).



f. Kast rekonstitusjonskragen og hetteglasset (figur 5, trinn 8).

**Advarsel:** Unngå å lage mye skum når reagensene rekonstitueres. Skum vil ødelegge Panther Systems nivågjenkjenningssystem.



**Figur 4. Reagensrekonstitusjonsprosessen**

3. Hent qCMV-målforbedringsreagensen fra oppbevaring (15 °C til 30 °C). Noter ned initialene til operatøren og åpningsdatoen på etiketten. Kontroller partinummeret på TER-flasken for å påse at det samsvarer med partinummeret på strekkodearket for hovedpartiet.

#### D. Preparere reagens for tidligere preparerte reagenser

1. Ta ut de tidligere preparerte reagensene fra oppbevaringen (2 °C til 8 °C). Tidligere preparert amplifikasjon, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før assayet startes.
2. Hent TER fra oppbevaring (15 °C til 30 °C).
3. For tidligere preparert TCR, utfør trinn C.1 ovenfor før du laster inn på systemet.
4. Virvle og snu amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser for å blande grundig før de lastes på systemet. Unngå å lage mye skum når reagensene snus.

**Alternativ.** De tidligere preparerte reagensene kan prepareres på en rørvugge ved å følge disse instruksjonene: Fjern reagensene fra oppbevaring (2 °C til 8 °C). Sett reagensene på en rørvugge, og la stå i 15 °C til 30 °C for å varmes i minst 30 minutter.

5. Ikke fyll reagenser helt opp. Panther System vil gjenkjenne og avvise flasker som har blitt overfylt.

#### E. Plasmaprøvehåndtering

1. Sørg for at behandlede prøver i primærrør eller uførtynede prøver i sekundærrør oppbevares korrekt i henhold til *Prøvetaking og oppbevaring*.
2. Sørg for at frosne prøver er fullstendig tint. Virvelbland de tinte prøvene i 3 til 5 sekunder for å blande grundig.
3. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før behandling. Se *Prøver ombord i Panther System* for ytterligere ombordinformasjon.
4. Påse at hvert primære oppsamlingsrør inneholder inntil 1200 µl prøve eller at hvert sekundærrør inneholder minst 700 µl prøve. Se tabellen i *Prøvetaking* for å finne krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør.

5. Rett før prøvene lastes inn i prøvestativet, sentrifuger hver prøve ved 1000 til 3000 g i 10 minutter. Ikke fjern hettene i dette trinnet.

Se trinn G.2 nedenfor for informasjon om lasting av stativet og fjerning av hetter.

#### F. Håndtere av fullblodsprøver

1. Kontroller at uprosesserte enkeltprøver i primærrør oppbevares riktig iht. *Prøvetaking og oppbevaring*.
2. Sørg for at frosne prøver er fullstendig tint. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før behandling. Se *Prøver ombord i Panther System* for ytterligere ombordinformasjon.
3. Snu fullblodsrøret forsiktig minst 3 ganger, eller bland forsiktig med en vugge, til blodet er homogent.
4. Utfør følgende prosedyre på hver prøve før prøvebehandling.
  - a. Blod i primærrørene bør blandes grundig ved å snu dem, og prøven bør overføres omgående i røret som inneholder fullblodsfortynningsmidlet.
  - b. Tilsett 500 µl fullblodsprøve til det forhåndsfylte fullblodsfortynningsrør.
  - c. Sett på hetten, og virvelblande prøven i minst 5 sekunder.

Se trinn G.2 nedenfor for informasjon om lasting av stativet og fjerning av hetter.

#### G. Preparere systemet

1. Sett opp systemet i henhold til instruksjonene i *Håndbok for Panther-/Panther Fusion System* og *Prosedyrenotater*. Sørg for at det brukes reagensstativ med riktige størrelser og TCR-adaptore.
2. Last prøvene inn på prøvestativet. Utfør følgende trinn for hvert prøverør (prøve, og når nødvendig, kalibrator og kontroller):
  - a. Løsne en prøverørshette, men ikke fjern den ennå.  
**Merk:** Vær spesielt forsiktig for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler. Løsne hettene på prøvene forsiktig.
  - b. Last prøverøret inn på prøvestativet.
  - c. Gjenta trinn 2.a og 2.b for hver gjenværende prøve.
  - d. Når prøven har blitt lastet inn på prøvestativet, fjernes og kastes hver prøverørshette på ett prøvestativ. For å unngå kontaminasjon skal en hette ikke føres over noen andre prøvestativer eller prøverør.
  - e. Om nødvendig brukes en ny overføringspipette til engangsbruk for å fjerne bobler eller skum. Bobler i røret vil ødelegge Panther Systems nivågjenkjenningssystem.
  - f. Når det siste lokket er fjernet, lastes prøvestativet inn i prøvebrønnen.  
**Merk:** Dersom andre assayer og prøvetyper kjøres samtidig, skal prøveholderen festes før prøvestativet settes inn i prøvebrønnen.
  - g. Gjenta trinn 2.a til 2.f for neste prøvestativ.

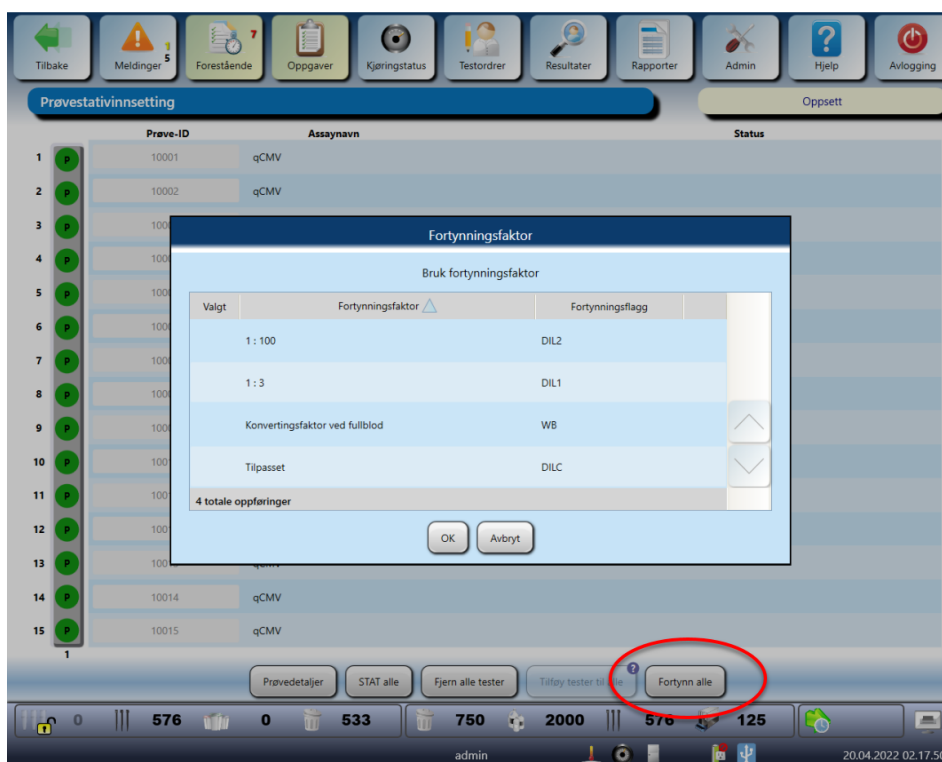
#### H. Systempreparering - Bruke konverteringsfaktor til fullblodsprøver

1. Sett opp systemet i henhold til instruksjonene i *Håndbok for Panther System*.
2. Sett inn prøvestativ.
3. Bruk konverteringsfaktoren til fullblodsprøver for å analysere testordre med fullblodsprøver.

**Merk:** Konverteringsfaktor til fullblodsprøver kan brukes på et helt stativ eller en enkel testordre.

Bruk konvertingsfaktoren til fullblodsprøver på hele stativet med fullblodsprøver:

- På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet av interesse. Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte stativet.
- Velg **Dilute All (Fortynn alle)**.  
Vinduet Dilution Factor (Fortynningsfaktor) vises.



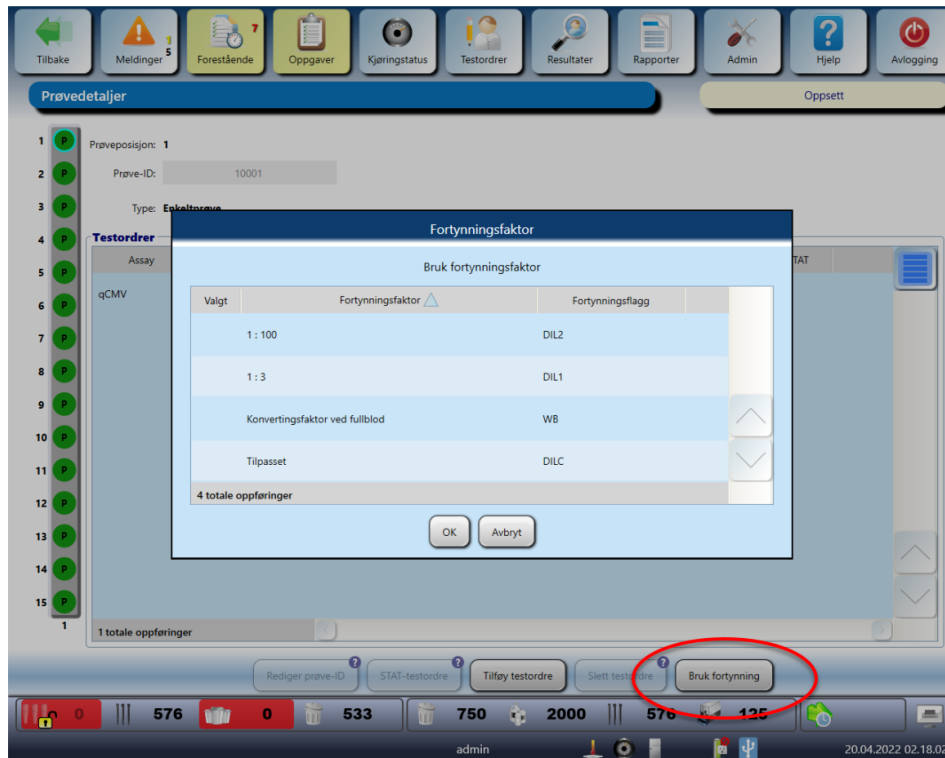
**Figur 5. Vinduet Dilution Factor (Fortynningsfaktor) i skjermbildet Sample Rack Loading (Prøvestativinnsetting) (eksempel)**

- Velg **Whole Blood Conversion Factor (Konverteringsfaktor til fullblodsprøver)**
- Velg **OK**.  
Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (Angi fortynningsfaktor for stativ) vises.
- Velg **Yes (Ja)** for å bruke konvertingsfaktoren til fullblodsprøver på hele stativet med fullblodsprøver.

For å bruke fullblodskonverteringsfaktoren på en enkel testordre (se illustrasjonen nedenfor):

- På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet som inneholder den eller de aktuelle pasientprøvene.  
Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte prøvestativet.

- b. Dobbelklikk på den aktuelle pasientprøven fra skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting).  
Skjermbildet *Sample Details* (Prøvedetaljer) vises med de gjeldende testordrene for den valgte pasientprøven.
- c. Velg den aktuelle testordren fra panelet *Test Orders* (Testordrer).
- d. Velg **Apply Dilution (Bruk fortynning)**.



**Figur 6. Vinduet Dilution Factor (Fortynningsfaktor) i skjermbildet Sample Details (Prøvedetaljer) (eksempel)**

- e. Velg **Whole Blood Conversion Factor (Konverteringsfaktor til fullblodsprøver)**
  - f. Velg **OK** for å bruke konverteringsfaktorflagget til fullblod på alle valgte testordre.
4. Fortynningsfaktorer kan om nødvendig, fjernes fra testordre før behandling av testordren starter.

Slik slettes konverteringsfaktoren til fullblod fra et helt stativ:

1. På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet av interesse.  
Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte stativet.
2. Velg **Dilute All (Fortynn alle)**.
3. Velg bort **Whole Blood Conversion Factor (Konverteringsfaktor til fullblodsprøver)** fra skjermbildet *Dilution Factor* (Fortynningsfaktor).
4. Velg **OK**.  
Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (Angi fortynningsfaktor for stativ) vises.

5. Velg **Yes (Ja)** for å slette konverteringsfaktoren til fullblod fra et helt stativ.

Slik slettes konverteringsfaktoren til fullblod fra assaytestordre:

1. På skjermbildet *Sample Rack Bay* (Skuffeseksjon til prøvestativ) dobbeltklikker du på det innsatte stativet som inneholder den eller de aktuelle pasientprøvene.

Skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting) vises for det valgte prøvestativet.

2. Dobbeltklikk på den aktuelle pasientprøven fra skjermbildet *Sample Rack Loading* (Prøvestativinnsetting).

Skjermbildet *Sample Details* (Prøvedetaljer) vises med de gjeldende testordrene for den valgte pasientprøven.

3. Velg den aktuelle testordren fra panelet *Test Orders* (Testordrer).
4. Velg **Apply Dilution (Bruk fortykning)**.
5. Velg bort **Whole Blood Conversion Factor (Konverteringsfaktor til fullblodsprøver)** fra skjermbildet *Dilution Factor* (Fortynningsfaktor).
6. Velg **OK** for å slette konverteringsfaktoren til fullblod fra testordren.

## Prosedyrenotater

### A. Kalibratorer og kontroller

1. Den qCMV positive kalibratoren, den qCMV lavt positive kontrollen, qCMV høy positiv kontroll og qCMV negative kontrollrør kan lastet i hvilken som helst posisjon på prøvestativet i hvilken som helst prøvebrønnbane på Panther System. Prøvepipetteringen vil begynne når ett av følgende to forhold er oppfylt:
  - a. Kalibratoren og kontrollene blir nå behandlet av systemet.
  - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollene er registrert på systemet.
2. Når kalibratoren og kontrollrørene har blitt pipettert og blir behandlet for Aptima CMV Quant-assayreagenssett, kan prøvene testes med det tilknyttede, rekonstituerte settet i inntil 24 timer **med mindre**:
  - a. Kalibrator- eller kontrollresultatene er ugyldige.
  - b. Det tilknyttede assayreagenssettet er fjernet fra systemet.
  - c. Det tilknyttede assayreagenssettet har overskredet stabilitetsgrensene.
3. Kalibratoren og hvert kontrollrør kan brukes én gang. Forsøk på å bruke røret mer enn én gang kan føre til prosesseringsfeil.

### B. Hansker

Som ved alle reagenssystemer, kan for mye pulver på noen hansker føre til kontaminasjon av åpne rør. Pulverfrie hansker anbefales.

## **Kvalitetskontroll**

En kjøring eller et prøveresultat kan ugyldiggjøres av en operatør hvis tekniske, operatørbaserte eller instrumentbaserte vanskeligheter observeres ved utførelsen av assayet og er dokumentert. I dette tilfellet skal prøvene testes på nytt.

Prøvene med ugyldige resultater skal testes på nytt for å få et gyldig resultat.

### **Assaykalibrering**

En assaykalibrering må fullføres for å generere gyldige resultater. En enkel positiv kalibrator kjøres tre ganger hver gang et reagenssett settes inn i Panther System. Når dette er gjennomført, er kalibreringen gyldig i inntil 24 timer. Programmet på Panther System varsler operatøren når en ny kalibrering er nødvendig. Operatøren skanner en kalibreringskoeffisient som finnes på strekkodearket for hovedpartier som følger med hvert reagenssett.

Under prosessering blir kriteriene for godkjenning av kalibratoren automatisk verifisert av programvaren til Panther System. Hvis mindre enn to av kalibratorreplikatene er gyldige, vil programmet automatisk ugyldiggjøre kjøringen. Prøver i en ugyldiggjort kjøring skal testes på nytt med en ny preparert kalibrator og nye preparerte kontroller.

### **Negative og positive kontroller**

Et sett med assaykontroller skal testes for å generere gyldige resultater. Ett replikat av den negative kontrollen den lave positive kontrollen og den høye positive kontrollen skal testes hver gang et reagenssett blir lastet inn på Panther System. Når dette er gjennomført, er kontrollene gyldige i inntil 24 timer. Programmet på Panther System varsler operatøren når en ny kalibrering av kontroller er påkrevd.

Under behandlingen blir kriteriene for godkjenning av kontroller automatisk verifisert av programmet på Panther System. For å generere gyldige resultater skal den negative kontrollen gi resultatet "ikke detektert" og de positive kontrollene skal gi resultater innenfor forhåndsdefinerte parametere. Hvis noen av kontrollene har et ugyldig resultat, vil programmet automatisk ugyldiggjøre kjøringen. Prøver i en ugyldiggjort kjøring skal testes på nytt med en ny preparert kalibrator og nye preparerte kontroller.

### **Intern kalibrator / intern kontroll**

Hver prøve inneholder en intern kalibrator/intern kontroll (IC). Under prosesseringen blir akseptkriteriene for den interne kontrollen automatisk verifisert av programvaren til Panther System. Hvis et internt kontrollresultat er ugyldig, blir prøveresultatet ugyldiggjort. Hver prøve med et ugyldig internt kontrollresultat skal testes på nytt for å få et gyldig resultat.

Programvaren til Panther System er utformet for å gi nøyaktige bekreftelsesprosesser når prosedyrer utføres iht. instruksjonene i dette pakkevedlegget og *Operatørhåndbok for Panther-/Panther Fusion System*.

**Tolkning av resultater**

Panther System bestemmer automatisk konsentrasjonen av CMV DNA for prøver og kontroller ved å sammenligne resultatene med en kalibreringskurve. CMV DNA-konsentrasjoner rapporteres i IU/ml og  $\log_{10}$  IU/ml. Tolkning av resultatene finnes i Tabell 1 og Tabell 2.

Tabell 1: Resultattolkning av plasma

Rapporterte resultater av Aptima CMV Quant-assay		Tolkning
IU/ml	Log <sub>10</sub> verdi	
Ikke detektert	Ikke detektert	CMV DNA ikke detektert.
< 53 detektert	< 1,72	CMV DNA er detektert, men med et nivå under den nedre grense for kvantifisering (LLoQ).
53 til 10 000 000	1,72 til 7,00	CMV DNA-konsentrasjonen ligger innenfor det lineære området mellom LLoQ og ULoQ IU/ml
> 10 000 000	> 7,00	CMV DNA-konsentrasjon ligger over den øvre kvantifiseringsgrensen (ULoQ).
Ugyldig <sup>a</sup>	Ugyldig <sup>a</sup>	Det var en feil i genereringen av resultatet. Prøven bør testes på nytt.

<sup>a</sup>Ugyldige resultater vises med blå skrift.

Tabell 2: Tolkning av fullblodsresultat

Rapporterte resultater av Aptima CMV Quant-assay		Tolkning
IU/ml	Log <sub>10</sub> verdi	
Ikke detektert	Ikke detektert	CMV DNA ikke detektert.
< 176 detektert	< 2,24	CMV DNA er detektert, men med et nivå under den nedre grense for kvantifisering (LLoQ).
176 til 10 000 000	2,24 til 7,00	CMV DNA-konsentrasjonen ligger innenfor det lineære området mellom LLoQ og ULoQ IU/ml
> 10 000 000	> 7,00	CMV DNA-konsentrasjon ligger over den øvre kvantifiseringsgrensen (ULoQ).
Ugyldig <sup>a</sup>	Ugyldig <sup>a</sup>	Det var en feil i genereringen av resultatet. Prøven bør testes på nytt.

<sup>a</sup>Ugyldige resultater vises med blå skrift.

**Begrensninger**

- A. Bruk av dette assayet er begrenset til personell som har opplæring i prosedyren. Hvis man unnlater å følge instruksjonene i dette pakkevedlegget kan dette føre til feil resultater.
- B. Pålitelige resultater er avhengig av tilfredsstillende prøvetaking, transport, oppbevaring og behandling.
- C. Selv om det er sjeldent, kan mutasjoner innen høy konserverte regioner i virusgenom dekket av primere og/eller prober i Aptima CMV Quant-assayet føre til underkvantifisering av viruset eller at viruset ikke detekteres.



## Ytelse

### Deteksjonsgrense ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard

Deteksjonsgrensen (LoD) i assayet defineres som konsentrasjonen av CMV DNA som detekteres ved 95 % eller større sannsynlighet i henhold til CLSI EP17-A2.<sup>14</sup>

#### Nedre deteksjonsgrense ved bruk av VHOs standarder for plasma

LoD ble bestemt med testepaneller til VHOs 1. internasjonale standard (NIBSC-kode 09/162) for CMV<sup>21</sup> fortynnet i CMV negativt humant plasma. 60 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 180 replikater per fortynning. Probit-analysen ble utført for å generere forutsagte deteksjonsgrenser. LoD-verdier vist i Tabell 3 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagte deteksjonsgrense. LoD for Aptima CMV Quant-assay med bruk av VHOs 1. internasjonale standard er 40,7 IU/ml for plasma.

Tabell 3: Deteksjonsgrensen for plasma ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV

Forutsagt deteksjonsgrense	Konsentrasjon (IU/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

#### Nedre deteksjonsgrense ved bruk av VHOs standarder for fullblod

LoD ble bestemt med testepaneller til VHOs 1. internasjonale standard for CMV fortynnet i CMV negativt fullblod. 60 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 180 replikater per fortynning. Probit-analysen ble utført for å generere forutsagte deteksjonsgrenser. LoD-verdier vist i Tabell 4 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagte deteksjonsgrense. LoD for Aptima CMV Quant-assay med bruk av VHOs 1. internasjonale standard er 131,0 IU/ml for fullblod.

Tabell 4: Deteksjonsgrensen for fullblod ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV

Forutsagt deteksjonsgrense	Konsentrasjon (IU/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

## Deteksjonsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter

### Deteksjonsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

LoD ble verifisert for tre forskjellige genotyper basert på Glycoprotein B-sekvens<sup>7</sup> (gB-2, gB-3, gB-4) og medikamentresistente mutanter med testing av forskjellige konsentrasjoner av CMV rundt den fastslåtte LoD for plasma ved bruk av VHO-standarden (genotype gB-1). Testing ble utført med 30 replikater per panel per reagensparti ved bruk av to partier med Aptima CMV Quant-reagenser. Den høyeste LoD som ble verifisert for alle tre genotypene og medikamentresistente mutanter, var 40 IU/ml ved bruk av begge reagenspartiene.

**Merknad:** Ytelsen til Aptima CMV Quant-assayet med medikamentresistente mutanter av Cytomegalovirus ble bare evaluert i plasmaprøver.

Tabell 5: Deteksjonsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

Genotype	Konsentrasjon (IU/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Medikamentresistent mutant UL54 og UL97*	35
Medikamentresistent mutant UL56**	35

\*UL54-genmutasjoner kan føre til kryssresistans mot flere antiviralia ved behandling av CMV-infeksjon som (GCV), cidofovir (CDV) og foscarnet (PFA). UL97-genmutasjoner kan også føre til ganciclovir (GCV)-resistans.

\*\*UL56-genmutasjoner fører til Ietermovir (LET)-resistans.

Samlet LoD i plasma er 40,7 IU/ml.

#### Deteksjonsgrensen på tvers av CMV-genotyper i fullblod

LoD ble bekreftet med tre forskjellige glykoprotein B-genotyper (gB-2, gB-3 og gB-4) ved å teste forskjellige CMV-konsentrasjoner rundt den fastslåtte LoD for fullblod ved bruk av CMV VHOs standard (genotype gB-1). Testing ble utført med 30 replikater per panelement per reagensparti ved bruk av to partier med Aptima CMV Quant-reagenser. Den høyeste LoD som ble bekreftet for alle tre genotyper, var 150 IU/ml ved bruk av begge reagenspartiene.

Tabell 6: Deteksjonsgrensen på tvers av CMV-genotyper i fullblod

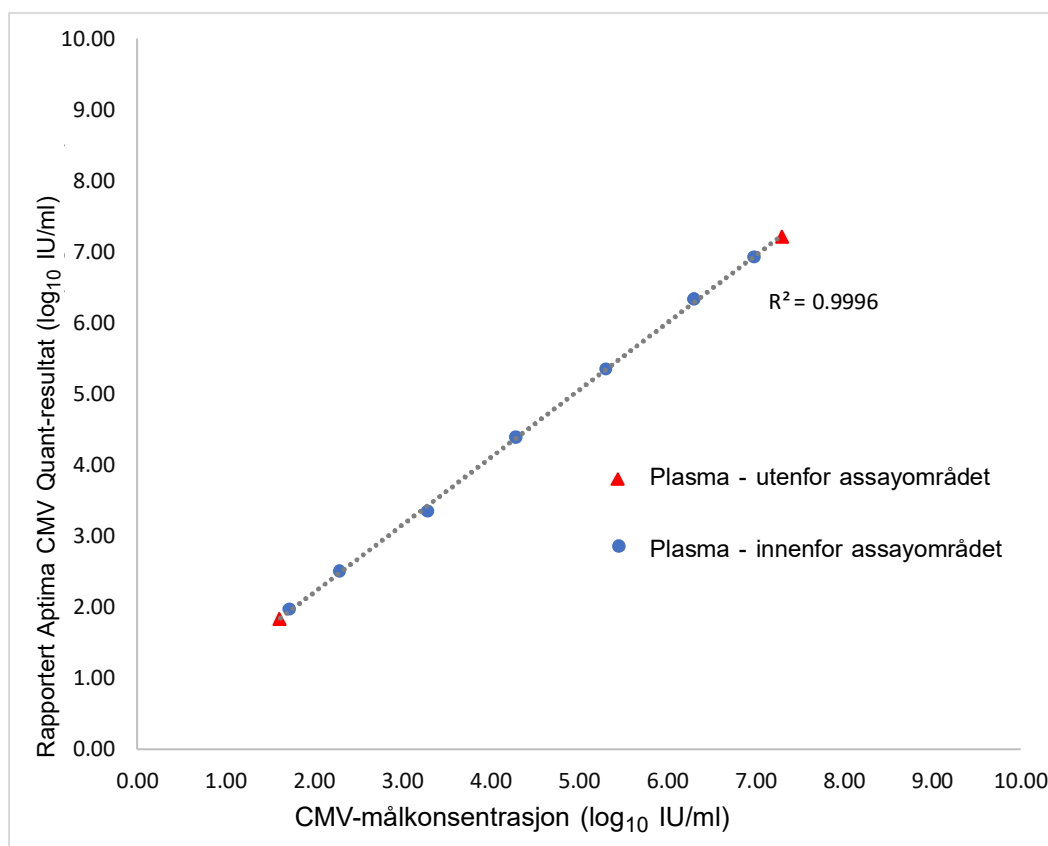
Genotype	Konsentrasjon (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Samlet LoD i fullblod er 150 IU/ml.

## Lineært område

### Lineært område i plasma

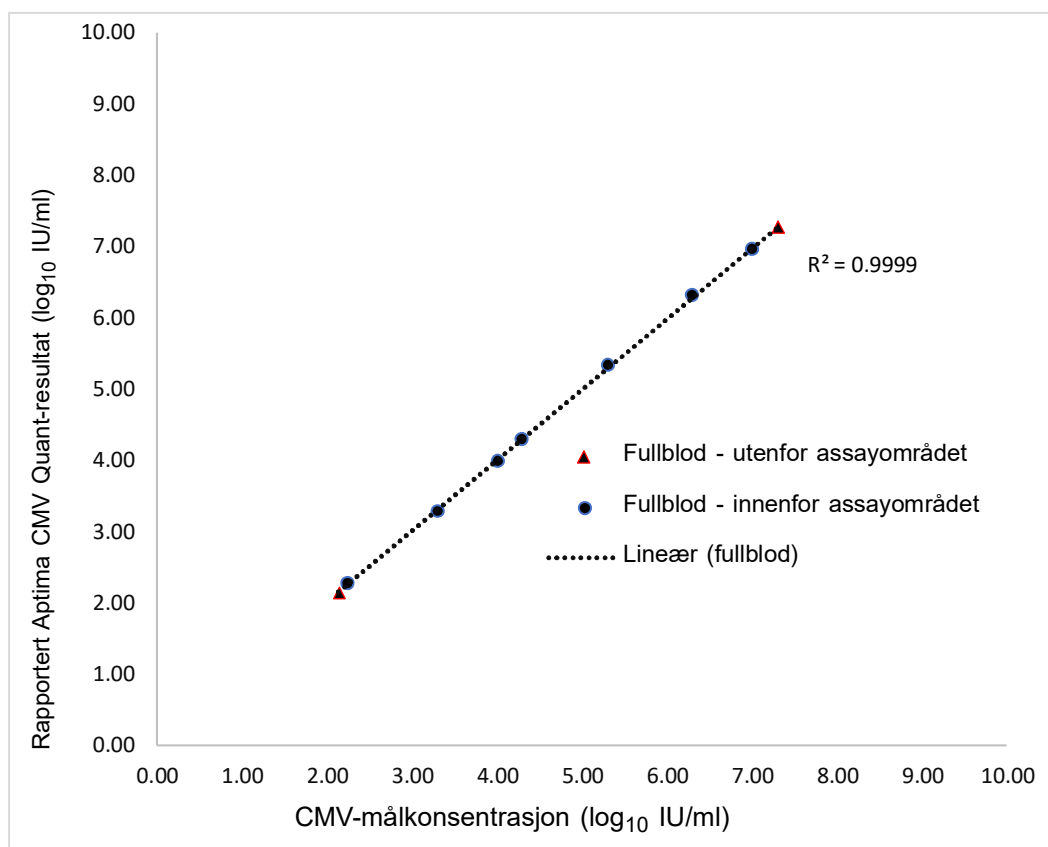
Det lineære området ble fastslått ved å teste paneler med CMV fortynnet i CMV negativt humant plasma i henhold til CLSI EP06-A.<sup>15</sup>-paneler, med konsentrasjon fra 1,62 log IU/ml til 7,30 log IU/ml. Aptima CMV Quant-assayet utviste linearitet på tvers av det målte området. Den øvre grensen for kvantifisering (ULoQ) til assayet er 7 log IU/ml som vist i Figur 7.



**Figur 7. Linearitet i plasma**

### Lineært område i fullblod

Det lineære området ble fastslått ved å teste paneler med CMV fortynnet i CMV negativt humant fullblod i henhold til CLSI EP06-A.<sup>15</sup>-paneler, med konsentrasjon fra 2,15 log IU/ml til 7,3 log IU/ml. Aptima CMV Quant-assayet utviste linearitet på tvers av det målte området. Den øvre grensen for kvantifisering (ULoQ) til assayet er 7 log IU/ml som vist i Figur 8.

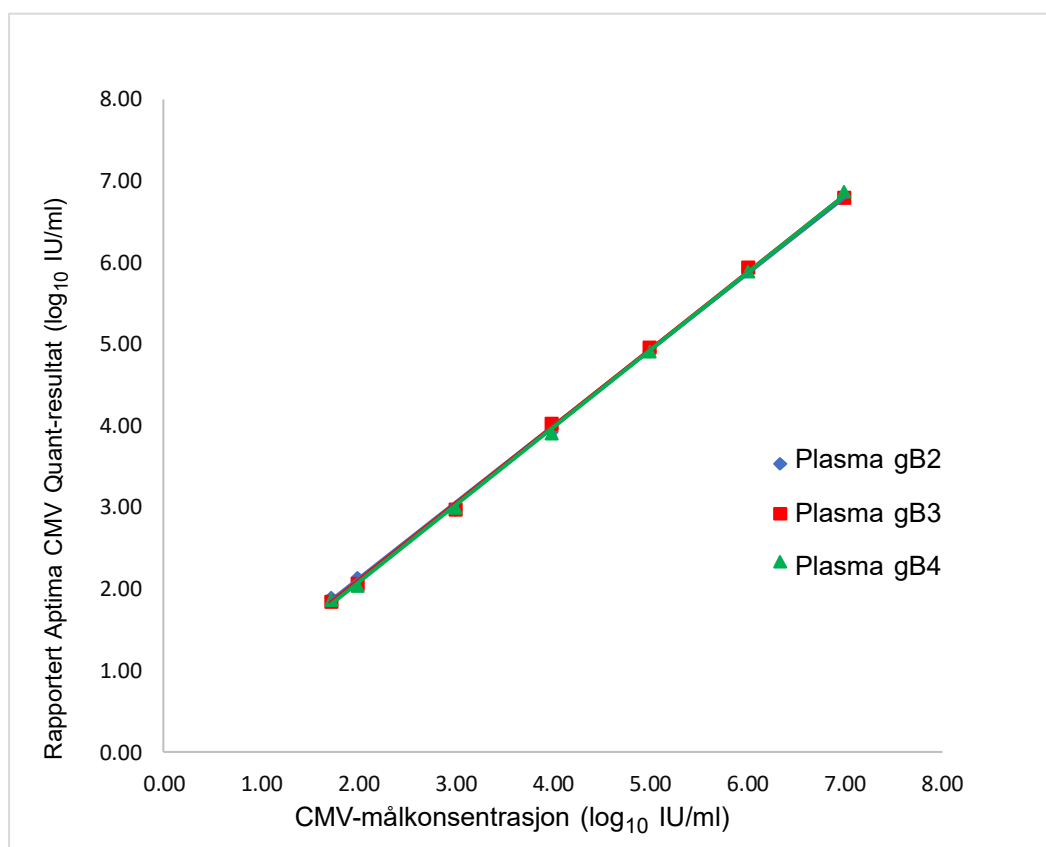


**Figur 8. Linearitet i fullblod**

## Linearitet på tvers av CMV-genotyper

### Linearitet på tvers av CMV-genotyper i plasma

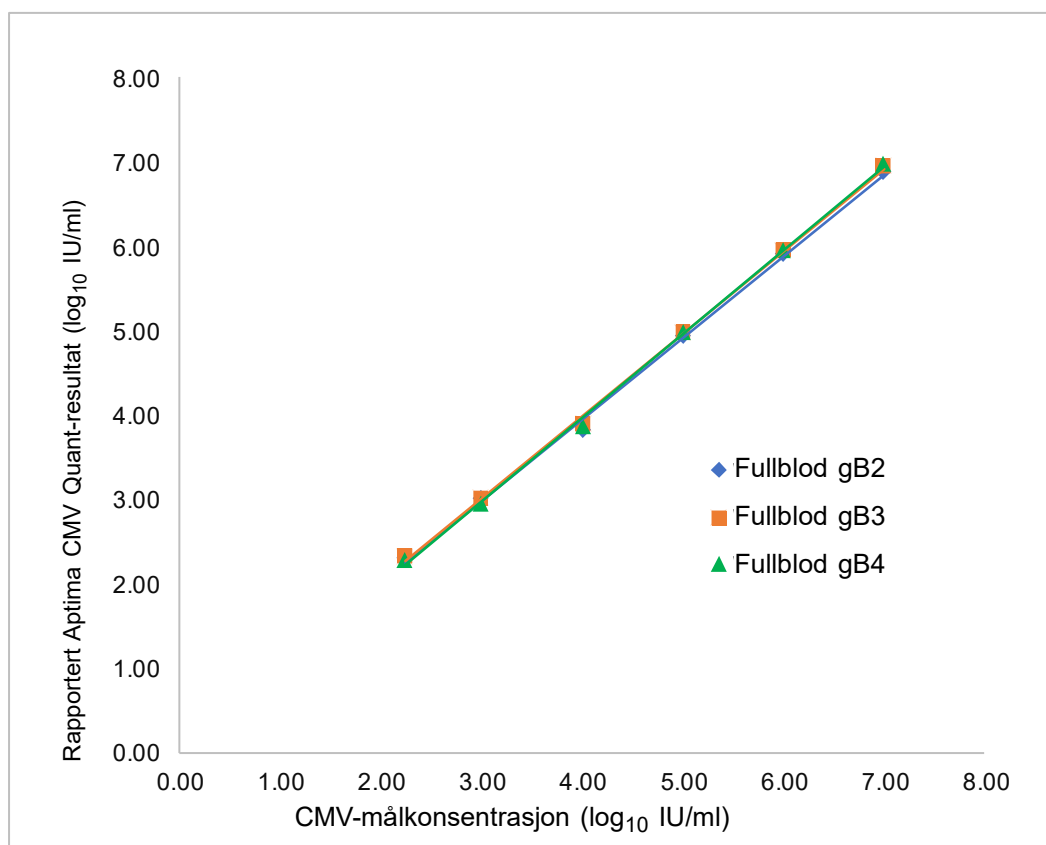
Lineariteten til glykoprotein genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 ble bekreftet ved å teste paneler med CMV fortynnet i CMV negativ buffer med konsentrasjoner fra 1,72 log IU/ml til 7,00 log IU/ml. Lineariteten ble vist på tvers av området som ble testet for alle genotyper som ble testet, som vist i Figur 9.



**Figur 9. Linearitet på tvers av CMV-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 i plasma**

### Linearitet på tvers av CMV-genotyper i fullblod

Den lineære responsen til glykoprotein genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 ble bekreftet ved å teste paneler med CMV fortynnet i CMV negativt fullblod med konsentrasjoner fra 2,25 log IU/ml til 7,00 log IU/ml. Lineariteten ble vist på tvers av området som ble testet for alle tre genotyper som ble testet, som vist i Figur 10.



**Figur 10. Linearitet på tvers av CMV-genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 i fullblod**

## Nedre kvantifiseringsgrense med VHOs 1. internasjonale standard

Den nedre grensen for kvantifisering (LLoQ) defineres som den laveste konsentrasjon der CMV DNA kan kvantifiseres på en pålitelig måte innenfor en total feil, i henhold til CLSI EP17-A2.<sup>14</sup> Total feil ble anslått med Westgard-modellen: Total feil (TE) = |bias| + 2 SD. For å sikre nøyaktighet i målingene ble total feil i Aptima CMV Quant-assay innstilt på 1 log IU/ml (dvs. ved LLoQ er forskjellen mellom to målinger på mer enn 1 log IU/ml statistisk signifikant).

### Nedre kvantifiseringsgrense ved VHOs internasjonale standard for plasma

LLoQ ble fastslått ved å teste paneler fra den 1. VHO internasjonale standard (NIBSC kode 09/162, genotype gB-1) for CMV DNA fortynnet i CMV negativt humant plasma. 60 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 180 replikater per fortynning. LLoQ-resultatene av de tre reagenspartiene vises i Tabell 7. Resultatene fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjon som oppfyller TE-kravene og  $\geq 95\%$  deteksjon, er summert i Tabell 8. LLoQ generert med VHOs 1. internasjonale standard for CMV i plasma er 53 IU/ml.

Tabell 7: Bestemmelse av LLoQ ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV-fortynnet i plasma

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

SD=standardavvik

Panelelementer som tilfredsstillt nøyaktighetsmålet (TE  $\leq 1$ ) og  $\geq 95\%$  deteksjon for reagenspartier 1, 2 og 3 er skyggelagt.

Tabell 8: Sammendrag for LLoQ for plasma ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV

Reagensparti	(IU/ml)	(log IU/ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67



### Nedre grense for kvantifisering med VHOs internasjonale standard om fullblod

LLoQ ble bestemt med testepanener til VHOs 1. internasjonale standard for CMV DNA fortynnet i CMV negativt humant fullblod. 60 replikater av hver fortynning ble testet med hver av de tre reagenspartiene for en samlet mengde på 180 replikater per fortynning. Resultatene av de tre reagenspartiene vises i Tabell 9. Resultatene fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjon som oppfyller TE-kravene og  $\geq 95$  % deteksjon, er summert i Tabell 9. LLoQ generert med VHOs 1. internasjonale standard for CMV i fullblod er 176 IU/ml.

Tabell 9: Bestemmelse av LLoQ ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV-fortynnet i fullblod

Reagensparti	N	% detektert	Målkonsentrasjon	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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=standardavvik

Panelelementer som tilfredsstillt nøyaktighetsmålet ( $TE \leq 1$ ) og  $\geq 95$  % deteksjon for reagenspartier 1, 2 og 3 er skyggelagt.

Tabell 10: Sammendrag for LLoQ for fullblod ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV

Reagensparti	(IU/ml)	(log IU/ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

## Fastslåelse av den nedre kvantitetsgrensen til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter

### Nedre kvantitetsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

LLoQ fastslått ved bruk av VHO-standard ble verifisert ved å teste fortykning av CMV-genotyper gB-2, gB-3, gB-4 medikamentresistente mutanter i CMV negativt humant plasma. 60 replikater av hvert panelmedlem ble testet med ett reagensparti. Resultatene vises i Tabell 11. Beregnet LLoQ for genotypene gB-2, gB-3, gB-4 og medikamentresistente mutanter fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjonen som tilfredsstillte TE-kravene og  $\geq 95\%$  deteksjonen er oppsummert i Tabell 12. Samlet LLoQ for plasma i dette assayet er 53 IU/ml.

**Merknad:** Ytelsen til Aptima CMV Quant-assayet med medikamentresistente mutanter av Cytomegalovirus ble bare evaluert i plasmaprøver.

Tabell 11: Fastslåelse av LLoQ til genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

Genotype	N	% detektert	Målkonsentrasjon (log <sub>10</sub> IU/ml)	Aptima CMV Quant (log <sub>10</sub> IU/ml)	SD (log <sub>10</sub> IU/ml)	Bias  (log <sub>10</sub> IU/ml)	Beregnet TE (log <sub>10</sub> 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
gB-4	60	98,3	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79
	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
Medikament- resistent mutant (UL54 og UL97*)	60	100,0	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48
	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

Tabell 11: Fastslåelse av LLoQ til genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma (continued)

Genotype	N	% detektert	Målkonsentrasjon	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log <sub>10</sub> IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)
	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
Medikament- resistent mutant (UL56)	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=standardavvik

Panelmedlemmer som tilfredsstillir nøyaktighetsmålet (TE ≤ 1) og ≥ 95 % deteksjon for reagenspartiene 1, 2 og 3, er nedtonet.

Tabell 12: Sammendrag av LLoQ til genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

Genotype	LLoQ	
	(IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Medikamentresistent mutant UL54 og UL97*	38	1,57
Medikamentresistent mutant UL56**	35	1,54

\*UL54-genmutasjoner kan føre til kryssresistans mot flere antiviralia ved behandling av CMV-infeksjon som (GCV), cidofovir (CDV) og foscarnet (PFA). UL97-genmutasjoner fører også til ganciclovir (GCV)-resistans.

\*\*UL56-genmutasjoner fører til letermovir (LET)-resistans.

### Nedre grense for kvantifisering på tvers av genotyper i fullblod

LLoQ bestemt ved bruk av VHOs standard ble bekreftet ved å teste fortyninger av CMV genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 i CMV negativt humant fullblod. 60 replikater av hvert panelement ble testet med ett reagensparti. Resultatene vises i Tabell 13. LLoQ for genotypene gB-2, gB-3 og gB-4 fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjon som oppfyller TE-kravene og  $\geq 95$  % deteksjon, er summert i Tabell 14. Samlet LLoQ for fullblod i dette assayet er 176 IU/ml.

Tabell 13: Bestemmelse av LLoQ på tvers av genotyper i fullblod

Genotype	N	% detektert	Målkonsentrasjon	Aptima CMV Quant	SD	Bias	Beregnet TE
			(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/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=standardavvik

Tabell 14: Sammendrag av LLoQ på tvers av genotyper i fullblod

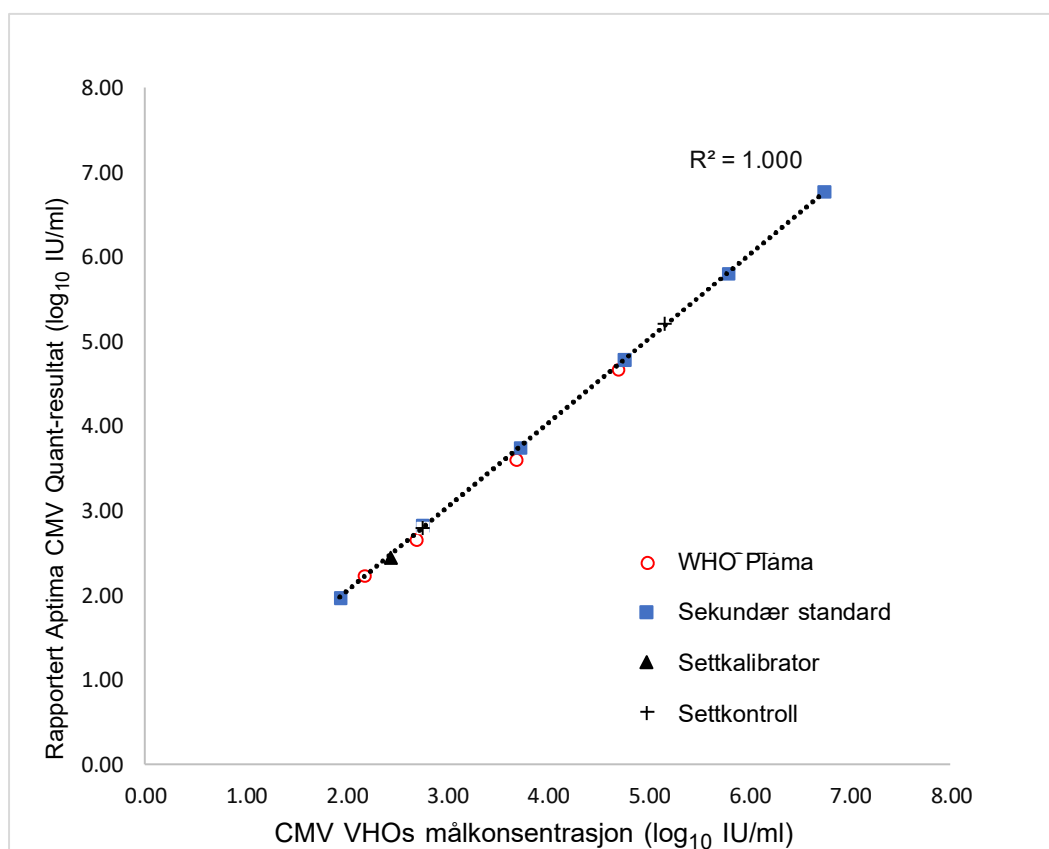
Genotype	LLoQ	
	(IU/ml)	(log IU/ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

## Sporbarhet til VHOs 1. internasjonale standard

En rekke sekundære standarder med kjente konsentrasjoner ble brukt under produktutviklingen og produktfremstillingen for å etablere sporbarhet med VHOs standard. CMV VHOs standard ble fortynnet og testet langs de sekundære standardene samt som assaykontroller, og kalibratorer som ble brukt i Aptima CMV Quant-assayet for å evaluere sporbarheten iht. CLSI EP32-R.<sup>16</sup> De sekundære standardene har en konsentrasjon på 1,80 til 6,60 log<sub>10</sub> IU/ml.

## Sporbarhet til VHOs standard ved bruk av plasma

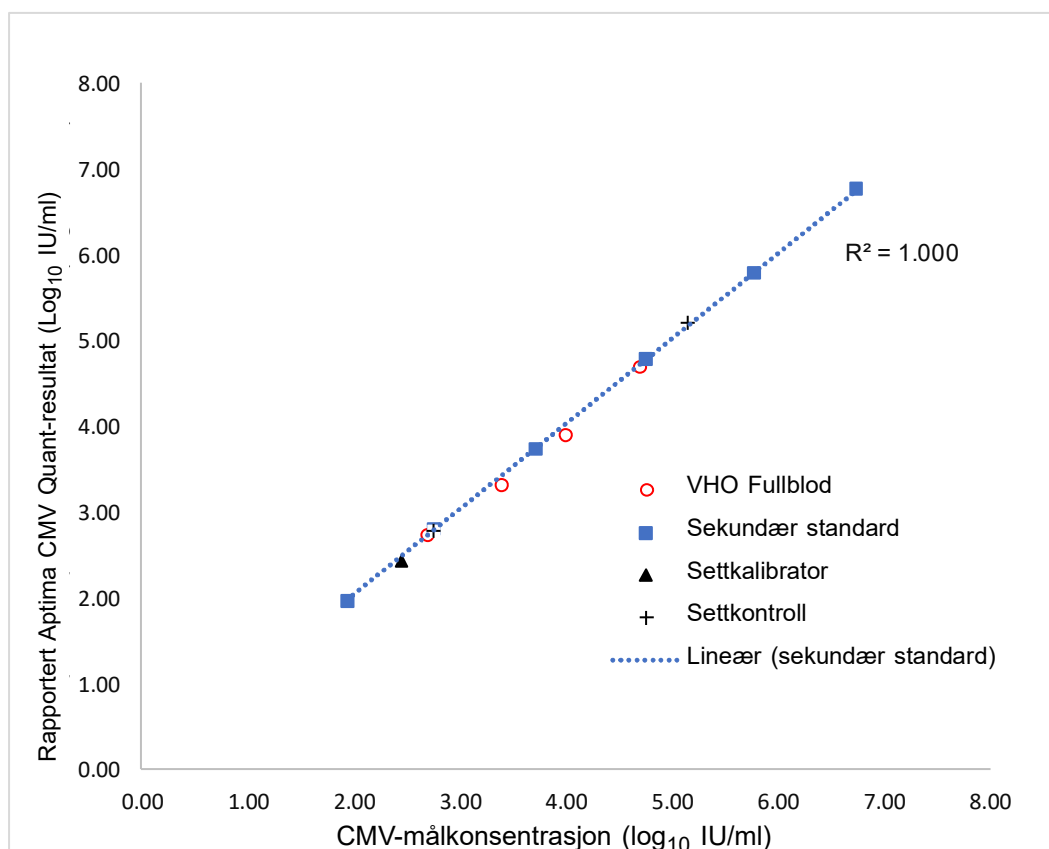
Konsentrasjonene som ble testet for CMV VHOs standard var på mellom 2,18 og 4,70 log<sub>10</sub> IU/ml. VHO-plasmapanelene, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer ble gjenvunnet som forventet på tvers av det lineære området til assayet, slik som vist i Figur 11.



**Figur 11. Sporbarhet mellom CMV VHOs 1. standard med målkonsentrasjoner og rapporterte konsentrasjoner i Aptima CMV Quant-assayet (VHOs standard fortynnet i plasma)**

### Sporbarhet til VHOs standard ved bruk av fullblod

Konsentrasjonene som ble testet for CMV VHOs standard i fullblod, var på mellom 2,70 og 4,70  $\log_{10}$  IU/ml. Fullblodsplanene med VHOs standarder, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer ble gjevunnet som forventet på tvers av det lineære området til assayet, slik som vist i Figur 12.



**Figur 12. Sporbarhet mellom CMV VHOs 1. standard med målkonsentrasjoner og rapporterte konsentrasjoner i Aptima CMV Quant-assayet (VHOs standard fortynnet i fullblod)**

## Nøyaktighet

### Plasma

For å vurdere nøyaktigheten, ble det laget et 6-medlems panel ved å fortynne CMV positive kliniske prøver eller dyrket CMV i CMV negativt plasma. Panelet ble testet av tre operatører som brukte tre reagenspartier på tre Panther-systemer i løpet av 20 eller flere testdager. Hver operatør utførte to kjøring per dag, og hvert panelmedlem ble testet i duplikat i hver kjøring. Studien ble designet og analysert der anbefalingene i CLSI EP-05-A3 ble fulgt.<sup>17</sup>

Tabell 15 viser nøyaktigheten i assayresultater (i log IU/ml) mellom instrumenter, mellom operatører, mellom reagenspartier, mellom kjøring, mellom dager, innen kjøring og totalt. Total variabilitet var hovedsakelig på grunn av innenfor kjøring-variabilitet (dvs. tilfeldig feil).

Tabell 15: Nøyaktigheten til Aptima CMV Quant-assayet i plasma

N	Middels konsentrasjon (log IU/ml)	Inter-parti SD	Inter-instrument SD	Inter-operatør SD	Inter-dag SD	Inter-kjøring SD	Intra-kjøring SD	Samlet 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=standardavvik

Merk: Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negative, noe som kan forekomme hvis variabiliteten som er forårsaket av disse faktorene er svært liten. Når dette skjer, vises SD som 0.

### Fullblod

For å vurdere nøyaktigheten ble det laget et 6-medlems panel ved å fortynne CMV positive kliniske prøver eller tilsette dyrket CMV i CMV negativt fullblod. Panelet ble testet av tre operatører som brukte tre reagenspartier på tre Panther-systemer i løpet av 20 eller flere testdager. Hver operatør utførte to kjøring per dag, og hvert panelmedlem ble testet i duplikat i hver kjøring

Tabell 16 viser nøyaktigheten i assayresultater (i log IU/ml) mellom instrumenter, mellom operatører, mellom partier, mellom kjøring, mellom dager, innen kjøring og totalt. Total variabilitet var hovedsakelig på grunn av innenfor kjøring-variabilitet (dvs. tilfeldig feil).

Tabell 16: Nøyaktigheten til Aptima CMV Quant-assayet i fullblod

N	Middels konsentrasjon (log IU/ml)	Inter-parti SD	Inter-instrument SD	Inter-operatør SD	Inter-dag SD	Inter-kjøring SD	Intra-kjøring SD	Samlet 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=standardavvik

Merk: Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negative, noe som kan forekomme hvis variabiliteten som er forårsaket av disse faktorene er svært liten. Når dette skjer, vises SD som 0.

### Potensielt interfererende stoffer

Mottakeligheten av Aptima CMV Quant-assayet for interferens ved forhøyede nivåer av endogene stoffer, antikoagulerende og av legemidler ofte foreskrevet for transplantatpasienter ble evaluert. Testkonsentrasjonen for hvert av de interfererende stoffene ble valgt basert på tilgjengelig litteraturreferanser og veiledning i CLSI EP07<sup>18</sup> og EP37<sup>19</sup>. CMV negative plasmaprøver og prøver tilsatt CMV til en konsentrasjon på 2,22 log IU/ml og 3,30 log IU/ml ble testet. CMV negative fullblodsprøver og prøver tilsatt CMV til en konsentrasjon på 2,72 og 4,00 log IU/ml av CMV DNA ble testet for hemoglobin.

Ingen interferens ble observert i assaytelsen i plasmaprøver i nærvær av albumin (60 mg/ml), hemoglobin (10 mg/ml), triglycider (15 mg/ml), ukonjugert bilirubin (0,4 mg/ml) eller human genom DNA (2 µg/ml). Ingen interferens ble observert i assaytelsen i fullblodsprøver i nærvær av 100 mg/ml hemoglobin tilsatt fullblodsprøver.

Kliniske plasmaprøver fra pasienter med forhøyede nivåer av bestemte stoffer eller fra pasienter med sykdommer oppført i Tabell 17 ble testet med Aptima CMV Quant-assayet. Ingen interferens ble observert i assaytelsen.

Tabell 17: Testede kliniske prøvetyper

	Kliniske prøvetyper	Antall kliniske prøver testet
1	Antinukleært antistoff (ANA)	10
2	Systemisk lupus erythematosus (SLE)	10
3	Revmatoid artritt (RA)	10



Ingen interferens ble observert i assayytelsen i nærvær av eksogene stoffer oppført i Tabell 18 med konsentrasjoner på minst tre ganger  $C_{maks}$  i legemidler i humant plasma.

Tabell 18: Eksogene stoffer

Eksogene stoffer samlet	Eksogene stoffer testet
1	Cefotetan, klavulanat kalium, ticarcillin dinatrium, vancomycin
2	Piperacillin
3	Sulfametoksazol
4	Tazobactam natrium, trimetoprim, fluconazol
5	Ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, foscarnet, valacyclovir, acyclovir, letermovir
6	Azatioprin, cyclosporin, mycofenolat mofetil, mycofenolsyre
7	Sirolimus, tacrolimus, prednison, everolimus
8	Natriumsitrat, EDTA, heparin

### Spesifisitet

Spesifisitet ble bestemt ved å teste 780 frosne CMV negative kliniske prøver. Spesifisitet beregnes som en prosentandel av CMV negative prøver med resultatet "Ikke detektert" i forhold til totalt antall prøver testet for hver prøvetype.

CMV DNA ble ikke detektert i 389 prøver for plasma og 390 prøver for fullblod. Spesifisiteten var 99,7 % (389/390, 95 % KI: 98,6–100 %) for plasma og 100 % (390/390, 95 % KI: 99,3–100 %). Den kombinerte spesifisiteten til Aptima CMV Quant-assayet for plasma og fullblod var 99,9 % (779/780, 95 % KI: 99,3–100 %).

Tabell 19: Spesifisitet i plasma- og fullblodsprøver

	Plasma	Fullblod	Plasma og fullblod
Gyldige replikater (n)	390	390	780
Ikke detektert	389	390	779
<b>Spesifisitet (95 % KI)</b>	99,7 % (98,6–100)	100 % (99,3–100)	99,9 % (99,3–100)

KI=konfidensintervall

## Analytisk spesifisitet

Potensiell kryssreaktivitet av patogenene oppført i Tabell 20 ble evaluert i CMV negativt humant plasma i nærvær eller fravær av 2,2 log IU/ml og 3,3 log IU/ml CMV. Tre blodparasitter funnet i fullblodsprøver ble evaluert i CMV negativt humant fullblod i nærvær eller fravær av 2,7 log IU/ml og 4,0 log IU/ml CMV. Patogener ble testet ved den høyeste tilgjengelige konsentrasjonen. Ingen kryssreaktivitet eller interferens ble observert.

Tabell 20: Patogener testet for analytisk spesifisitet

Mikroorganisme/patogen	Konsentrasjon	Mikroorganisme/patogen	Konsentrasjon
Adenovirus type 4	1886	TCID50/ml <sup>a</sup>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
BK Polyomavirus	1 000 000	cp/ml <sup>b</sup>	<i>Mycoplasma genitalium</i>
Epstein-Barr-virus	1 000 000	cp/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Hepatitt B-virus	1 000 000	IU/ml <sup>c</sup>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Hepatitt C-virus	1 000 000	cp/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>
Herpes simplex virus type 1	1 428 571	TCID50/ml	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium
Herpes simplex virus type 2	147 143	TCID50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>
HIV-1 subtype B	1 000 000	cp/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Humant herpesvirus 6A	1 000 000	cp/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Humant herpesvirus 7	1 428 571	TCID50/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Humant herpesvirus 8	1 000 000	cp/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Humant metapneumovirus	192 857	TCID50/ml	<i>Aspergillus niger</i>
Humant papillomavirus type 18	1 000 000	cp/ml	<i>Candida albicans</i>
Humant parainfluenzavirus	944	TCID50/ml	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Influenzavirus	3857	TCID50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>
Rhinovirus	7257	TCID50/ml	<i>Leishmania major</i> *
Varicella zoster-virus	1 000 000	cp/ml	<i>Babesia microti</i> *
Zika-virus	29 286	TCID50/ml	<i>Plasmodium falciparum</i> *
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	CFU/ml <sup>d</sup>	<sup>a</sup> TCID50/ml = Vevkultur infektive doseenheter per ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	CFU/ml	<sup>b</sup> cp/ml = Virale kopier per ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml	<sup>c</sup> IU/ml = Internasjonale enheter per ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	CFU/ml	<sup>d</sup> CFU/ml = Kolonidannende enheter per ml
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	CFU/ml	*Testet med fullblods prøvetype
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml	
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	CFU/ml	

## Overføring

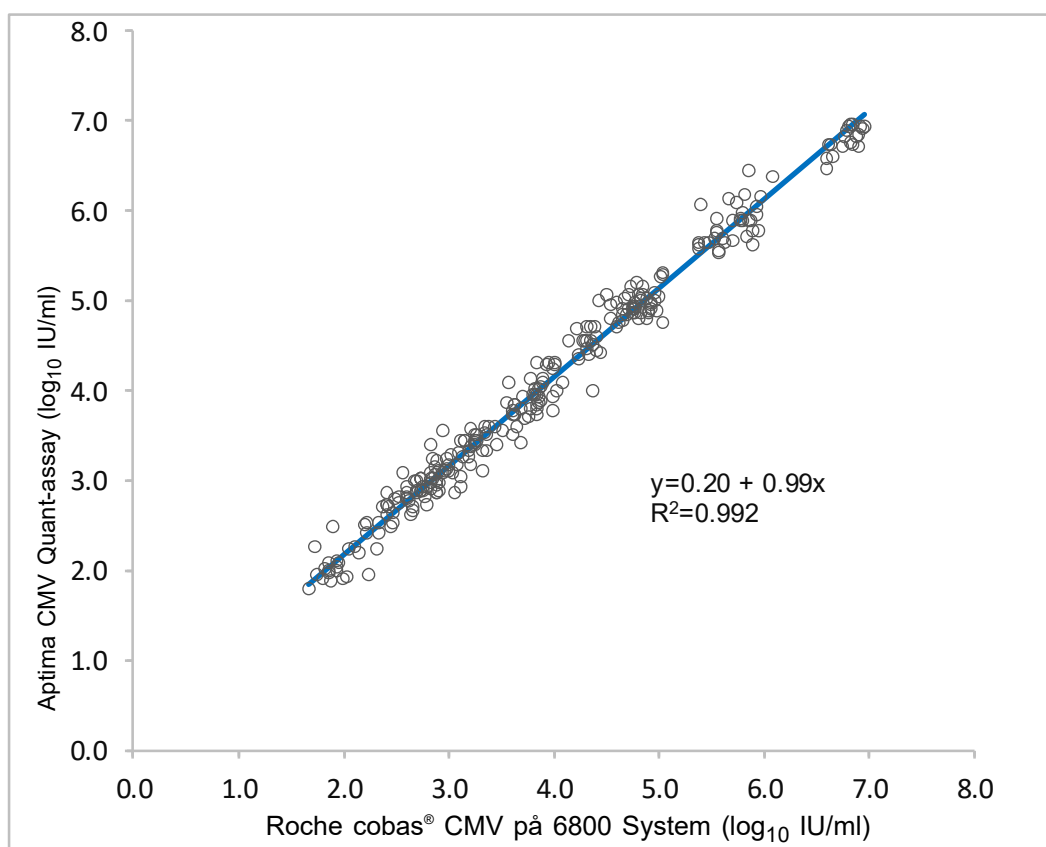
Overføringskontaminasjon er evaluert for Panther System ved bruk av plasma som prøvetype ved bruk av andre virusbelastningsassayer (Aptima HIV-1 Quant Dx-assay, Aptima HCV Quant-assay, Aptima HBV Quant-assay). Ingen overføringskontaminasjon ble observert i tidligere testing. For å fastslå at Panther System minimerer risikoen for falske positive resultatet fra overføringskontaminering i fullblodsprøvetypen ble det utført en studie med tilsatte paneler på tre Panther Systems. Overføringen ble vurdert med høy titer CMV DNA tilsatt fullblodsprøver (6 log IU/ml) innsatt mellom CMV negative prøver i et sjakkbrettmønster. Testingen ble utført over tolv kjøring. Den totale overføringsfrekvensen var 0,24 % (1/423).

## Metodekorrelasjon

Denne studien ble utformet iht. CLSI EP09c.<sup>19</sup>

### Plasmametodekorrelasjon

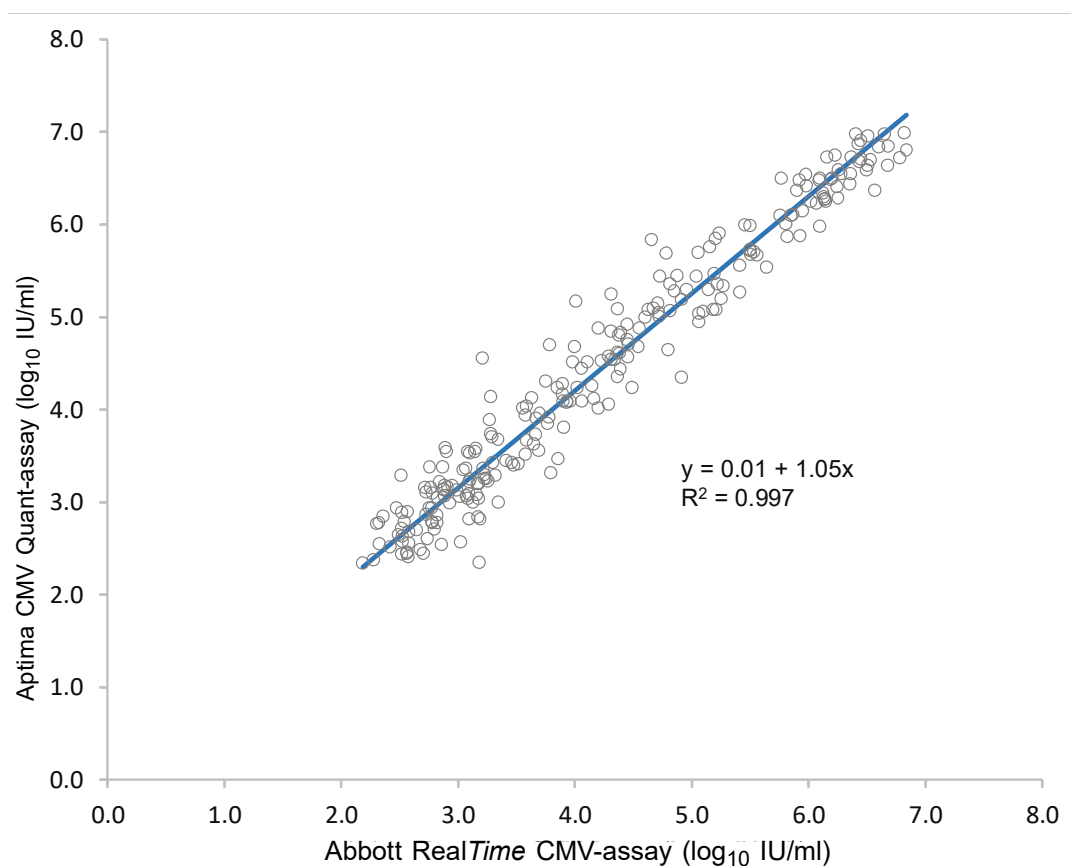
Ytelsen til Aptima CMV Quant-assayet ble vurdert mot Roche cobas® CMV på cobas® 6800 System ved å teste ufortynnete kliniske prøver fra CMV-positive pasienter og konstruerte prøver laget med forskjellige arter med dyrket virus som tilhører alle fire genotypene som ble tilsatt i individuelt donornegativt EDTA-plasma. Til sammen 160 kliniske prøver og 115 konstruerte prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assay, ble brukt til deming regresjon som vist i Figur 13.



**Figur 13. Korrelasjon mellom CMV-virusbelastning i Aptima CMV Quant-assayet og Roche cobas® CMV-assayet ved testing av plasmaprøver**

### Metodekorrelasjon ved fullblod

Ytelsen til Aptima CMV Quant-assayet ble vurdert mot Abbott CMV Realtime-assayet på m2000-plattformen ved å teste ufortynnede kliniske prøver fra CMV-positive pasienter og konstruerte prøver laget med dyrket virus i individuelt donornegativt EDTA-fullblod. Til sammen 159 kliniske prøver og 83 konstruerte prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assay, ble brukt til deming regresjon som vist i Figur 14.



**Figur 14. Korrelasjon mellom CMV-virusmengden i Aptima CMV Quant-assayet og Abbott RealTime CMV-assay ved testing av fullblodsprøver**

## Reproduserbarhet

### Reproduserbarhet i plasmaprøver

Reproduserbarhet til Aptima CMV Quant-assayet i plasma ble evaluert på tre eksterne steder. To operatører utførte testing på hvert sted. Hver operatør utførte én kjøring per dag i 5 dager, ved bruk av ett reagensparti i løpet av testingen. Hver kjøring hadde tre replikater for hvert panelmedlem.

Reproduserbarhet ble testet med panelmedlemmer preparert ved å fortynne CMV positive kliniske prøver eller dyrket CMV i CMV negativt EDTA-plasma. CMV DNA-konsentrasjoner strakk seg over det lineære området til assayet.

Tabell 21 viser reproduserbarheten og nøyaktigheten til assayresultatene for hvert positivt panelmedlem mellom steder, mellom operatører, mellom dager, mellom kjøring, innen kjøring og totalt. Variasjonskoeffisienten ble beregnet med følgende ligning der  $\sigma^2$  er prøvevariansen til dataene etter  $\log_{10}$ -transformasjon.

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

Tabell 21: Reproduserbarhet til Aptima CMV Quant-assay CMV DNA-nivåer på Panther-systemet i positive panelmedlemmer i plasma

N	Observert gjennomsnitt		Bidrag til total varians SD (%CV <sup>2</sup> )					Total varians SD (%CV)
	IU/ml	Log <sub>10</sub> IU/ml	Mellom steder	Mellom operatører	Mellom dager	Mellom kjøring	Innen kjøring	
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 variasjonskoeffisient, SD=standardavvik (log<sub>10</sub> IU/ml)

**Merknad:** Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negativ. Dette kan skje hvis variabiliteten som er forårsaket av disse faktorene, er svært liten. I disse tilfellene vises SD og %CV som 0.

### Reproduserbarhet i fullblodsprøver

Reproduserbarhet til Aptima CMV Quant-assayet i fullblod ble evaluert på tre eksterne steder. To operatører utførte testing på hvert sted. Hver operatør utførte én kjøring per dag i 5 dager, ved bruk av ett reagensparti i løpet av testingen. Hver kjøring hadde tre replikater for hvert panelmedlem.

Reproduserbarhet ble testet med panelmedlemmer preparert ved å fortynne CMV positive kliniske prøver eller dyrket CMV i CMV negativt EDTA-fullblod. CMV DNA-konsentrasjoner strakk seg over det lineære området til assayet.

Tabell 22 viser reproduserbarheten og nøyaktigheten til assayresultatene for hvert positivt panelmedlem mellom steder, mellom operatører, mellom dager, mellom kjøring, innen kjøring og totalt unntatt ett observert avvik (0,2 %, 1/533). Variasjonskoeffisienten ble beregnet med følgende ligning der  $\sigma^2$  er prøvevariansen til dataene etter  $\log_{10}$ -transformasjon.

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

For alle CMV-positive og CMV-negative panelmedlemmer, var samsvarsverdiene 100 %.

Tabell 22: Reproduserbarhet til Aptima CMV Quant-assay CMV DNA-nivåer på Panther-systemet i positive panelmedlemmer i fullblod

N	Observert gjennomsnitt		Bidrag til total varians SD (%CV <sup>2</sup> )					Total varians SD (%CV)
	IU/ml	Log <sub>10</sub> IU/mL	Mellom steder	Mellom operatører	Mellom Dager	Mellom kjøring	Innen kjøring	
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) <sup>a</sup>
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 variasjonskoeffisient, SD=standardavvik (log<sub>10</sub> IU/ml)

**Merknad:** Variabilitet fra noen faktorer kan være numerisk negativ. Dette kan skje hvis variabiliteten som er forårsaket av disse faktorene, er svært liten. I disse tilfellene vises SD og %CV som 0.

<sup>a</sup>Totalt variansresultat unntatt avviket som muligens kan være et resultat av et problem ved prøvepreparering.

## Litteraturfortegnelse

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, 3<sup>rd</sup> 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, 1<sup>st</sup> 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, 3<sup>rd</sup> 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

## Kontaktinformasjon



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



**EC REP**  
Hologic BV  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Hologic (Australia & New Zealand) Pty  
Ltd Macquarie Park NSW 2113,  
Australia

Besøk [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support) for å finne e-postadresse og telefonnummer til landsspesifikk teknisk støtte og kundeservice.

Hologic, Aptima og Panther er varemerker og/eller registrerte varemerker for Hologic, Inc. og/eller dattereselskaper i USA og/eller andre land.

Alle andre varemerker som kan forekomme i dette pakkevedlegget, tilhører sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av en eller flere USA-patenter, angitt på [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2022 Hologic, Inc. Med enerett.  
AW-25509-1801 Rev. 003  
2022-06