

## Aptima® CMV Quant-assay

Bruksanvisning  
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
Sammendrag av sikkerhet og ytelse	3
Advarsler og forholdsregler	3
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser	7
Prøvetaking og oppbevaring	8
Prøver ombord i Panther System	10
Prøvetransport	10
<b>Panther System</b>	<b>11</b>
Reagenser og materialer som følger med	11
Materialer som er nødvendig, men leveres separat	13
Valgfri materialer	14
Testeprosedyre for Panther System	14
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>25</b>
<b>Analytisk ytelse</b>	<b>26</b>
Deteksjonsgrense ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard	26
Deteksjonsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter	27
Lineært område	29
Linearitet på tvers av CMV-genotyper	31
Nedre kvantifiseringsgrense med WHOs 1. internasjonale standard	33
Fastslåelse av den nedre kvantitasjonsgrensen til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter	35
Sporbarhet til WHOs 1. internasjonale standard	38
Nøyaktighet	40
Potensielt interfererende stoffer	41
Spesifisitet	42
Analytisk spesifisitet	43
Plasmaprøvefortynning med Aptima CMV-negativ kontroll (1:3)	44
Bekreftelse av LoD og LLoQ ved bruk av WHOs 1. internasjonale CMV-standard fortynnet i Aptima CMV-negativ kontroll	45
Overføring	45
Metodekorrelasjon	46
Reproduserbarhet	48
<b>Klinisk ytelse</b>	<b>50</b>
Klinisk samsvar	50
Metodesammenligning	56
Middelvei på parede differanse	61
Bias på valgte virusmengdenivåer	62
Tillatt total differanse (ATD)	63
<b>Litteraturfortegnelse</b>	<b>68</b>
<b>Kontaktinformasjon og revisjonshistorikk</b>	<b>69</b>

## Generell informasjon

### Bruksområder

Aptima® CMV Quant-assayet er en *in vitro* nukleinsyre-amplifikasjonstest til kvantifisering av humant cytomegalovirus-DNA i humant EDTA-plasma og fullblod med det helautomatiserte Panther®-systemet.

Aptima CMV Quant assay er tiltenkt bruke som hjelp ved diagnostiseringen og håndtering av pasienter ved solid organ- og hematologisk stamcelletransplantasjon.

Aptima CMV Quant assay er ikke tiltenkt 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 immunokompetente 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-virusmengde for å rettlegge beslutninger om å starte anti-CMV-terapi og for å måle responsen til terapien.<sup>5,6,7,8</sup> Generelt korreleres høyere virusmengder med økt fare for CMV-sykdom.<sup>4,9</sup> Derfor er kvantifisering av CMV DNA i forbindelse med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører 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 konserverte 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, målamplifikasjon av TMA og deteksjon av amplifikasjonsprodukter (amplikon) av fluorescensmerkede prober (torches).

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.

\* Inkluderer varianter av Panther System.

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 promotørsekvens 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 lu/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 på CMV-virusmengderesultater for fullblods prøver når fullblods omregningsfaktor velges på Panther-systemet.

### Sammendrag av sikkerhet og ytelse

SSP (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) er tilgjengelig i den europeiske databasen om medisinsk utstyr (Eudamed), som er koblet til utstyrsidentifikatorene (Basic UDI-DI). Se BUDI (Basic Unique Device Identifier) for å finne SSP (Sammendrag av sikkerhet og ytelse) for Aptima CMV Quant assay: **54200455DIAGAPTCMVAP**.

### 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. Avhending av alle materialer som har vært i kontakt med prøver og reagenser se skje i samsvar med regionale forskrifter.<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. I tilfelle ugyldig resultat på grunn av ML2-feil: Ikke test den ufortynnede plasma-enkeltprøven på nytt. Se *Testeprosedyre for Panther System*, trinn E.5, i dette pakningsvedlegget for instruksjoner om fortynning av plasma-enkeltprøver.
- Merk:** Ved ML2-feil se håndboken for Panther- / Panther Fusion-systemet for instruksjoner om rengjøring med magnetisk vask-stasjon.
- P. Ikke bruk reagenssettet, kalibratoren eller kontrollene etter utløpsdatoen.
- Q. 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.
- R. Unngå mikrobiell og nukleasekontaminasjon av reagenser.
- S. 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.
- T. Ikke kombiner assayreagenser eller væsker uten spesifikk instruksjon. Ikke fyll reagenser eller væsker helt opp. Panther System angir reagensnivåene.
- U. 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.
- V. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.
- Merk:** Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For informasjon om farekommunikasjon som er spesifikk for din region se regionspesifikk SDS på HMS-databladbiblioteket på [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com). Se *symbolforklaringen på <http://www.hologic.com/package-inserts> for å finne ytterligere informasjon om symbolene*

EU fareinformasjon	
—	<p><b>Amplification Reagent</b>  <b>Magnesium Chloride 65–70 %</b></p> <p>—</p> <p>H412 – Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.  P273 – Unngå utslipp til miljøet.  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.</p>
—	<p><b>Enzyme Reagent</b>  <b>Poly(oksi-1,2-etandiyI), .alpha.-[4-(1,1,3,3-tetrametylbutyl)fenyl]-.omega.-hydroksy 1–5 %</b>  <b>HEPES 1–5 %</b></p> <p>—</p> <p>H402 – Skadelig for liv i vann.  P273 – Unngå utslipp til miljøet.  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.</p>
—	<p><b>Enzyme Reconstitution Solution</b>  <b>Glycerol 20–25 %</b>  <b>Poly(oksi-1,2-etandiyI),.alpha.-[4-(1,1,3,3-tetrametylbutyl)fenyl]-.omega.-hydroksy 5–10 %</b>  <b>HEPES 1–5 %</b></p> <p>—</p> <p>H402 – Skadelig for liv i vann.  P273 – Unngå utslipp til miljøet.  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.</p>

<p>—</p>	<p><b>Promoter Reagent</b>  <b>Magnesium Chloride 55–60 %</b></p> <p>H412 – Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann.  P273 – Unngå utslipp til miljøet.  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.</p>
<p>—</p>	<p><b>Target Capture Reagent</b>  <b>HEPES 15–20 %</b>  <b>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10 %</b>  <b>Succinic Acid 1–5 %</b>  <b>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5 %</b></p> <p>H402 – Skadelig for liv i vann.  P273 – Unngå utslipp til miljøet  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.</p>
<p></p> <p></p>	<p><b>Target Enhancer Reagent (TER)</b>  <b>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5–10 %</b></p> <p><b>FARE</b></p> <p>H302 - Farlig ved svelging  H314 - Gir alvorlige etseskader på hud og øyne  P264 – Vask ansikt, hender og eventuelle eksponerte hudområder grundig etter bruk.  P270 – Ikke spis, drikk eller røyk ved bruk av produktet.  P301 + P312 – VED SVELGING: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER eller en lege ved ubehag.  P330 – Skyll munnen.  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.  P260 – Ikke innånd støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler.  P280 – Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.  P301 + P330 + P331 – VED SVELGING: Skyll munnen. IKKE fremkall brekning.  P303 + P361 + P353 – VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann [eller dusj].  P304 + P340 – VED INNÅNDING: Flytt personen ut i frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet.  P305 + P351 + P338 – VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.  P310 – Kontakt umiddelbart GIFTINFORMASJONSSENTRALEN eller en lege.  P321 – Særlig behandling (se førstehjelpsinstruksjoner på etiketten).  P363 – Tilsølte klær må vaskes før de brukes på nytt.  P405 – Oppbevares innelåst.</p>
<p></p>	<p><b>CMV Kit Controls</b>  <b>Human Serum / Human Plasma 95–100 %</b>  <b>Natriumazid &lt; 1 %</b></p> <p>H412 – Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg  P273 – Unngå utslipp til miljøet</p>
<p>—</p>	<p><b>Kit Calibrator</b>  <b>Lauryl Sulfate Lithium Salt 0–10 %</b>  <b>Succinic Acid 0–10 %</b></p> <p>H402 – Skadelig for liv i vann  P273 – Unngå utslipp til miljøet  P501 – Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg.</p>

## 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

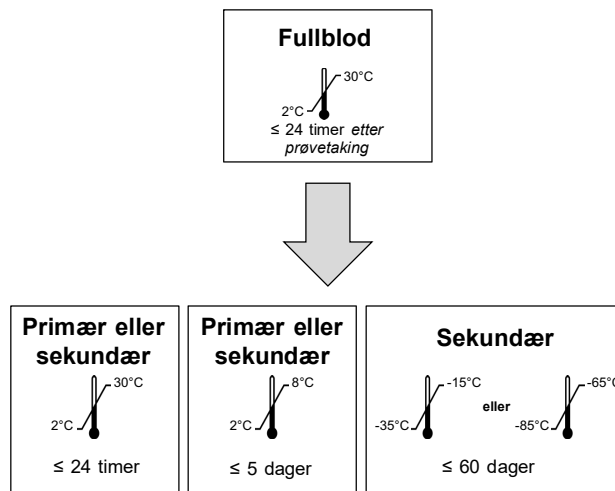
#### 1. EDTA-plasmaprøver

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.

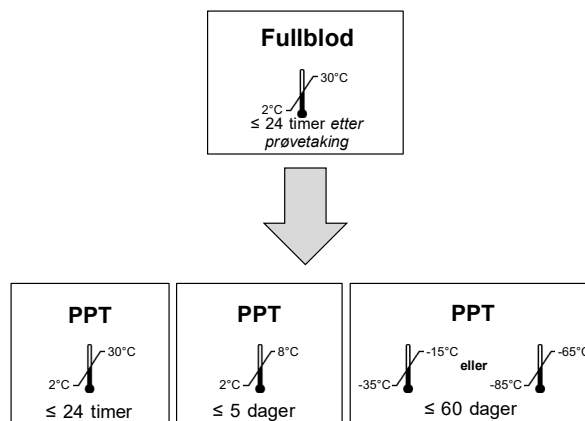


**Figur 1. Oppbevaringsforholdene til EDTA-rørene**

## 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. Fortynning av plasma-enkeltprøver

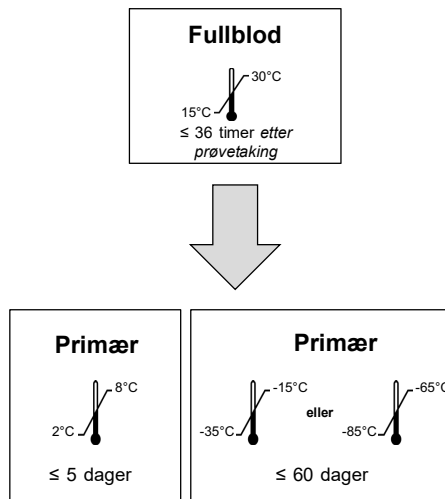
Plasma-enkeltprøve kan fortynnes i SAT- eller sekundærrøret for å bli testet på Panther-systemet. Se *Testprosedyre for Panther-systemet*, trinn E.5 nede for mer informasjon.

**Merk:** Hvis en enkeltprøve fortynnes, bør den testes umiddelbart etter fortynningen. Ikke frys fortynnede enkeltprøver.

### 4. 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 assay-eske, 1 eske med målforbedringsreagens, 1 kalibratorsett og 1 kontrollsett)

**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

**Eske med Aptima CMV Quant-målforbedringsreagens**

(oppbevares ved 15 °C til 30 °C ved mottak)

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

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

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

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

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

Materialer	Kat. nr.
Panther®-system	303095
Panther Fusion®-system	PRD-04172
Panther System, kontinuerlig væske og avfall (Panther Plus)	PRD-06067
Panther-kjøringssett for sanntidsassayer (bare for sanntidsassayer)	PRD-03455 (5000 tester)
<i>Aptima® assayvæskesett (også kalt universalt 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 <i>Ikke alle produktene er tilgjengelige i alle regioner. Kontakt representanten din for regionspesifikk informasjon.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
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	—
Aptima alikvot prøverør (SAT-er (Specimen Aliquot Tubes)) (100 per pakke)	FAB-18184
Transportrørhette (100 pakke) hette for SAT	504415
Aptima-prøvefortynningsmiddel	PRD-03003
Aptima-prøvefortynningssett inneholder Aptima-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

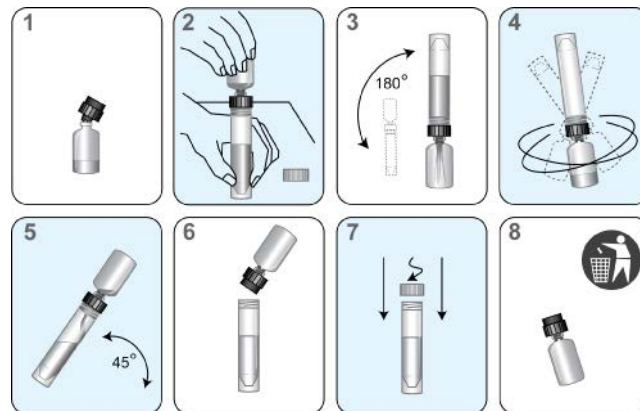
**Merk:** Rekonstitusjon av reagenser skal utføres før du starter arbeidet på Panther System.

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 partinummene 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 4, trinn 8).

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



**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 uforynnede 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 opptil 1200 µl enkeltprøve, eller at hvert sekundære rør inneholder minst 700 µl enkeltprøve. Se tabellen i *Prøvetaking* for å finne krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør. Hvis det er nødvendig å fortynne plasma-enkeltprøven, i tilfeller der prøvolumet er liten og/eller det må gjennomføres gjentatte tester, se trinn E.5 nede for mer informasjon.



## 5. Fortynne plasma-enkeltprøven

En plasma-enkeltprøve kan fortynnes 1:3 i et SAT- eller sekundærrør for å bli testet i Panther-systemet.

## a. Tine opp Aptima CMV-negativ kontroll

- i. Ta ut et rør med negativ kontroll fra oppbevaringen (–15 °C til –35 °C) og la det tine ved 15 °C til 30 °C. Under tiningen skal røret vendes forsiktig for å oppnå grundig blanding. Sørg for at rørrinnholdet er fullstendig tint før bruk.

**Alternativ:** Kontrollrøret kan plasseres på en rørvugge for å blande grundig. Sørg for at rørrinnholdet er fullstendig tint før bruk.

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

## b. Fortynne plasma-enkeltprøven

**Merk:** Hvis en enkeltprøve fortynnes, må den testes umiddelbart etter preparering av fortynningen.

- i. Plasser 240 µl enkeltprøve i SAT-røret.
- ii. Tilsett 480 µl negativ kontroll.
- iii. Sett hette på røret.
- iv. Vend røret forsiktig 5 ganger for å blande.

Enkeltprøver som er fortynnet 1:3, kan testes med 1:3-alternativet på Panther-systemet (se *Håndboken for Panther-/Panther Fusion-systemet* for å finne mer informasjon). Programvaren rapporterer automatisk det ufortynnede resultatet ved å multiplisere med fortynningsfaktoren. Disse enkeltprøvene blir flagget som fortynnede enkeltprøver.

## 6. 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 fullblods-røret 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

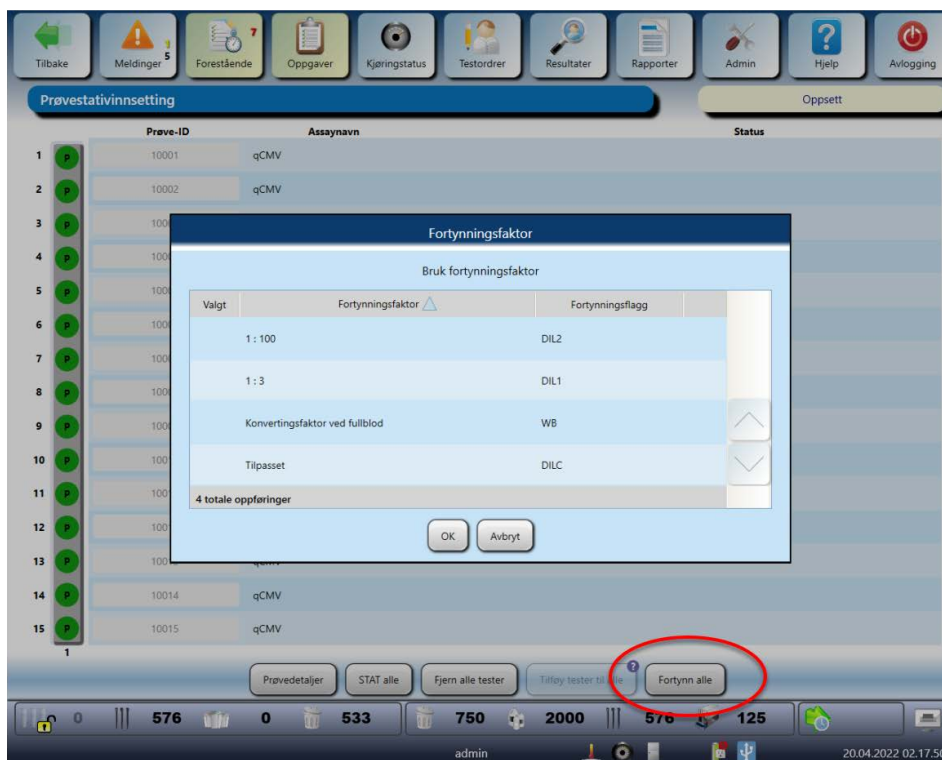
1. Sett opp systemet i henhold til instruksjonene i *Håndbok for Panther-/Panther Fusion System* og *Prosedyrenotater*. Sørg for at det brukes reagensstativ med riktige størrelser og TCR-adaptore.
2. Last prøvene inn på prøvestativet. Utfør følgende trinn for hvert prøverør (prøve, og når nødvendig, 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 nivågjennenningsfunksjon.
  - 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 *Operatørhåndbok for Panther- / Panther Fusion-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 konverteringsfaktoren til fullblodsprøver på hele stativet med fullblodsprøver:

- a. 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.
- b. Velg **Dilute All (Fortynn alle)**.  
Vinduet Dilution Factor (Fortynningsfaktor) vises.



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

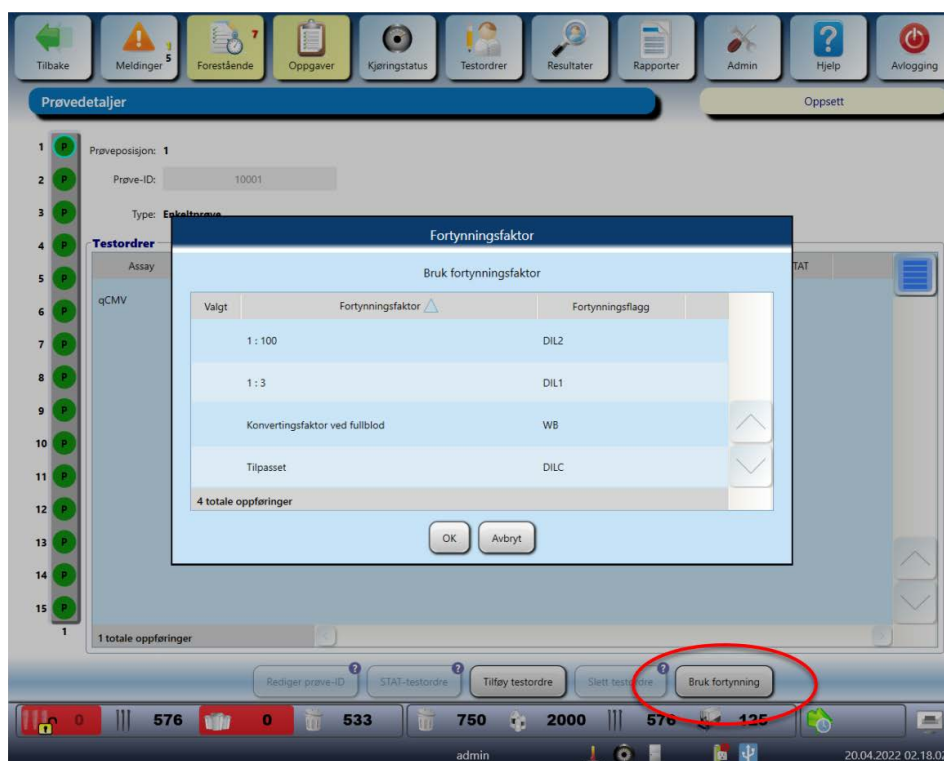
- c. Velg **Whole Blood Conversion Factor (Konverteringsfaktor til fullblodsprøver)**
- d. Velg **OK**.

Vinduet *Set Dilution Factor for Rack* (Angi fortynningsfaktor for stativ) vises.

- e. Velg **Yes (Ja)** for å bruke konverteringsfaktoren til fullblodsprøver på hele stativet med fullblodsprøver.

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

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

I tilfelle ugyldig resultat på grunn av ML2-feil: Ikke test den ufortynnede plasma-enkeltprøven på nytt. Se *Testeprosedyre for Panther System*, trinn E.5, i dette pakningsvedlegget for instruksjoner om fortynning av enkeltprøven.

**Merk:** Ved ML2-feil se håndboken for Panther- / Panther Fusion-systemet for instruksjoner om rengjøring med magnetisk vask-stasjon.

## 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 kalibratorreplikatenes 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/interne 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-systemet bestemmer automatisk konsentrasjonen av CMV-DNA i enkeltprøver 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. Hvis fullblod- eller plasmafortynningsalternativet brukes i Panther-systemet, beregner programmet automatisk CMV-DNA-konsentrasjonen for ufortynnet prøve ved å multiplisere den fortynnede konsentrasjonen med fortynningsfaktoren. Prøveresultatene vil bli flagget.

**Merk:** For fortynnede plasma-enkeltprøver kan det genereres resultater som står oppført som «Ikke detektert» eller «< 53 detektert», hvis man fortynner en enkeltprøve med en konsentrasjon over, men nærme LoD (deteksjonsgrensen) eller LLoQ (nedre kvantifiseringsgrense). Det anbefales å ta og teste en annen ufortynnet enkeltprøve hvis et kvantitativt resultat ikke oppnås.

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.

**Merk:** For fortynnede plasma-enkeltprøver rapporterer Panther-systemet resultater som er større enn ULoQ (øvre kvantifiseringsgrense), i vitenskapelig notasjon hvis resultatet for den fortynnede enkeltprøven er innenfor assay-området før multiplikasjon med fortynningsfaktoren.

Akseptkriteriene for hver Aptima CMV Quant assaykontroll er forklart i Tabell 3.

**Merk:** Gjenvinningsområdet angitt nede forskyves med verdien som er tildelt partiet. For den tildelte konsentrasjonen se strekkodearket for kontrollene som ligger i esken med kontroller.

Tabell 3: Akseptkriterier for gjenvinningsområde for Aptima CMV Quant-assay

Komponent	Gjenvinningsområde for gyldige kjøring
Negativ kontroll	–
Lavpositiv kontroll	+/- 0,6 log <sub>10</sub> kopier/ml
Høypositiv kontroll	+/- 0,5 log <sub>10</sub> kopier/ml



**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.

## Analytisk 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>

### Deteksjonsgrense ved bruk av WHO's 1. internasjonale standarder for plasma

LoD ble fastslått ved å teste paneler fra den WHO's 1. internasjonale standard (NIBSC kode 09/162)<sup>21</sup> for CMV 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 4 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagte deteksjonsgrense. LoD for Aptima CMV Quant-assay med bruk av VHO's 1. internasjonale standard er 40,7 IU/ml for plasma.

Tabell 4: Deteksjonsgrensen for plasma ved bruk av VHO's 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

### Deteksjonsgrense ved bruk av WHO's 1. internasjonale standarder i fullblod

LoD ble bestemt med testepaneller til VHO's 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 5 er resultater fra reagenspartiet med høyeste forutsagte deteksjonsgrense. LoD for Aptima CMV Quant-assay med bruk av VHO's 1. internasjonale standard er 131,0 IU/ml for fullblod.

Tabell 5: Deteksjonsgrensen for fullblod ved bruk av WHO's 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 glykoprotein B-sekvens<sup>7</sup> (gB-2, gB-3, gB-4) og medikamentresistente mutanter ved å teste forskjellige konsentrasjoner av CMV rundt den fastslåtte LoD for plasma ved bruk av WHO's 1. internasjonale standard (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 assay med medikamentresistente mutanter av CMV ble bare evaluert i plasmaprøver.

Tabell 6: Deteksjonsgrense til CMV-genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

Genotyper/mutanter	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 letermovir (LET)-resistans.

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

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

LoD ble verifisert for tre forskjellige glykoprotein B-genotyper (gB-2, gB-3 og gB-4) ved å teste forskjellige konsentrasjoner av CMV rundt den fastslåtte LoD for fullblod ved bruk av WHO's 1. internasjonale CMV-standard (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, var 150 IU/ml ved bruk av begge reagenspartiene.

Tabell 7: Deteksjonsgrensen på tvers av CMV-genotyper i fullblod

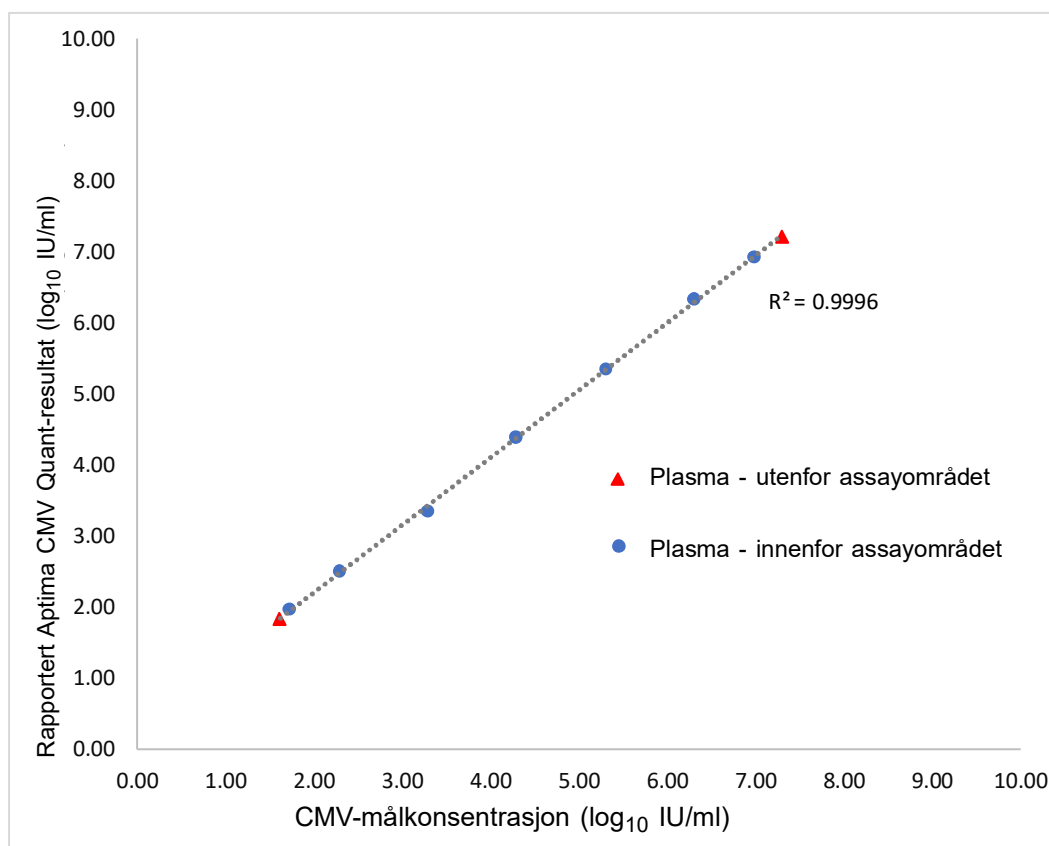
Genotype	Konsentrasjon (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Samlet LoD i fullblod er 150 IU/ml.

## Lineært område

### Lineært område i plasma

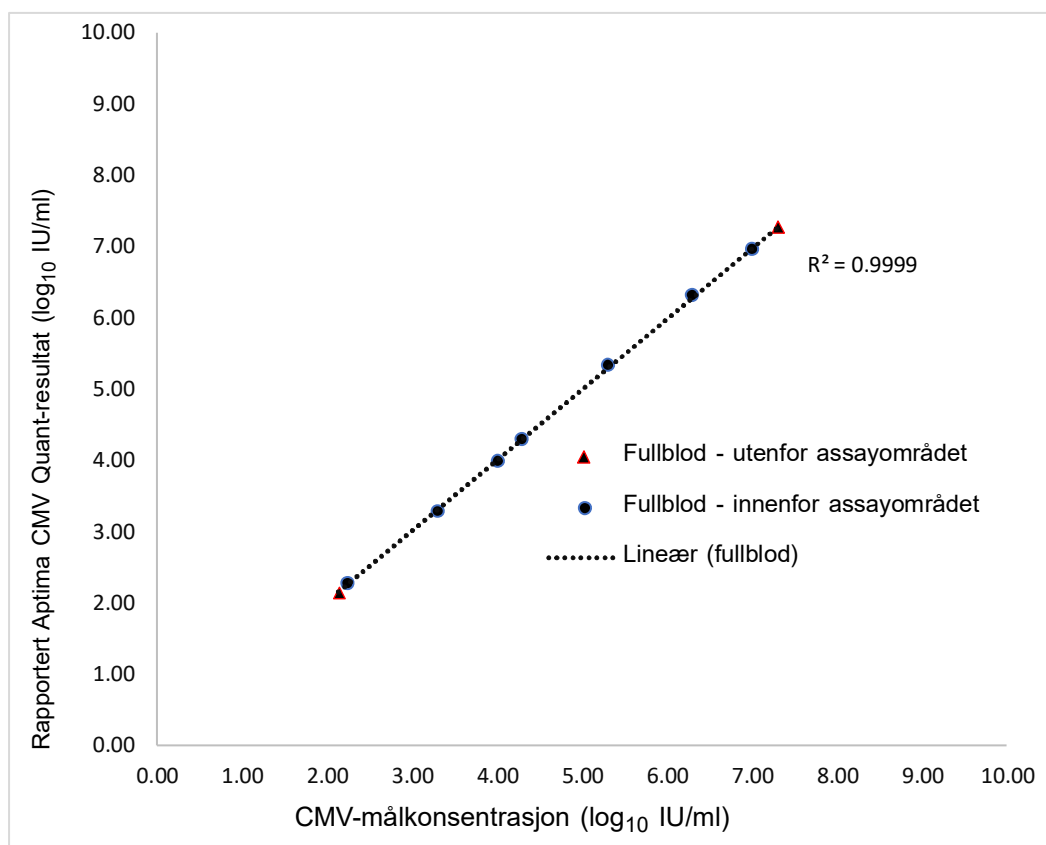
Det lineære området ble fastslått ved å teste paneler med CMV fortynnet i CMV negativt humant plasma i henhold til CLSI EP06-A.<sup>15</sup>-paneler, med konsentrasjon fra 1,62 log<sub>10</sub> IU/ml til 7,30 log<sub>10</sub> IU/ml. Aptima CMV Quant-assayet utviste linearitet på tvers av det målte området. Den øvre grensen for kvantifisering (ULoQ) til assayet er 7 log<sub>10</sub> 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 fortennet i CMV negativt humant fullblod i henhold til CLSI EP06-A.<sup>15</sup>-paneler, med konsentrasjon fra 2,15 log<sub>10</sub> IU/ml til 7,3 log<sub>10</sub> 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<sub>10</sub> IU/ml som vist i Figur 8.

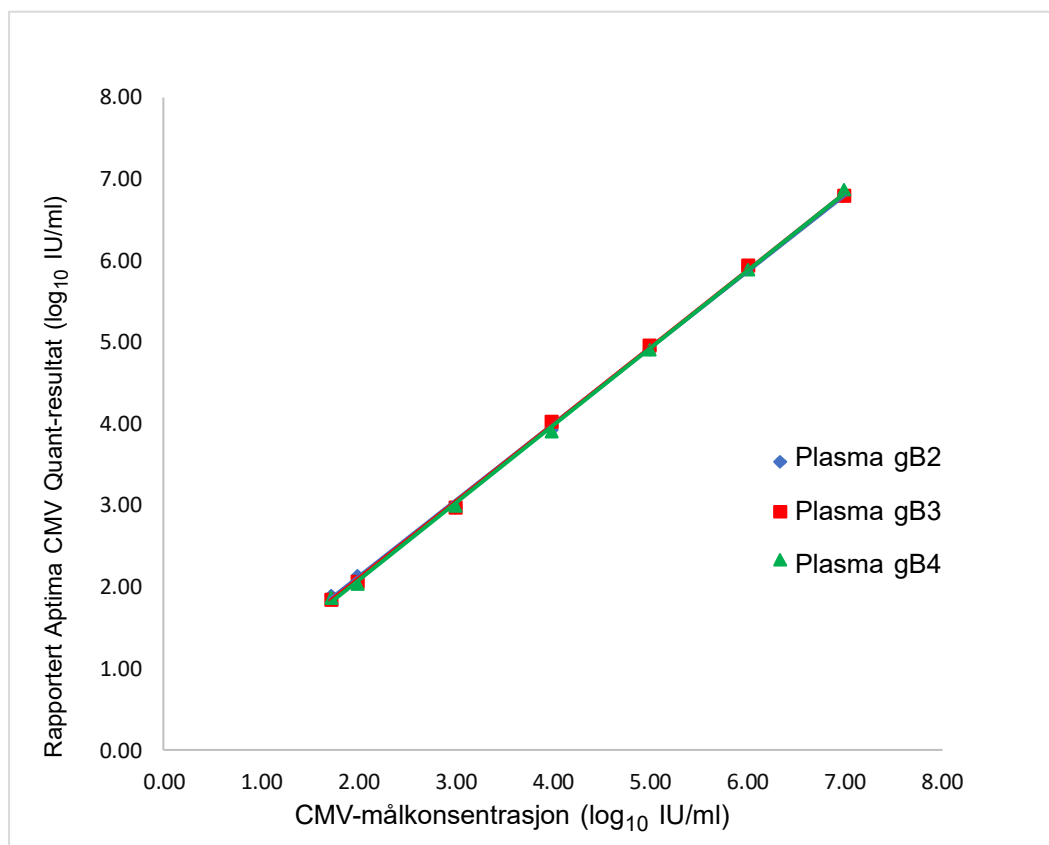


**Figur 8. Linearitet i fullblod**

## Linearitet på tvers av CMV-genotyper

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

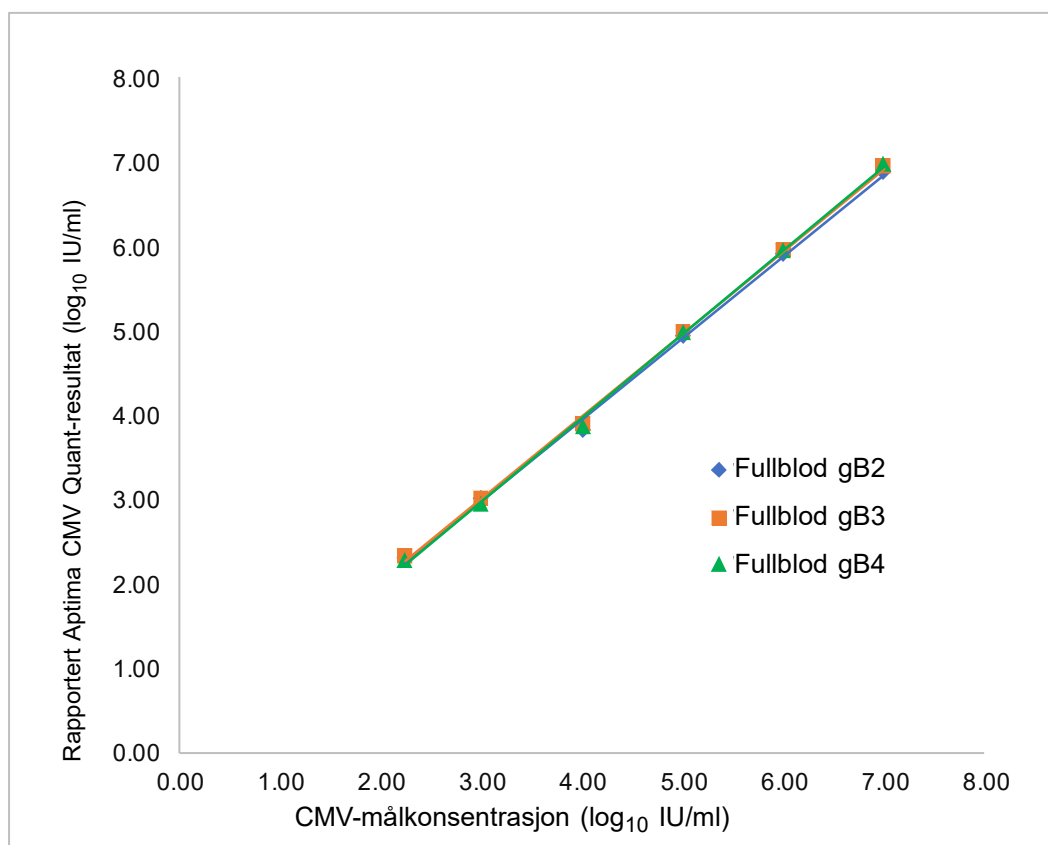
Lineariteten til glykoprotein genotyper gB-2, gB-3 og gB-4 ble bekreftet ved å teste paneler med CMV fortynnet i CMV negativ buffer med konsentrasjoner fra 1,72  $\log_{10}$  IU/ml til 7,00  $\log_{10}$  IU/ml. Lineariteten ble vist på tvers av området som ble testet for alle genotyper som ble testet, 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<sub>10</sub> IU/ml til 7,00 log<sub>10</sub> 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 WHO's 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<sub>10</sub> IU/ml (dvs. ved LLoQ er forskjellen mellom to målinger på mer enn 1 log<sub>10</sub> IU/ml statistisk signifikant).

## Nedre kvantifiseringsgrense med WHO's 1. internasjonale standard i plasma

LLoQ ble fastslått ved å teste paneler fra den WHO's 1. internasjonale standard (NIBSC kode 09/162, genotype gB-1)<sup>21</sup> 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 8. Resultatene fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjon som oppfyller TE-kravene og ≥ 95 % deteksjon, er summert i Tabell 9. LLoQ generert med WHO's 1. internasjonale standard for CMV i plasma er 53 IU/ml.

Tabell 8: Bestemmelse av LLoQ ved bruk av WHO's 1. internasjonale standard for CMV-fortynnet i plasma

Reagensparti	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	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=standardavvik

Panelelementer som tilfredsstillt nøyaktighetsmålet (TE ≤ 1) og ≥ 95 % deteksjon for reagenspartier 1, 2 og 3 er skyggelagt.

Tabell 9: Sammendrag for LLoQ for plasma ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV

Reagensparti	(IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

**Nedre grense for kvantifisering med WHOs 1. internasjonale standard for 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 10. Resultatene fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjon som oppfyller TE-kravene og  $\geq 95$  % deteksjon, er summert i Tabell 10. LLoQ generert med VHOs 1. internasjonale standard for CMV i fullblod er 176 IU/ml.

Tabell 10: 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 <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)
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 tilfredsstillter nøyaktighetsmålet (TE  $\leq 1$ ) og  $\geq 95$  % deteksjon for reagenspartier 1, 2 og 3 er skyggelagt.

Tabell 11: Sammendrag for LLoQ for fullblod ved bruk av VHOs 1. internasjonale standard for CMV

Reagensparti	(IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

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

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

LLOQ fastslått ved bruk av WHOs 1. internasjonale standard ble verifisert ved å teste fortyninger av CMV-genotyper gB-2, gB-3, gB-4 og medikamentresistente mutanter i CMV-negativt humant plasma. 60 replikater av hvert panelmedlem ble testet med ett reagensparti. Resultatene vises i Tabell 12. Den beregnede LLoQ for genotypene gB-2, gB-3, gB-4 og medikamentresistente mutanter fra reagenspartiet med den høyeste konsentrasjonen som tilfredsstillte TE-kravene og  $\geq 95\%$  deteksjon, er oppsummert i Tabell 12. Samlet LLoQ for plasma i dette assayet er 53 IU/ml.

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

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

Genotyper/ mutanter	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)
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

Tabell 12: Fastslåelse av LLoQ til genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma (fortsett)

Genotyper/ mutanter	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)
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
Medikament- resistent 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
Medikament- resistent 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=standardavvik

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

Tabell 13: Sammendrag av LLoQ til genotyper og medikamentresistente mutanter i plasma

Genotyper/mutanter	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 fastslått ved bruk av WHO's 1- internasjonale Standard ble verifisert ved å teste fortykning av CMV-genotyper gB-2, gB-3, gB-4 i CMV negativt humant fullblod. 60 replikater av hvert panelement ble testet med ett reagensparti. Resultatene vises i Tabell 14. 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 15. Samlet LLoQ for fullblod i dette assayet er 176 IU/ml.

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

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)
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 15: Sammendrag av LLoQ på tvers av genotyper i fullblod

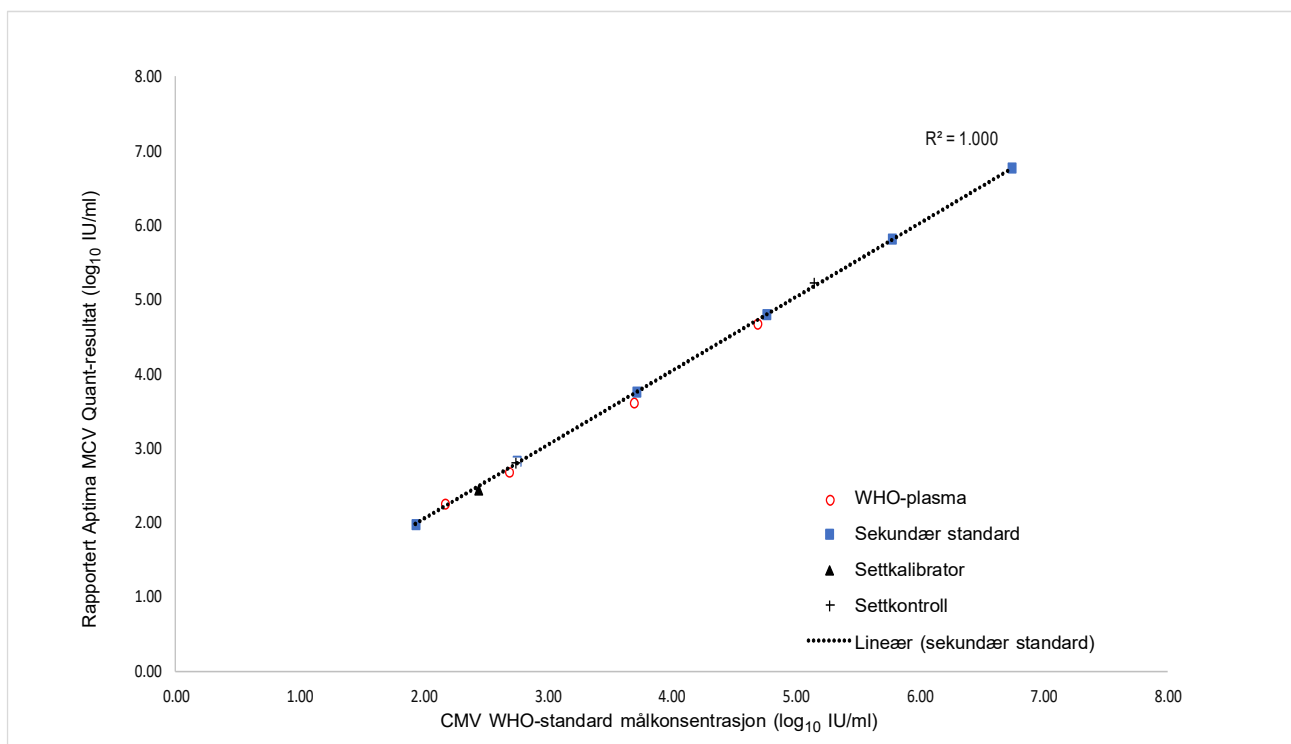
Genotype	LLoQ	
	(IU/ml)	(log <sub>10</sub> IU/ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

## Sporbarhet til WHOs 1. internasjonale standard

En rekke med sekundære standarder med kjente konsentrasjoner ble brukt under hele produktutviklingen og produktproduksjonen for å etablere sporbarhet til WHOs 1. internasjonale standard. WHOs 1. internasjonale CMV-standard ble fortynnet og testet sammen med de sekundære standardene, samt assaykontrollene og kalibratorene brukt i Aptima CMV Quant-assayet for å evaluere sporbarhet iht. CLSI EP32-R.<sup>16</sup> De sekundære standardene har konsentrasjoner fra 1,80 til 6,60 log<sub>10</sub> IU/ml.

### Sporbarhet til WHOs 1. internasjonale standard ved bruk av plasma

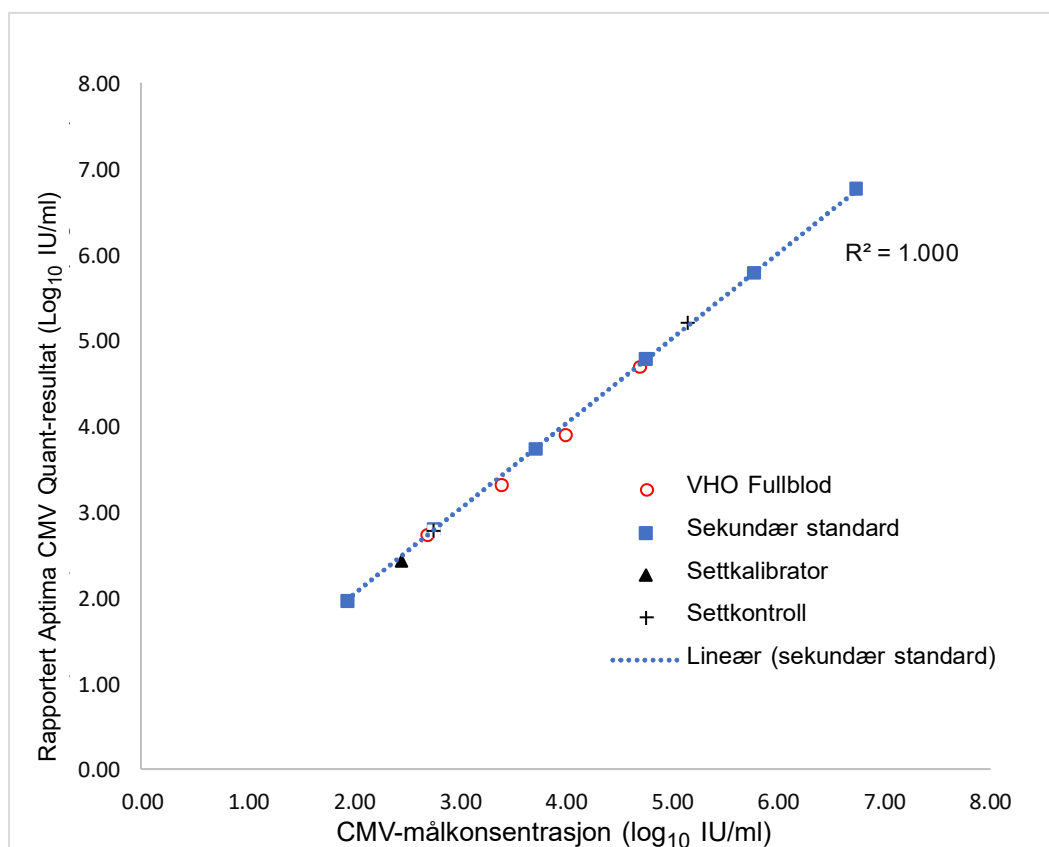
Konsentrasjonene testet for WHOs 1. internasjonale CMV-standard var mellom 2,18 og 4,70 log<sub>10</sub> IU/ml. WHO-plasmapanelene, de sekundære standarder, assaykontrollene og assaykalibratorene ble gjenvunnet som forventet over hele det lineære området til assayet, som man kan se i Figur 11.



**Figur 11. Sporbarhet mellom målkonsentrasjoner av WHOs 1. internasjonale CMV-standard og rapporterte konsentrasjoner i Aptima CMV Quant-assayet (WHO-standard fortynnet i plasma)**

### Sporbarhet til WHO's 1. internasjonale standard ved bruk av fullblod

Konsentrasjonene testet for WHO's 1. internasjonale CMV-standard i fullblod var mellom 2,70 og 4,70 log<sub>10</sub> IU/ml. Fullblodpanelene med WHO-standarder, sekundære standarder, assaykontroller og assaykalibratorer ble gjevunnet som forventet over hele det lineære området til assayet, som man kan se i Figur 12.



**Figur 12. Sporbarhet mellom målkonsentrasjoner av WHO's 1. internasjonale CMV-standard og rapporterte konsentrasjoner i Aptima CMV Quant-assayet (WHO-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 16 viser presisjonen til assayresultatene (i  $\log_{10}$  IU/ml) mellom instrumenter, mellom operatører, mellom reagenspartier, mellom kjøring, mellom dager, innen kjøring og totalt. Total variabilitet skyldtes hovedsakelig variabiliteten innenfor kjøring (dvs. tilfeldig feil).

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

N	Middels konsentrasjon ( $\log_{10}$ 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 17 viser nøyaktigheten i assayresultater (i  $\log_{10}$  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 17: Nøyaktigheten til Aptima CMV Quant-assayet i fullblod

N	Middels konsentrasjon (log <sub>10</sub> 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 gjennom forhøyede nivåer av endogene stoffer, antikoagulanter eller av legemidler ofte foreskrevet for transplantatpasienter, ble evaluert. Testkonsentrasjonene ved hvert av de interfererende stoffene ble valgt basert på tilgjengelige litteraturreferanser og retningslinjer 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<sub>10</sub> IU/ml og 3,30 log<sub>10</sub> IU/ml ble testet. CMV-negative fullblodsprøver og prøver tilsatt CMV til en konsentrasjon på 2,72 og 4,00 log<sub>10</sub> IU/ml av CMV-DNA ble testet for hemoglobin

Ingen interferens ble observert i assayytelsen i plasmaprøver i nærvær av albumin (60 mg/ml), hemoglobin (10 mg/ml), triglycerider (15 mg/ml), ukonjugert bilirubin (0,4 mg/ml) eller human genom DNA (2 µg/ml). Ingen interferens ble observert i assayytelsen 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 18 ble testet med Aptima CMV Quant-assayet. Ingen interferens ble observert i assayytelsen.

Tabell 18: 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 19 med konsentrasjoner på minst tre ganger  $C_{maks}$  i legemidler i humant plasma.

Tabell 19: 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 assay for plasma og fullblod var 99,9 % (779/780, 95 % KI:) 99,3–100 %).

Tabell 20: 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 21 ble evaluert i CMV negativt humant plasma i nærvær eller fravær av 2,2 log<sub>10</sub> IU/ml og 3,3 log<sub>10</sub> IU/ml CMV. Tre blodparasitter funnet i fullblodsprøver ble evaluert i CMV negativt humant fullblod i nærvær eller fravær av 2,7 log<sub>10</sub> IU/ml og 4,0 log<sub>10</sub> IU/ml CMV. Patogener ble testet ved den høyeste tilgjengelige konsentrasjonen. Ingen kryssreaktivitet eller interferens ble observert.

Tabell 21: 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>	
<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	

<sup>a</sup>TCID50/ml = Tissue culture infectious dose-enheter per ml

<sup>b</sup>cp/ml = Viruskopier per ml

<sup>c</sup>IU/ml = Internasjonale enheter per ml

<sup>d</sup>CFU/ml = Kolonidannende enheter per ml

\*testet med fullblodsprøve

**Plasmaprøvefortynning med Aptima CMV-negativ kontroll (1:3)**

For å bestemme kvantifiseringsnøyaktigheten av CMV-DNA i plasmaprøver fortynnet med Aptima CMV-negativ kontroll, ble prøver med konsentrasjoner fordelt over hele det lineære området fortynnet 1:3 med Aptima CMV-negativ kontroll (240 µl prøve kombinert med 480 µl Aptima CMV-negativ kontroll). Ufortynnede og fortynnede enkeltprøver ble testet i triplikat. Testing ble utført med ett parti reagenser på ett Panther-system med to partier Aptima CMV-negativ kontroll. Differansen mellom de ufortynnede og fortynnede testresultatene ble beregnet for hvert prøvesett, som vist i Tabell 22. Prøvekonsentrasjonene ble nøyaktig gjenopprettet i de fortynnede prøvene etter multiplikasjon med fortynningsfaktoren.

Tabell 22: Repeterbarhet av kliniske plasma-enkeltprøver fortynnet i negativ kontroll

Ufortynnet plasma-enkeltprøve Gj.sn. rapportert konsentrasjon (log <sub>10</sub> IU/ml) n = 3	Fortynnet plasma-enkeltprøve Gj.sn. rapportert konsentrasjon (log <sub>10</sub> IU/ml) n = 6	Differanse (log <sub>10</sub> IU/ml)
2,30	2,42 <sup>a</sup>	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 <sup>b</sup>	6,95	0,05
> ULoQ <sup>c</sup>	7,41 <sup>d</sup>	–

<sup>a</sup>Resultat fra to replikater. Fire resultater var «Detektert», men ikke kvantifisert.

<sup>b</sup>Resultat fra to replikater. Ett resultat var «Detektert», men ikke kvantifisert fordi det var > ULoQ.

<sup>c</sup>Tre resultater var «Detektert», men ikke kvantifisert fordi de var > ULoQ.

<sup>d</sup>Resultat fra fire replikater. To resultater var «Detektert», men ikke kvantifisert fordi de var > ULoQ.

## Bekreftelse av LoD og LLoQ ved bruk av WHO's 1. internasjonale CMV-standard fortynnet i Aptima CMV-negativ kontroll

LoD og LLoQ av Aptima CMV Quant-assayet ble bekreftet med WHO's 1. internasjonale CMV-standard (NIBSC-kode 09/162) i plasma, fortynnet 1:3 med Aptima CMV-negativ kontroll. Prøvene ble preparert i CMV-negativt humant plasma med CMV-konsentrasjoner på 90, 105, 120, 135, 150 og 165 IU/ml. Hvert panel ble fortynnet 1:3 i Aptima CMV-negativ kontroll rett før testing, til en sluttkonsentrasjon på ca. 30, 35, 40, 45, 50 og 55 IU/ml. Tilsammen 60 replikater av hvert panelmedlem ble testet med ett reagensparti over tre dager. Total feil ble anslått ved bruk av Westgard-modellen: Total feil (TE) = |bias| + 2 SD. Alle prøver med en konsentrasjon på  $\geq 45$  IU/mL hadde deteksjon på  $\geq 95$  % og total feil (TE) på  $\leq 1 \log_{10}$  IU/ml, som vist i Tabell 23. Det bekrefter LLoQ-grensen for CMV ved prøver fortynnet med negativ kontroll.

Tabell 23: LoD og LLoQ for plasmaprøver fortynnet 1:3 med negativ kontroll

N	% detektert	Mål-konsentrasjon etter 1:3-fortynning	Mål-konsentrasjon etter 1:3-fortynning	Aptima CMV Quant for fortynnet enkeltprøve	SD	Bias	Beregnet TE
		(IU/ml)	( $\log_{10}$ IU/ml)	( $\log_{10}$ IU/ml)			
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

## Overføring

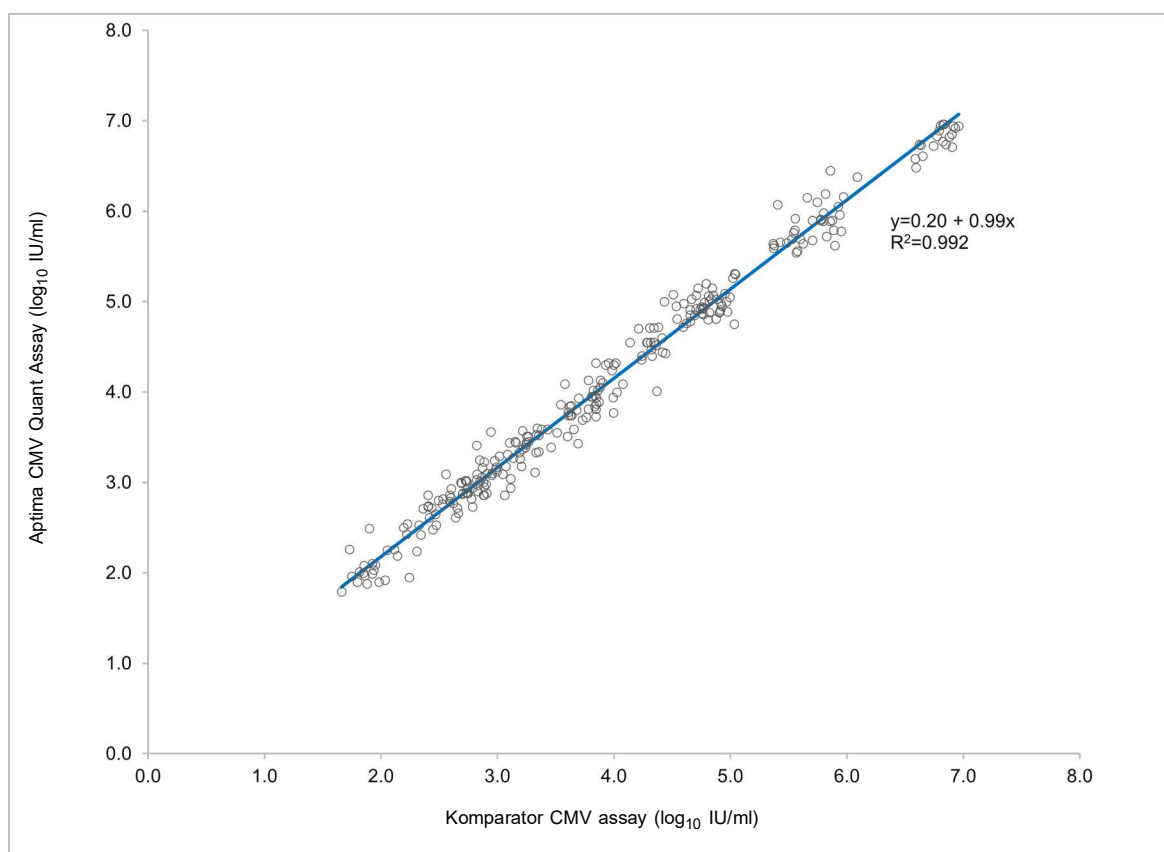
Overføringsforurensning ble evaluert for Panther-systemet ved bruk av plasma som en prøvetype ved bruk av andre virusmengdeassayer (Aptima HIV-1 Quant Dx assay, Aptima HCV Quant assay, Aptima HBV Quant assay). Ingen overføringskontaminasjon ble observert i tidligere testing. For å fastslå at Panther 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 ( $6 \log_{10}$  IU/ml) innsatt mellom CMV negative prøver i et sjakkbrettmonster. Testingen ble utført over tolv kjøring. Den totale overføringsfrekvensen var 0,24 % (1/423).

## Metodekorrelasjon

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

### Plasmametodekorrelasjon

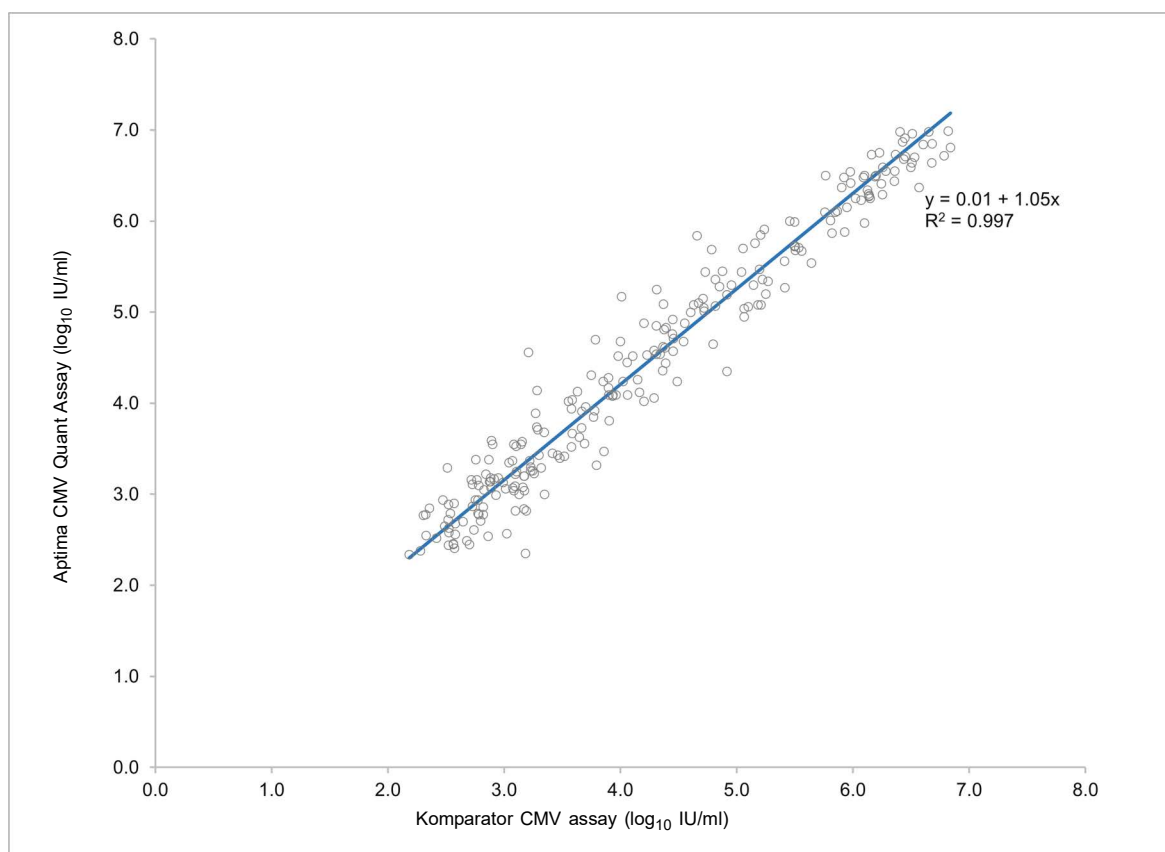
Ytelsen til Aptima CMV Quant assay ble vurdert i forhold til komparator CMV assay ved å teste uforynnede kliniske enkeltprøver fra CMV-positive pasienter og konstruerte enkeltprøver fremstilt fra forskjellige stammer med dyrket virus som tilhører alle fire genotyper med tilsetning i individuelt donornegativt EDTA-plasma. Til sammen 160 kliniske prøver og 115 konstruerte prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assayene, ble bruk til Deming-regresjon som vist i Figur 13.



**Figur 13. Korrelasjon mellom CMV-virusmengde i Aptima CMV Quant assay og komparator CMV assay ved testing av plasmaprøver**

### Metodekorrelasjon ved fullblod

Ytelsen til Aptima CMV Quant assay ble vurdert i forhold til komparator CMV assay ved å teste uforynnede kliniske enkeltprøver fra CMV-positive pasienter og konstruerte enkeltprøver fremstilt fra dyrket virus med tilsetning i individuelt donornegativt EDTA-fullblod. Til sammen 159 kliniske prøver og 83 konstruerte prøver innenfor det lineære området som er felles for begge assayene, ble bruk til Deming-regresjon som vist i Figur 15.



**Figur 14. Korrelasjon mellom CMV-virusmengde i Aptima CMV Quant assay og komparator 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 24 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 24: 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 25 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 25: 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 kjøringer	Innen kjøringer	
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.

## Klinisk ytelse

### Klinisk samsvar

Den kliniske ytelsesstudien ble utformet for å vurdere det kliniske samsvaret mellom Aptima CMV Quant assay og en godkjent komparatortest. Under den prospektive multisenterstudien på åtte kliniske steder, ble plasmaprøver tatt fra mottakere av solid organtransplantasjon (SOTR-er) og mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon (HSCTR-er) som gjennomgår CMV-overvåking ved rutinemessig klinisk praksis. I tillegg ble det skaffet frosne restprøver fra SOTR-er og HSCTR-er fra leverandører av kliniske prøver.

Av 88 personer som var innmeldt i den prospektive studien, kunne seks personer ikke evalueres fordi de trakk seg (n = 5) eller ikke hadde gyldige prøveresultater med Aptima CMV Quant assay og den godkjente testen (n = 1). Tabell 26 viser de demografiske og baselinje kliniske egenskapene til de 82 evaluerbare personene.

Tabell 26: Demografiske og baselinje kliniske egenskaper samlet og etter transplantattype

Egenskaper		SOTR-er	HSCTR-er	Alle
Samlet, N		62	20	82
Kjønn, n (%)	Mann/mannlig	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Kvinne/kvinnelig	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Alder (år)	Middelverdi ± (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
Etnisitet, n (%)	Latinamerikansk	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Ikke latinamerikansk	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Ukjent	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Rase, n (%)	Amerikansk urbefolkning / Urbefolkning (Alaska)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiatisk	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Svart eller afroamerikansk	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Urbefolkning (Hawaii) / Stillehavsboer	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Hvit	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Annet	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Ukjent	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Type organ, n (%)	Nyre	25 (40,3)	--	--
	Lever	15 (24,2)	--	--
	Lunge	10 (16,1)	--	--
	Hjerte	12 (19,4)	--	--

Tabell 26: Demografiske og baselinje kliniske egenskaper samlet og etter transplantattype (fortsatt)

Egenskaper		SOTR-er	HSCTR-er	Alle
Type stamcelle, n (%)	Allogen	--	18 (90,0)	--
	Autolog	--	2 (10,0)	--
CMV serologistatus, n (%)	Donor positiv / mottaker negativ	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Donor negativ / mottaker positiv	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Donor positiv / mottaker positiv	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
CMV antiviral behandling, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Dager med CMV antiviral				
	n	41	12	53
	Middelverdi	13,6	13,3	13,5
	Median	11	9,5	11
	Minimum	1	1	1
	Maksimum	47	45	47

HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, SD = standard avvik, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

I den prospektive studien ble 365 plasmaprøver tatt fra 82 evaluerbare personer. I tillegg ble det skaffet 261 frosne restprøver fra leverandører av kliniske prøver. Av de 626 kliniske plasmaprøvene (dvs. prøver tatt i den prospektive studien kombinert med de frosne restprøvene), ble 597 parete (dvs. med gyldig resultat for både Aptima CMV Quant assay og den godkjente testen) de kliniske plasmaprøvene tatt med i samsvarsanalyser. Av de 597 parede kliniske prøvene, ble 339 prøver tatt i den prospektive studien og 258 var frosne restprøver. Samsvarsanalyser ble utført separat på 181 parede prøver tatt fra personer etter at de har satt i gang med CMV antiviral behandling som en del av deres rutinemessige pleie under den prospektive studien.

Tabell 27 Viser samsvarsanalysen og prosentvist samsvar mellom Aptima CMV Quant assay og den godkjente testen ved forskjellige terskler (samlet og etter transplantatgruppe). Samsvarsanalyse ved forskjellige virusmengdeintervaller (samlet og etter transplantatgruppe) vises i Tabell 28. Fire av 597 samlede resultater viste seg å avvike på tvers av mer enn den tilstøtende kategorien. Tre av disse var fra HSCTR-er.

Tabell 27: Samsvarsanalyse og prosentvist samsvar ved forskjellige terskler (samlet og etter transplantatgruppe)

Transplantat Gruppeterskel	N <sup>a</sup>	Komparator <sup>b</sup> - og Aptima CMV Quant-resultater				PPA % (n/N) [95 % KI] <sup>c</sup>	NPA % (n/N) [95 % KI] <sup>c</sup>
		Komp <sup>≥</sup> ACMV <sup>≥</sup>	Komp <sup>&lt;</sup> ACMV <sup>≥</sup>	Komp <sup>&lt;</sup> ACMV <sup>&lt;</sup>	Komp <sup>≥</sup> ACMV <sup>&lt;</sup>		
Samlet							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml (137 IU/ml) <sup>d</sup>	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2, 99,8]	86,0 (295/343) [81,9, 89,3]
2,7 log <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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]
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml (137 IU/ml) <sup>d</sup>	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4, 99,7]	87,3 (178/204) [82,0, 91,2]
2,7 log <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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]
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml (137 IU/ml) <sup>d</sup>	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5, 100]	84,2 (117/139) [77,2, 89,3]
2,7 log <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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, KI = konfidensintervall, Komp = komparator assay, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, NPA = negativt prosentvist samsvar, PPA = positivt prosentvist samsvar, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon, TND = mål ikke detektert

**Merknader:**

≥: Resultat er større eller lik den gitte terskelverdien

<: Resultat er mindre enn den gitte terskelverdien

PPA summerer resultater som er større eller lik den gitte terskelen. NPA summerer resultater som er mindre enn den gitte terskelen.

<sup>a</sup> Antall parede kliniske prøver (prøver tatt i den prospektive studien kombinert med frosne restprøver skaffet fra leverandører av kliniske prøver).

<sup>b</sup> godkjent test

<sup>c</sup> Score KI

<sup>d</sup> LLoQ er en alternativ godkjent test

Tabell 28: Samsvarsanalyse ved forskjellige virusmengdeintervaller (samlet og etter transplantatgruppe)

Transplantatgruppe Resultat fra Aptima CMV assay	Komparator <sup>b</sup> -resultat (log <sub>10</sub> IU/ml)						
	Samlet <sup>a</sup> , N	TND	Detektert, < 2,1	≥ 2,1 til < 2,7	≥ 2,7 til < 3,3	≥ 3,3 til < 3,9	≥ 3,9
<b>Samlet</b>							
Samlet antall parede prøver, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml <sup>c</sup>	140	13	125	2	0	0	0
≥ 2,1 til < 2,7 log <sub>10</sub> IU/ml	105	0	46	54	5	0	0
≥ 2,7 til < 3,3 log <sub>10</sub> IU/ml	82	0	2 <sup>d</sup>	34	45	1	0
≥ 3,3 til < 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	56	0	0	1 <sup>d</sup>	18	37	0
≥ 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	57	0	0	0	1 <sup>d</sup>	11	45
<b>SOTR-er</b>							
Samlet antall parede prøver, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml <sup>c</sup>	81	9	70	2	0	0	0
≥ 2,1 til < 2,7 log <sub>10</sub> IU/ml	69	0	26	39	4	0	0
≥ 2,7 til < 3,3 log <sub>10</sub> IU/ml	60	0	0	25	34	1	0
≥ 3,3 til < 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	43	0	0	0	15	28	0
≥ 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	51	0	0	0	1 <sup>d</sup>	9	41
<b>HSCTR-er</b>							
Samlet antall parede prøver, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml <sup>c</sup>	59	4	55	0	0	0	0
≥ 2,1 til < 2,7 log <sub>10</sub> IU/ml	36	0	20	15	1	0	0
≥ 2,7 til < 3,3 log <sub>10</sub> IU/ml	22	0	2 <sup>d</sup>	9	11	0	0
≥ 3,3 til < 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	13	0	0	1 <sup>d</sup>	3	9	0
≥ 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	6	0	0	0	0	2	4

HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon, TND = mål ikke detektert  
<sup>a</sup> Antall parede kliniske prøver (prøver tatt i den prospektive studien kombinert med frosne restprøver skaffet fra leverandører av kliniske prøver).  
<sup>b</sup> godkjent test  
<sup>c</sup> LLoQ er en alternativ godkjent test  
<sup>d</sup> Fire av 597 samlede resultater viste seg å avvike på tvers av mer enn den tilstøtende kategorien. 1 av de 4 var fra en SOTR, og 3 av de 4 var HSCTR-er. Av de 2 HSCTR-ene som gjennomgikk testing med alternativ NAAT, fant man at 1 var i samsvar med Aptima CMV Quant assay-resultatene.

Tabell 29 Viser samsvarsanalysen og prosentvist samsvar ved forskjellige terskler (samlet og etter transplantatgruppe) for prøver tatt fra personer etter at de har satt i gang med CMV antiviral behandling som en del av den rutinemessige pleien under den prospektive studien. Kombinert samsvarsanalyse ved forskjellige virusmengdeintervaller ved bruk av alle tidspunktene med igangsatt etterbehandling (samlet og etter transplantatgruppe) vises i Tabell 30. Én av 181 samlede resultater viste seg å avvike på tvers av mer enn den tilstøtende kategorien. Dette ble observert i en SOTR.

Tabell 29: Samsvarsanalyse og prosentvist samsvar ved forskjellige terskler ved bruk av alle kombinerte tidspunkter etter igangsetting av etterbehandling (samlet og etter transplantatgruppe)

Transplantat Gruppeterskel	N <sup>a</sup>	Komparator <sup>b</sup> - og Aptima CMV Quant-resultater				PPA % (n/N) [95 % KI] <sup>c</sup>	NPA % (n/N) [95 % KI] <sup>c</sup>
		Komp≥ ACMV≥	Komp< ACMV≥	Komp< ACMV<	Komp≥ ACMV<		
Samlet							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml (137 IU/ml) <sup>d</sup>	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
2,7 log <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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]
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml (137 IU/ml) <sup>d</sup>	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
2,7 log <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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]
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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 <sub>10</sub> 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, KI = konfidensintervall, Komp = komparator assay, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, NPA = negativt prosentvist samsvar, PPA = positivt prosentvist samsvar, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon, TND = mål ikke detektert

**Merknader:**

- ≥: Resultat er større eller lik den gitte terskelverdien
- <: Resultat er mindre enn den gitte terskelverdien
- PPA summerer resultater som er større eller lik den gitte terskelen. NPA summerer resultater som er mindre enn den gitte terskelen.

<sup>a</sup> Antall parede prøver som ble tatt fra personer som mottok CMV antiviral behandling ved innmeldelse og igangsatt CMV antiviral behandling under den prospektive studien.

<sup>b</sup> godkjent test

<sup>c</sup> Score KI

<sup>d</sup> LLoQ er en alternativ godkjent test

Tabell 30: Samsvarsanalyse ved forskjellige virusmengdeintervaller ved bruk av alle kombinerte tidspunkter etter igangsetting av etterbehandling (samlet og etter transplantatgruppe)

Transplantatgruppe Resultat fra Aptima CMV Quant	Komparator <sup>b</sup> -resultat (log <sub>10</sub> IU/ml)						
	Samlet <sup>a</sup> , N	TND	Detektert, < 2,1	≥ 2,1 til < 2,7	≥ 2,7 til < 3,3	≥ 3,3 til < 3,9	≥ 3,9
<b>Samlet</b>							
Samlet antall parede prøver, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml <sup>c</sup>	41	4	37	0	0	0	0
≥ 2,1 til < 2,7 log <sub>10</sub> IU/ml	33	0	15	17	1	0	0
≥ 2,7 til < 3,3 log <sub>10</sub> IU/ml	23	0	0	9	14	0	0
≥ 3,3 til < 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	13	0	0	0	4	9	0
≥ 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	15	0	0	0	1 <sup>d</sup>	2	12
<b>SOTR-er</b>							
Samlet antall parede prøver, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml <sup>c</sup>	32	2	30	0	0	0	0
≥ 2,1 til < 2,7 log <sub>10</sub> IU/ml	30	0	15	14	1	0	0
≥ 2,7 til < 3,3 log <sub>10</sub> IU/ml	19	0	0	8	11	0	0
≥ 3,3 til < 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	10	0	0	0	4	6	0
≥ 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	13	0	0	0	1 <sup>d</sup>	2	10
<b>HSCTR-er</b>							
Samlet antall parede prøver, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Detektert, < 2,1 log <sub>10</sub> IU/ml <sup>c</sup>	9	2	7	0	0	0	0
≥ 2,1 til < 2,7 log <sub>10</sub> IU/ml	3	0	0	3	0	0	0
≥ 2,7 til < 3,3 log <sub>10</sub> IU/ml	4	0	0	1	3	0	0
≥ 3,3 til < 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	3	0	0	0	0	3	0
≥ 3,9 log <sub>10</sub> IU/ml	2	0	0	0	0	0	2

HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon, TND = mål ikke detektert

<sup>a</sup> Antall parede prøver som ble tatt fra personer som mottok CMV antiviral behandling ved innmeldelse og igangsatt CMV antiviral behandling under den prospektive studien.

<sup>b</sup> godkjent assay

<sup>c</sup> LLoQ er en alternativ godkjent test

<sup>d</sup> Én av 181 samlede resultater viste seg å avvike på tvers av mer enn den tilstøtende kategorien.

## Metodesammenligning

Metodesammenligningsstudien ble utført for å vurdere ytelsen til Aptima CMV Quant assay i forhold til en godkjent test. Tilsammen 309 parede CMV-positive kliniske prøver bestående av 165 prøver tatt i den prospektive studien og 144 frosne restprøver med resultat er i felles lineært område for begge assayene, ble tatt med i metodesammenligningsanalysene. I tillegg ble tilsammen 105 konstruerte prøver preparert ved å tilsette dyrket CMV-virus i CMV-negative EDTA-plasma der 103 hadde felles lineært området i begge assayene. Konstruerte prøver ble analysert separat.

Tabell 31 Viser anslåtte Deming-regresjonsparametere ( $\log_{10}$  IU/ml). Figur 15 til Figur 18 viser Deming-regresjon til virusmengderesultater ( $\log_{10}$  IU/ml) fra Aptima CMV Quant assay og den godkjente testen.

Tabell 31: Anslåtte Deming-regresjonsparametere etter prøvetype og transplantattype

Prøvetype	Transplan- tatgruppe	virusmengde- enhet	Parameter	N <sup>a</sup>	Anslå	Jackknife-metode <sup>b</sup>		Bootstrap-metode <sup>c</sup>		r
						SE	95 % KI	SE	95 % KI	
Klinisk	Samlet	$\log_{10}$ IU/ml	Intersept	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Helling		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTR-er	$\log_{10}$ IU/ml	Intersept	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Helling		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	
	HSCTR-er	$\log_{10}$ IU/ml	Intersept	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Helling		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	
Konstruert	I/R	$\log_{10}$ IU/ml	Intersept	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Helling		1,01	0,011	(0,98, 1,03)	0,012	(0,98, 1,03)	

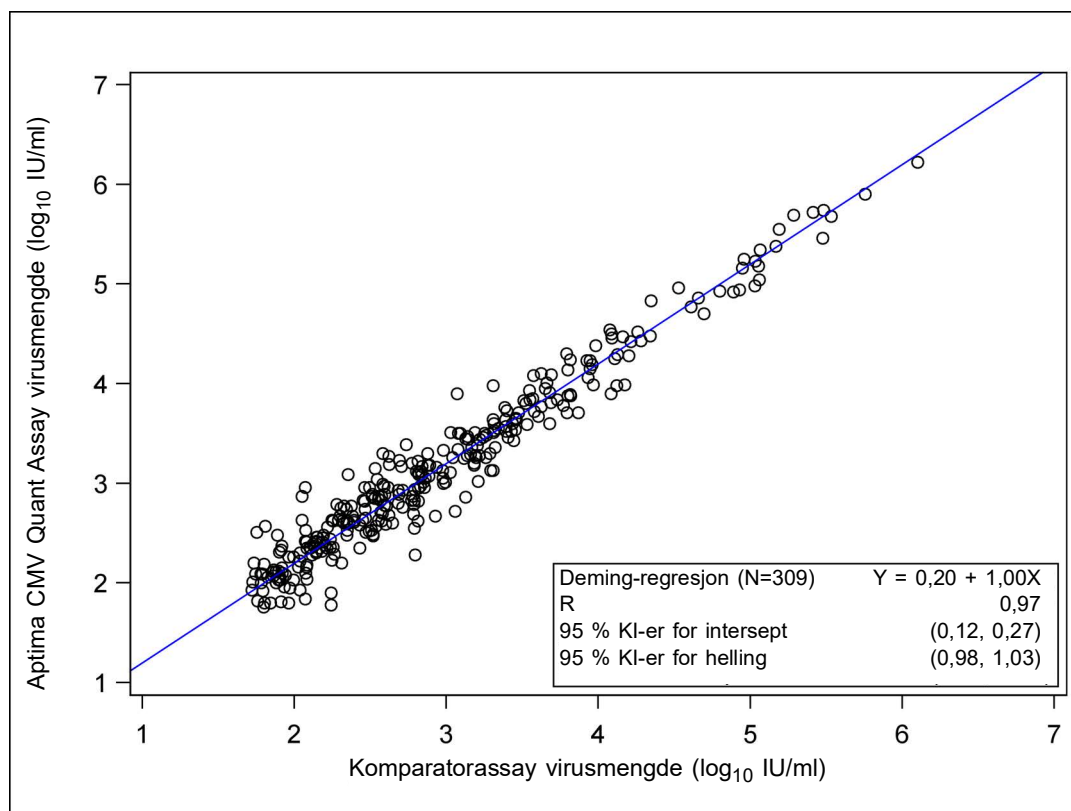
KI=konfidensintervall, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, r = korrelasjonskoeffisient, SE = standard avvik, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

<sup>a</sup> Antall parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene.

<sup>b</sup> Antatt uavhengighet mellom alle prøvene. Jackknife-metode brukt til å anslå SE og KI.

<sup>c</sup> Kliniske prøver ble justert med korrelasjon innen individ ved bruk av bootstrap re-sampling-metoden med 500 iterasjoner. Denne metoden brukes også på konstruerte prøver, men uten stratifisering etter person.



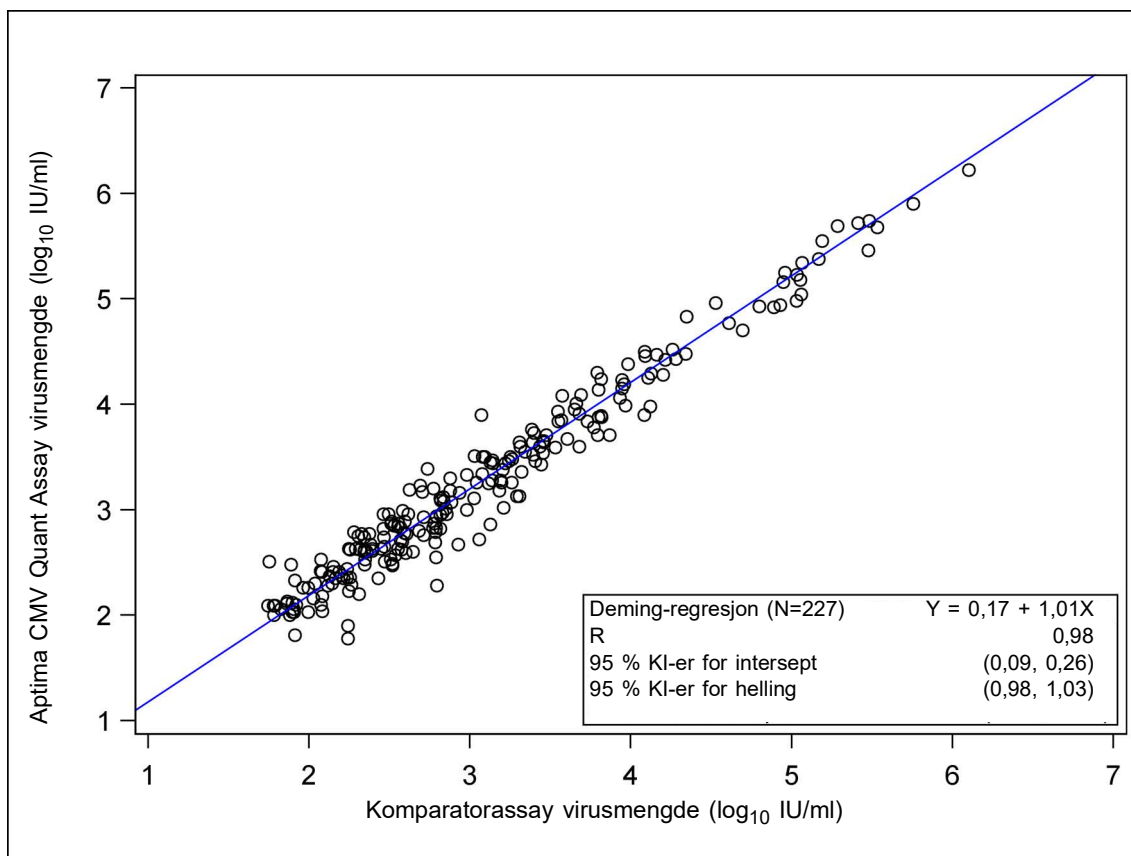


**Figur 15. Deming-lineært regresjonsplott (kliniske prøver: SOTR-er og HSCTR-er kombinert)**

KI = konfidensintervall, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, r = korrelasjonskoeffisient, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

**Merknader:**

- Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.
- Deming-regresjonsmodellen antar uavhengighet mellom alle prøvene. Jackknife-metode brukes til å anslå KI-er.

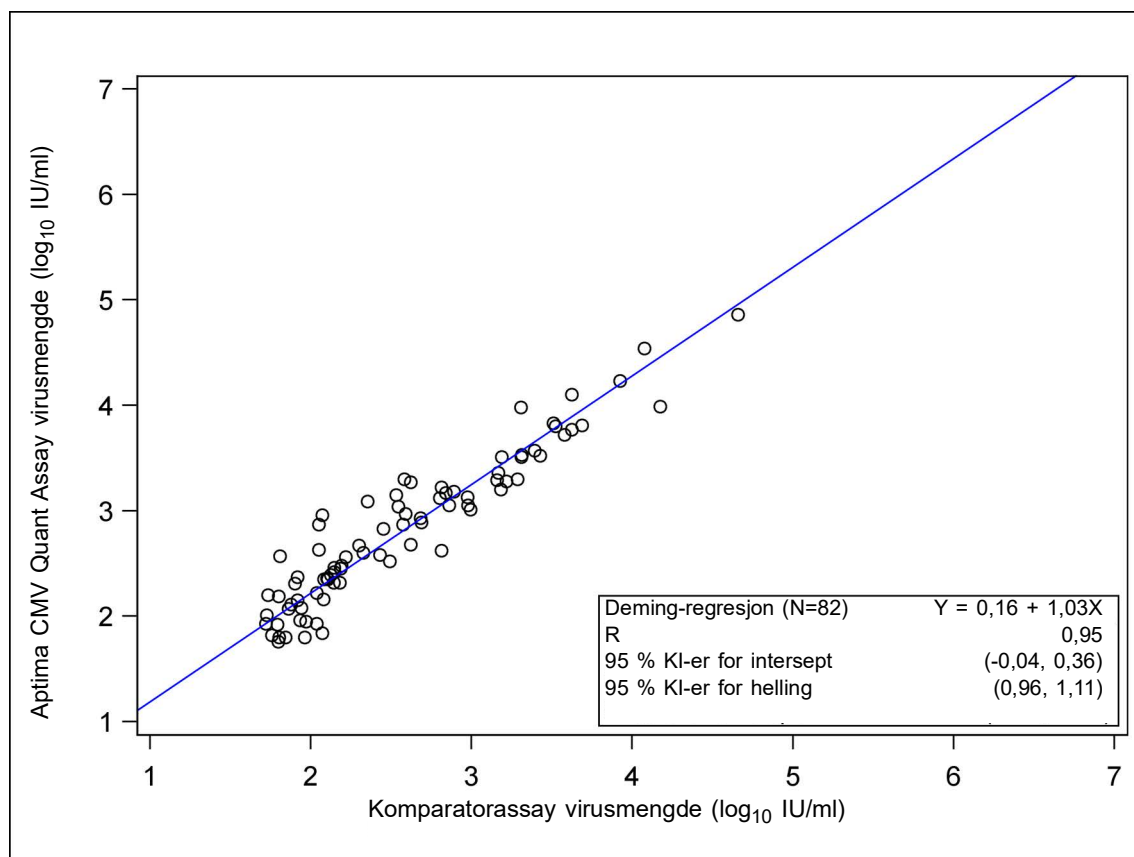


**Figur 16. Deming-lineært regresjonsplott ved virusmengder (kliniske prøver: kun SOTR-er)**

KI = konfidensintervall, SOTR-er er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, R = korrelasjonskoeffisient

**Merknader:**

- Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.
- Deming-regresjonsmodellen antar uavhengighet mellom alle prøvene. Jackknife-metode brukes til å anslå KI-er.

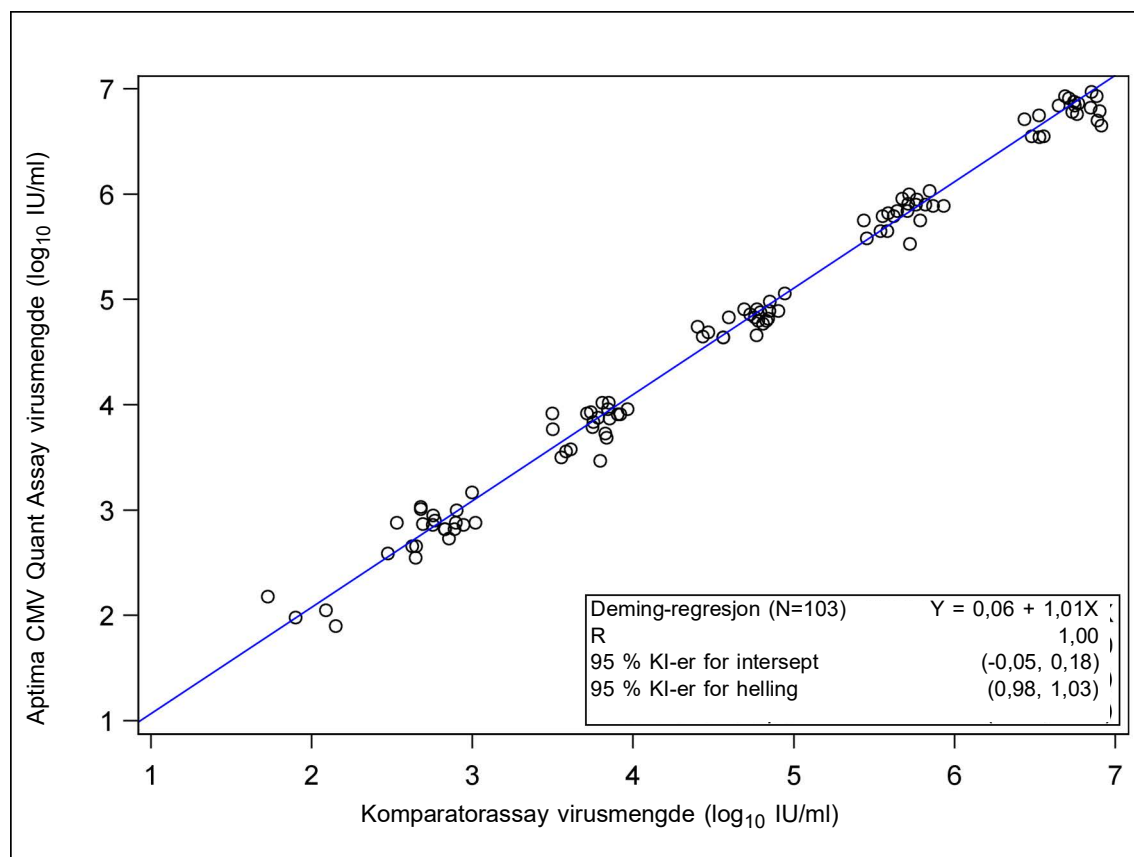


**Figur 17. Deming-lineært regresjonsplott ved virusmengder (kliniske prøver: kun HSCTR-er)**

KI=konfidensintervall, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, R = korrelasjonskoeffisient

**Merknader:**

- Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.
- Deming-regresjonsmodellen antar uavhengighet mellom alle prøvene. Jackknife-metode brukes til å anslå KI-er.



**Figur 18. Deming-lineært regresjonsplott ved virusmengder (konstruerte prøver)**

KI=konfidensintervall, R = korrelasjonskoeffisient

**Merknader:**

- Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.
- Deming-regresjonsmodellen antar uavhengighet mellom alle prøvene. Jackknife-metode brukes til å anslå KI-er.

## Middelverdi parede differanse

Tabell 32 Nedenfor vises parede differanse med middelverdi mellom CMV Quant assay og den godkjente testen ved representative bestemmelsesintervaller.

Tabell 32: Middelverdi til parede virusmengdedifferanser ved representative bestemmelsesintervaller etter prøvetype og transplantattype

Prøvetype	Transplantatgruppe	Representative bestemmelsesintervaller <sup>a</sup> (log <sub>10</sub> IU/ml)	Samlet antall parede prøver <sup>b</sup> (N)	Middelverdi (SE)	95 % KI
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
Konstruert	I/R	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)

KI = konfidensintervall, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, NC = ikke beregnbar, SE = standard avvik, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

<sup>a</sup> Parede prøver allokeres inn i bestemmelsesintervaller basert på det godkjente testresultatet.

<sup>b</sup> Antall parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene.

## Bias på valgte virusmengdenivåer

Tabell 33 Nedenfor viser bias mellom Aptima CMV Quant assay og den godkjente testen på fem valgte belastningsnivåer fra 2,1 log<sub>10</sub> IU/ml til 7.0 log<sub>10</sub> IU/ml med assosierte ikke-transformerte ekvivalenser.

Tabell 33: Bias /Systematisk differanse på valgte virusmengdenivåer etter prøvetype og transplantattype

Prøvetype	Transplantatgruppe	Velg virusmengdenivåer log <sub>10</sub> IU/ml (IU/ml)	Systemisk differanse <sup>a</sup> log <sub>10</sub> 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)
Konstruert	I/R	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 = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

<sup>a</sup>Den systematiske differansen er differansen mellom resultatvariabelen (Y) og virusmengden (X) avledet på hvert av de valgte virusmengdenivåene ved bruk av Deming-regresjonsestimater for helling og intersept.

## Tillatt total differanse (ATD)

Tabell 34 Sammen med Figur 19 til Figur 22 nedenfor viser ATD-resultatene ved bruk av parede differanser mellom Aptima CMV Quant assay og den godkjente testen i forhold til deres gjennomsnitt ved representative terskler og prosentandel av parede resultater i ATD-sonen.

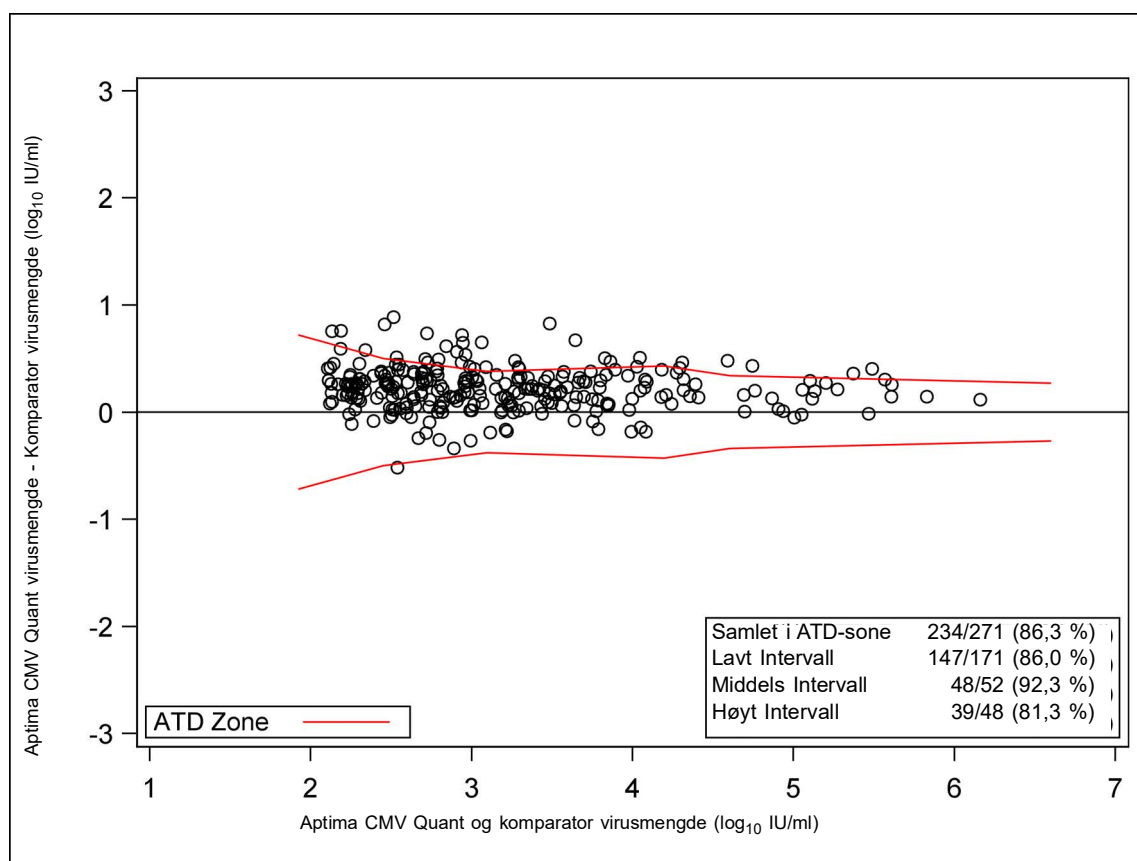
Tabell 34: Prosentandel av parede prøvedifferanser innen tillatt total differanse (ATD)-sone ved forskjellige virusmengdeintervaller etter prøvetype og transplantatgruppe

Prøvetype	Transplan- tatgruppe	virusmengdeintervaller <sup>a</sup> (log <sub>10</sub> IU/ml)	N <sup>b</sup>	Parede prøvedifferanser innen ATD-sone				
				n (%)	Persentiler			
					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
		Middels (≥ 3,3 til < 3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Høy (≥ 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
		Middels (≥ 3,3 til < 3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Høy (≥ 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
		Middels (≥ 3,3 til < 3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Høy (≥ 3,9 til < 7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Konstruert	I/R	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
		Middels (≥ 3,3 til < 3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Høy (≥ 3,9 til < 7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

<sup>a</sup> Parede prøver allokeres inn i bestemmelsesintervaller basert på det godkjente testresultatet.

<sup>b</sup> Antall parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene.

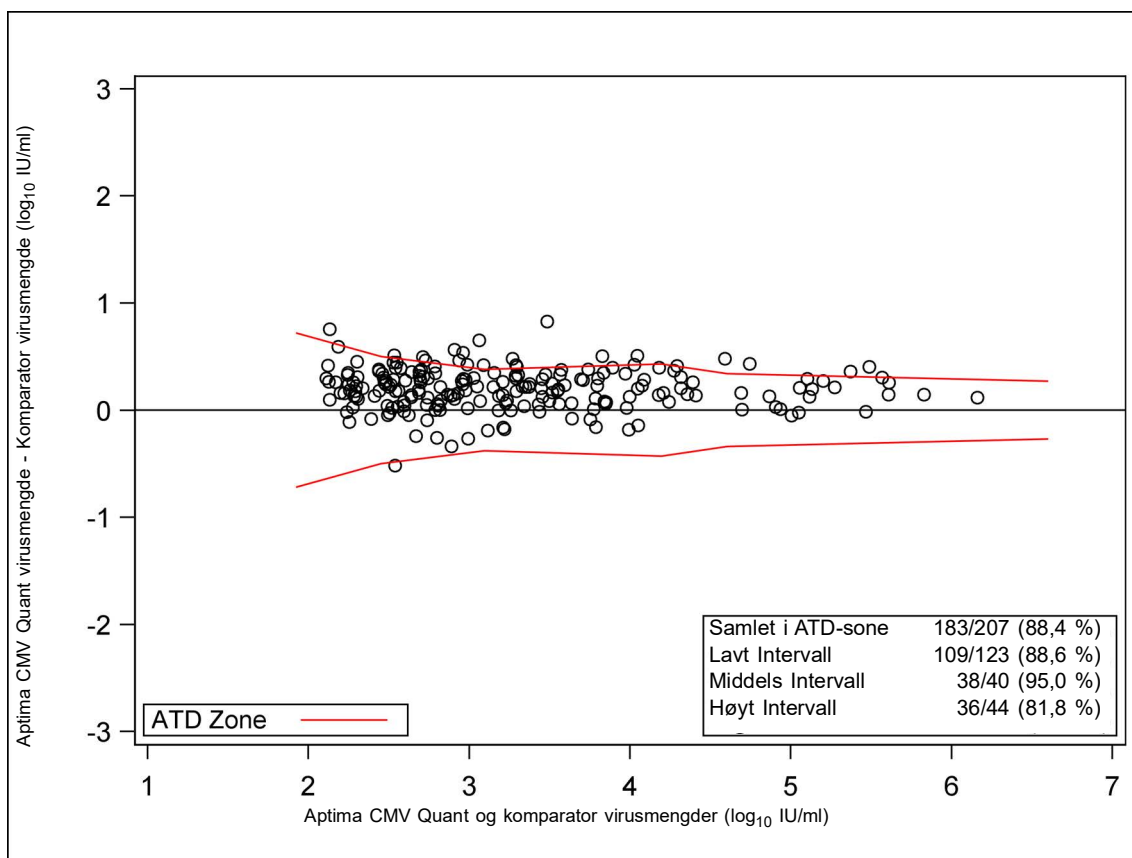


**Figur 19. Differanseplott til parede prøver og ATD-sone (kliniske prøver: SOTR-er og HSCTR-er kombinert)**

ATD = tillat total differanse, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

**Merknad:** Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.

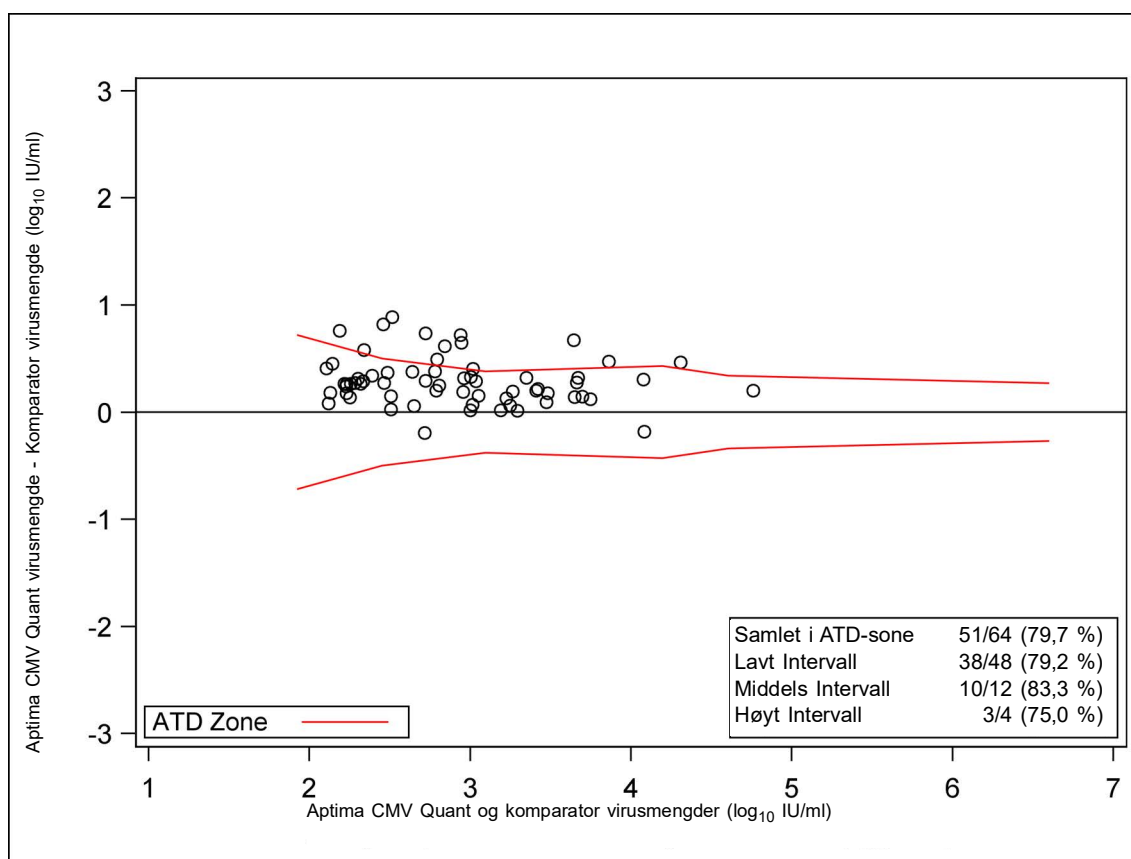




**Figur 20. Differanseplott til parede prøver og ATD-sone (kliniske prøver: kun SOTR-er)**

ATD = tillat total differanse, SOTR-er = mottakere av solid organtransplantasjon

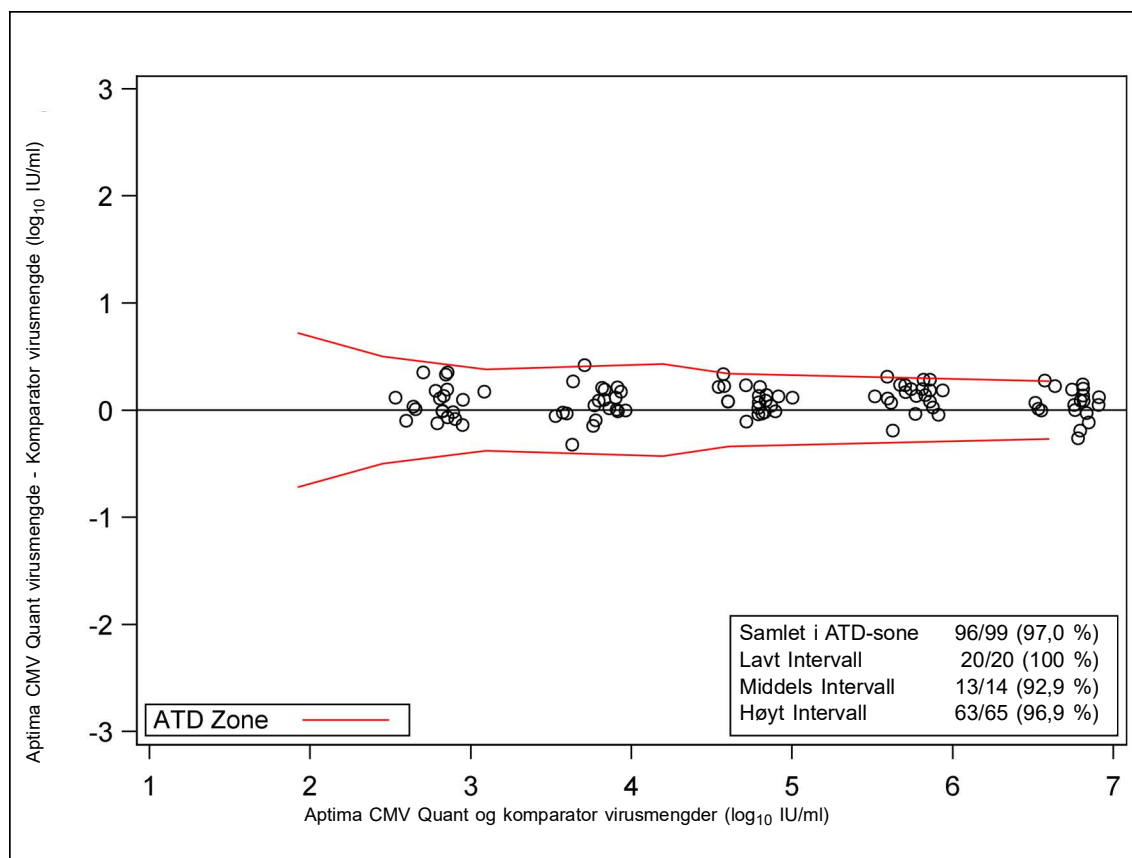
**Merknad:** Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.



**Figur 21. Differanseplott til parede prøver og ATD-sone (kliniske prøver: kun HSCTR-er)**

ATD = tillat total differanse, HSCTR-er = mottakere av hematologisk stamcelletransplantasjon

**Merknad:** Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.



**Figur 22. Differanseplott til parede prøver og ATD-sone (konstruerte prøver)**

ATD = tillat total differanse

**Merknad:** Parede prøver med resultater i felles lineært område for begge assayene er inkludert.

## 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 og revisjonshistorikk



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 å finne e-postadressen og telefonnummeret til landsspesifikk teknisk støtte og kundeservice besøk [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Dersom det skjer alvorlige hendelser i forbindelse med enheten i EU, bør det rapporteres til produsenten og den ansvarlige myndigheten i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten er etablert.

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

Alle andre varemerker som kan forekomme i dette pakningsvedlegget, 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).

© 2021-2024 Hologic, Inc. Med enerett.

AW-27747-1801 rev. 002

2024-06

Revisjonshistorikk	Dato	Beskrivelse
AW-27747 rev. 001	Juni 2023	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Opprettet Aptima CMV Quant assay IFU AW-27747 rev. 001 basert på AW-25509 rev. 003 for forskriftsmessig samsvar med IVDR.</li> <li>• Tilføyde Sammendrag av sikkerhet og ytelse.</li> <li>• Oppdaterte generell informasjon.</li> <li>• Oppdaterte fareinformasjon.</li> <li>• Oppdaterte deler av Analytisk ytelse, og tabellen Materialer som leveres.</li> <li>• Tilføyde Klinisk ytelse: Klinisk samsvar, Metodesammenligning, Middelvei parede differanse, Bias på valgte virusmengdenivåer og Tillatt total differanse (ATD).</li> <li>• Oppdaterte kontaktinformasjon inkludert: EU-representant, CE-merke, informasjon om den australske representanten og teknisk støtte.</li> <li>• Diverse oppdateringer stil og format.</li> </ul>
AW-27747 rev. 002	Juni 2024	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Revidert ved å legge til fremgangsmåten for fortykning av plasma-enkeltprøver</li> <li>• Følgende avsnitt ble oppdatert: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Advarsler og forholdsregler</li> <li>• Prøvetaking og oppbevaring</li> <li>• Nødvendige materialer som er tilgjengelige separat</li> <li>• Testprosedyre for Panther-systemet</li> <li>• Tolkning av resultater</li> <li>• Analytisk spesifisitet</li> </ul> </li> </ul>