

cobas[®] CMV

Kvantitativ nukleinsyretest til brug på cobas[®] 6800/8800-systemer

Til in vitro-diagnostik

cobas[®] CMV

P/N: 07001029190

cobas[®] CMV Control Kit

P/N: 07001037190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet brug	4
Oversigt og forklaring af testen	4
Reagenser og materialer	7
cobas® CMV-reagenser og -kontroller	7
cobas omni-reagenser til prøveforberedelse	9
Krav til opbevaring og håndtering af reagenser	11
Yderligere nødvendige materialer	12
Påkrævede instrumenter og software	12
Krav til forholdsregler og håndtering	13
Advarsler og forholdsregler	13
Håndtering af reagenser	13
God laboratoriepraksis	14
Indsamling, transport og opbevaring af prøver	14
Prøver	14
Brugsanvisning	16
Procedurebemærkninger	16
Kørsel af cobas® CMV	16
Resultater	17
Kvalitetskontrol og validitet af resultater	17
Fortolkning af resultater	18
Begrænsninger ved procedurerne	18

Vurdering af ikke-klinisk performance 19

Vigtige egenskaber for performance.....	19
Detektionsgrænse (LoD).....	19
Lineært interval.....	20
Præcision – i laboratoriet.....	21
Bekræftelse af genotype.....	22
Bekræftelse af lægemiddelresistente CMV-prøver.....	23
Specificitet.....	24
Analytisk specificitet.....	24
Analytisk specificitet – interfererende stoffer	25
Performance sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-testen	26
Systemfejlfrekvens	26
Krydskontaminering	26

Yderligere oplysninger..... 27

Vigtige testfunktioner	27
Symboler	28
Producent og distributører.....	30
Varemærker og patenter	30
Copyright.....	30
Referencer.....	31
Dokumentrevision	33

Tilsigtet brug

cobas® CMV er en *in vitro*-nukleinsyreamplifikationstest til kvantificering af cytomegalovirus-DNA (CMV DNA) i humant EDTA-plasma.

cobas® CMV er beregnet som en hjælp til diagnosticering og behandling af CMV hos organtransplanterede patienter og i hæmatopoietisk stamcelletransplanterede patienter. Testen kan bruges i disse populationer til at vurdere behovet for at påbegynde antivirusbehandling. Hos patienter, der modtager anti-CMV-behandling, kan serielle DNA-målinger bruges til vurdering af virusresponsen på behandlingen.

Resultaterne fra **cobas® CMV** skal fortolkes på baggrund af alle relevante kliniske og laboratoriemæssige fund.

Oversigt og forklaring af testen

Baggrund

Human cytomegalovirus (CMV) er et viralt patogen, der tilhører herpesvirusfamilien, og som findes i samfund i hele verden.^{1,2} I immunkompetente værter er infektioner med CMV ofte uden symptomer men kan primært forekomme i form af en lytisk infektion som et akut mononukleose-lignende syndrom. Når man først er smittet, vil CMV normalt altid være til stede som en livslang latent infektion, der kan blive reaktiveret fra tid til anden. Mononukleære celler fra perifert blod af myeloid afstamning (men ikke lymfocytter) og endotelceller synes at udgøre de vigtigste CMV-infektionssteder.³ CMV forbliver i en latent tilstand i monocytter/makrofager i mennesker.² Latent inficerede personer kan som symptomfrie udskille virus i deres kropsvæsker (f.eks. urin eller spyt) og på den måde inficere andre. Immunkompromitterede personer, herunder nyfødte, transplanterede patienter og AIDS-patienter, har høj risiko for at udvikle alvorlige primære CMV-infektioner eller reaktivering af latent CMV, som kan føre til en høj morbiditets- og mortalitetsfrekvens.⁴ De alvorlige manifestationer af CMV-sygdommen omfatter retinitis, polyradikulopati, gastroenteritis, hepatitis, encephalitis, esophagitis, enterocolitis, pancreatitis, nefritis, afvisning af donororganer, lungebetændelse og viralt CMV-syndrom.⁵⁻⁷

Vores nuværende forståelse af de klinisk relevante tærskler for udvikling af CMV-sygdom kommer fra en række forskellige forsøg, der bruger forskellige teknologier, forsøgspopulationer og slutpunkter.⁸⁻¹⁵ Generelt set er højere virusbelastninger tættere associeret med risikoen for udvikling af CMV-sygdom. Forholdet mellem viræmi og sygdom er sigmoidt, dvs., at risikoen for CMV-sygdom stiger betydeligt, efter at CMV-virusbelastningen når en "kritisk tærskel". F.eks. ved brug af en laboratorieudviklet CMV DNA-fuldblodsanalyse til test af levertransplanterede patienter var den kritiske tærskel $\geq 5 \log_{10}$ kopier/ml af CMV DNA.¹³ Hos patienter med HIV/AIDS er CMV DNA-niveauet korreleret med risikoen for CMV-sygdom og overordnet mortalitet.¹⁶⁻¹⁹

De nuværende laboratorieudviklede metoder til CMV DNA-kvantificering er dog begrænset af en mangel på standardiserede resultater, hvilket kan medføre en høj grad af variabilitet mellem laboratorier og mellem analyser.²⁰ Valideringen af reproducerbarheden af CMV DNA-virusbelastningen er kritisk for at sikre konsistens mellem resultaterne ved behandlingen af patienter med CMV-sygdom. De aktuelle retningslinjer, der er baseret på præcisionen af PCR-test, peger på, at ændringerne i målingerne af den serielle virusbelastning skal være mindst 3-fold ($0,5 \log_{10}$) for at repræsentere de biologisk vigtige ændringer. Da variabiliteten er størst ved lave koncentrationer, skal ændringerne i virusbelastningen muligvis være mere end 5-fold ($0,7 \log_{10}$), når titerværdierne er nær analysens lave kvantificeringsgrænse, for at blive anset for at være signifikante.^{11,12}

Selvom den nøjagtige tærskel stadig er til debat pga. variabilitet mellem analyserne, synes konceptet med den kritiske tærskel at være validt og er beskrevet i undersøgelser af den naturlige historik, der viser, at højere virusbelastningsværdier korrelerer med øget risiko for udviklingen af CMV-sygdom.⁸⁻¹⁴ En undersøgelse, der brugte COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR-testen, fastlagde en cutoff-værdi for forudsigelse af sygdom på mellem 2.000 og 5.000 kopier/ml hos CMV-seropositive levertransplanterede patienter.¹⁰

Begrundelse for NAT-test

Laboratoriemetoder til diagnosticering af dissemineret infektion og aktiv visceral sygdom på grund af human cytomegalovirus (CMV) omfatter isolering af virus ved dyrkning af leukocytter fra perifert blod (PBL), biopsihistologi, serologiske metoder, måling af pp65-antigenæmi og detektion af CMV DNA ved hjælp af polymerasekædereaktion (PCR).²¹ Serologi er kun relevant til bestemmelse af, om en patient tidligere har været inficeret med CMV og har risiko for reaktivering. Dyrkningsmetoder har dårlig prædiktiv værdi, kræver mere end 48 timers svartid og har begrænset anvendelse på immunkompromitterede patienter. pp65-antigenæmianalysen er arbejdskrævende og kræver, at blodet behandles inden for seks timer fra udtagningen på grund af faldet i antigenæmi under opbevaring.²² pp65-analysen er også vanskelig at udføre på neutropene patienter. Direkte detektion af CMV DNA med real-time PCR-metoder tilbyder potentielt et bredt dynamisk område, præcision og høj sensitivitet.

Forklaring af testen

cobas® CMV er en kvantitativ test, der kører på **cobas® 6800**-systemet og **cobas® 8800**-systemet. **cobas® CMV** giver mulighed for detektion og kvantificering af CMV DNA i EDTA-plasma fra inficerede patienter. Virusbelastningen kvantificeres mod en ikke-CMV DNA-kvantificeringsstandard (DNA-QS), som tilsættes i hver prøve under prøvebehandlingen. DNA-QS fungerer også som overvågning af hele prøveforberedelsen og PCR-amplifikationsprocessen. Derudover bruger testen tre eksterne kontroller: en høj titer-positiv, en lav titer-positiv og en negativ kontrol.

Principper for proceduren

cobas® CMV er baseret på fuldt automatiseret prøveforberedelse (ekstrahering af nukleinsyrer og oprensning) efterfulgt af PCR-amplifikation og detektion. **cobas® 6800/8800**-systemerne består af prøveforsyningsmodulet, overførselsmodulet, behandlingsmodulet og analysemodulet. Automatiseret dataadministration udføres ved hjælp af **cobas® 6800/8800**-softwaren, som tilknytter testresultater til alle test som enten target er ikke påvist, CMV DNA påvist < LLoQ (nedre kvantificeringsgrænse), CMV DNA påvist > ULoQ (øvre kvantificeringsgrænse) eller en værdi i det lineære interval $LloQ < x < ULoQ$. Resultaterne kan gennemses direkte på skærmen, eksporteres eller udskrives i en rapport.

Nukleinsyrer fra patientprøver og tilsatte lambda-DNA-QS-molekyler ekstraheres samtidigt. Den virale nukleinsyre frigives derefter ved tilsætning af proteinase and lysisreagens i prøven. De frigivne nukleinsyrer binder sig til siliciumoverfladen på de tilsatte magnetiske glaspartikler. Ubundne stoffer og urenheder, som f.eks. denaturerede proteiner, cellepartikler og potentielle PCR-hæmmere, fjernes med efterfølgende vaskereagenstrin, og oprensede nukleinsyrer elueres fra de magnetiske glaspartikler med elueringsbuffer ved forhøjet temperatur.

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyre fra prøven opnås ved brug af target-virusspecifikke forward og reverse primere, som vælges blandt de bedst konserverede områder af CMV DNA-polymerasegenet (UL54). Selektiv amplifikation af DNA-QS opnås ved brug af sekvensspecifikke forward og reverse primere, som vælges for ikke at have nogen homologi med CMV-genomet. Der anvendes et termostabilt DNA-polymerase-enzym til amplifikation. Target- og DNA-QS-sekvenserne amplificeres samtidigt ved hjælp af en universel PCR-amplifikationsprofil med foruddefinerede temperaturtrin og cyklusantal. Master mix-blandingerne indeholder deoxyuridintrifosfat (dUTP) i stedet for

deoxythymidin trifosfat (dTTP), som indarbejdes i det nyligt syntetiserede DNA (amplikon).²³⁻²⁵ Ethvert kontaminerende amplikon fra tidligere PCR-kørsler elimineres med AmpErase-enzymet, der er inkluderet i PCR-mixet, ved opvarmning under den første termiske cyklus. Nyligt dannet amplikon elimineres dog ikke, da AmpErase-enzymet inaktiveres, når det udsættes for temperaturer over 55 °C.

cobas® CMV master mix indeholder én detektionsprobe, der er specifik for CMV-targetsekvenser, og én specifik for DNA-QS. Proberne er mærket med target-specifikke fluorescerende rapportfarvestoffer, hvilket giver mulighed for samtidig detektion af CMV-target og DNA-QS i to forskellige targetkanaler.^{26,27} Fluorescenssignalet i de intakte prober undertrykkes af quencherfarvestoffet. Under PCR-amplifikationstrinnet medfører hybridiseringen af proben til de specifikke enkeltstrengede DNA-templates en spaltning vha. 5'-til-3'-nukleaseaktiviteten i DNA-polymerasen, hvilket resulterer i separation af rapport- og quencherfarvestofferne samt generering af et fluorescenssignal. For hver PCR-cyklus genereres øgede mængder af spaltede prober, og det samlede signal fra rapportfarvestoffet forøges tilsvarende. Der opnås real-time detektion og diskrimination af PCR-produkter ved at måle fluorescensen i de frigivne rapportfarvestoffer for virustargets og DNA-QS.

Reagenser og materialer

cobas® CMV-reagenser og -kontroller

Alle uåbne reagenser og kontroller skal opbevares som anbefalet i Tabel 1 til Tabel 4.

Tabel 1 cobas® CMV

cobas® CMV Opbevares ved 2 til 8 °C. kassette med 96 test (P/N 07001029190)		
Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit 96 test
Proteinaseopløsning (PASE)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, calciumklorid, calciumacetat, 8 % proteinase EUH210: Sikkerhedsdatablad kan på anmodning rekvireres. EUH208: Indeholder subtilisin. Kan udløse allergisk reaktion.	13 ml
DNA-kvantificeringsstandard (DNA-QS)	Tris-buffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % ikke-CMV DNA-konstruktion indeholdende ikke-CMV-primerbinding og et unikt probeområde (ikke-infektøs DNA), < 0,002 % Poly rA RNA (syntetisk), < 0,1 % natriumazid	13 ml
Elueringsbuffer (EB)	Tris-buffer, 0,2 % methyl-4 hydroxybenzoat	13 ml
Master Mix-reagens 1 (MMX-R1)	Manganacetat, kaliumhydroxid, < 0,1 % natriumazid	5,5 ml
CMV Master Mix-reagens 2 (CMV MMX-R2)	Tricinbuffer, kaliumacetat, < 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % upstream- og downstream-CMV-primere, < 0,01 % kvantificeringsstandard forward og reverse primere, < 0,01 % fluorescensmærkede oligonukleotide prober, der er specifikke for CMV og CMV-kvantificeringsstandard, < 0,01 % oligonukleotid aptamer, < 0,1 % Z05D DNA-polymerase, < 0,10 % AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (mikrobielt), < 0,1 % natriumazid	6 ml

Tabel 2 cobas® CMV Control Kit**cobas® CMV Control Kit**

Opbevares ved 2 til 8 °C.

(P/N 07001037190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
CMV lav positiv kontrol (CMV L(+))C)	< 0,001 % syntetisk (plasmid) CMV DNA indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, CMV DNA, som ikke kan påvises ved hjælp af PCR-metoder. 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg. 55965-84-9 blanding af: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1)
CMV høj positiv kontrol (CMV H(+))C)	< 0,001 % syntetisk (plasmid) CMV DNA indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe, normalt humant plasma, CMV DNA, som ikke kan påvises ved hjælp af PCR-metoder. 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg. 55965-84-9 blanding af: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1)

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farlig substans

Tabel 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Opbevares ved 2 til 8 °C.

(P/N 07002220190)

Komponenter i kittet	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel*
Normal Human Plasma Negative Control (NHP-NC)	Normalt humant plasma, CMV DNA, som ikke kan påvises ved hjælp af PCR-metoder. < 0,1 % ProClin® 300, konserveringsmiddel**	16 ml (16 × 1 ml)	  ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslett: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmottagelsesanlæg. 55965-84-9 blanding af: 5-chlor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EF-nr. 247-500-7] og 2-methyl-2H-isothiazol-3-on [EF-nr. 220-239-6] (3:1).

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farlig substans

cobas omni-reagenser til prøveforberedelse

Tabel 4 cobas omni-reagenser til prøveforberedelse*

Reagenser	Indholdsstoffer i reagenser	Antal pr. kit	Sikkerhedssymbol og advarsel**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Opbevares ved 2 til 8 °C. (P/N 06997546190)	Magnetiske glaspartikler, tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	480 test	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Opbevares ved 2 til 8 °C. (P/N 06997511190)	Tris-buffer, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat, < 0,1 % natriumazid	4 × 875 ml	Ikke relevant
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Opbevares ved 2 til 8 °C. (P/N 06997538190)	43 % (w/w) guanidin-thiocyanat***, 5 % (w/v) polidocanol***, 2 % (w/v) dithiothreitol***, natriumcitratdihydrat	4 × 875 ml	  FARE H302 + H332: Farlig ved indtagelse eller indånding. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H412: Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. P261: Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Opbevares ved 15 til 30 °C. (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % methyl-4 hydroxybenzoat	4,2 l	Ikke relevant

* Disse reagenser er ikke inkluderet i cobas® CMV-testkittet. Se listen over yderligere påkrævede materialer (Tabel 7).

** Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

*** Biologisk farlig substans

Krav til opbevaring og håndtering af reagenser

Reagenser skal opbevares og håndteres som angivet i Tabel 5 og Tabel 6.

Når reagenserne ikke er indsat på cobas® 6800/8800-systemerne, skal de opbevares ved den temperatur, der er angivet i Tabel 5.

Tabel 5 Opbevaring af reagenser (når reagenset ikke er på systemet)

Reagens	Opbevaringstemperatur
cobas® CMV – 96	2-8 °C
cobas® CMV Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

Reagenser, der er indsat på cobas® 6800/8800-systemerne, opbevares ved de relevante temperaturer, og deres udløbsdato overvåges af systemet. cobas® 6800/8800-systemerne giver kun mulighed for brug af reagenserne, hvis alle de betingelser, der er vist i Tabel 6, overholdes. Systemet forhindrer automatisk brugen af udløbne reagenser. Tabel 6 giver brugeren mulighed for at få et indblik i de betingelser for reagenshåndtering, der håndhæves af cobas® 6800/8800-systemerne.

Tabel 6 Udløbsbetingelser for reagenser som håndhævet af cobas® 6800/8800-systemerne

Reagens	Udløbsdato for kittet	Holdbarhed for åbent kit	Antal kørsler, som dette kit kan bruges i	Holdbarhed på systemet (samlet tid på systemet uden for køleskab)
cobas® CMV – 96	Dato ikke overskredet	30 dage fra første brug	Maks. 10 kørsler	Maks. 8 timer
cobas® CMV Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant	Ikke relevant	Maks. 8 timer
cobas® NHP Negative Control Kit	Dato ikke overskredet	Ikke relevant	Ikke relevant	Maks. 10 timer
cobas omni Lysis Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni MGP Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Specimen Diluent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant
cobas omni Wash Reagent	Dato ikke overskredet	30 dage fra indsætning*	Ikke relevant	Ikke relevant

* Tiden måles fra første gang, det pågældende reagens indsættes på cobas® 6800/8800-systemerne.

Yderligere nødvendige materialer

Tabel 7 Materialer og forbrugsartikler til brug på **cobas®** 6800/8800-systemerne

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Pose til fast affald	07435967001
Beholder til fast affald	07094361001

Påkrævede instrumenter og software

cobas® 6800/8800-softwaren og **cobas®** CMV-analysepakken skal være installeret på instrumentet eller instrumenterne. IG-serveren (Instrument Gateway-serveren) følger med systemet.

Tabel 8 Instrumenter

Udstyr	P/N
cobas® 6800-system (flytbar systemopsætning)	05524245001 og 06379672001
cobas® 6800-system (fast)	05524245001 og 06379664001
cobas® 8800-system	05412722001
Prøveforsyningsmodul	06301037001

Se brugermanualen til **cobas®** 6800/8800-systemerne for at få yderligere oplysninger om primære og sekundære prøverør, der er godkendt på instrumenterne.

Bemærk! Kontakt den lokale Roche-repræsentant for at få en detaljeret ordreliste til prøveracks, racks til koagulerede spidser og rackbakker, der er godkendt på instrumenterne.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratoriepraksis, for at analysen skal kunne fungere korrekt. På grund af testens høje sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostisk brug.
- **cobas® CMV** er ikke blevet evalueret til brug som en screeningstest for tilstedeværelsen af CMV i blod eller blodprodukter.
- Alle patientprøver skal håndteres som smittefarligt materiale ved brug af gode laboratorieprocedurer som dem, der er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories og i CLSI-dokumentet M29-A4.^{28,29} Denne procedure må kun udføres af medarbejdere, der er uddannet i brugen af **cobas® CMV** og **cobas® 6800/8800**-systemerne og i håndteringen af smittefarligt materiale.
- Alt materiale, der stammer fra mennesker, skal betragtes som potentielt smittefarligt og skal håndteres med generelle sikkerhedsforanstaltninger. Hvis der spildes materiale, skal det berørte område straks desinficeres med en nyfremstillet 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit i destilleret eller deioniseret vand (fortyndet blegemiddel 1:10), eller de relevante procedurer for laboratoriet følges.
- **cobas® CMV Control Kit** og **cobas® NHP Negative Control Kit** indeholder plasma, der stammer fra humant blod. Kildematerialet er blevet testet ved hjælp af PCR-metoder og påviste ingen forekomst af CMV DNA. Ingen kendte testmetoder kan helt udelukke, at produkter, der stammer fra humant blod, kan overføre smitstoffer.
- **Fuldblod eller andre prøver, der er opbevaret i primære rør, må ikke nedfryses.**
- Brug kun medfølgende eller specificerede forbrugsartikler for at sikre testens optimale performance.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS'er) ved henvendelse til den lokale Roche-repræsentant.
- Følg de angivne procedurer og retningslinjer nøje, så testen udføres korrekt. Eventuelle afvigelser fra procedurerne og retningslinjerne kan påvirke den optimale performance for testen.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke kontrolleres tilstrækkeligt under håndtering og behandling af prøver.

Håndtering af reagenser

- Håndter alle reagenser, kontroller og prøver i overensstemmelse med god laboratoriepraksis for at undgå krydskontaminering af prøver eller kontroller.
- Inspicer hver reagenskassette, diluent, lysisreagens og vaskereagens før brug for at sikre, at der ikke er tegn på utætheder. Materialet må ikke anvendes til test, hvis der er tegn på utætheder.
- **cobas omni** Lysis Reagent indeholder guanidinthiocyanat, der er et potentielt farligt kemikalie. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger.
- **cobas® CMV**-testkit, **cobas omni** MGP Reagent og **cobas omni** Specimen Diluent indeholder natriumazid som konserveringsmiddel. Undgå, at hud, øjne og slimhinder kommer i kontakt med reagenser. Ved kontakt skylles straks med rigelige mængder vand. Ellers kan der opstå ætsninger. Hvis disse reagenser spildes, fortyndes med vand, før de tørres op.

- **cobas omni** Lysis Reagent, som indeholder guanidinthiocyanat, må ikke komme i kontakt med natriumhypoklorit (blegemiddel). Denne blanding kan danne en meget giftig gas.
- Alt materiale, der har været i kontakt med prøver og reagenser, skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i de angivne arbejdsområder.
- Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og reagenser. Handskerne skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas®** CMV-kit og **cobas omni**-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller.
- Vask hænderne grundigt efter håndtering af prøver og kitreagenser og efter aftagning af handskerne.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med deioniseret eller destilleret vand til en 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit (fortyndet blegemiddel 1:10). Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.
- Hvis der spildes materiale på **cobas®** 6800/8800-instrumentet, skal vejledningen i brugermanualen til **cobas®** 6800/8800-systemerne følges for korrekt rengøring og dekontaminering af instrumentoverfladerne.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk! Alle prøver og kontroller skal håndteres som potentielt smittefarlige.

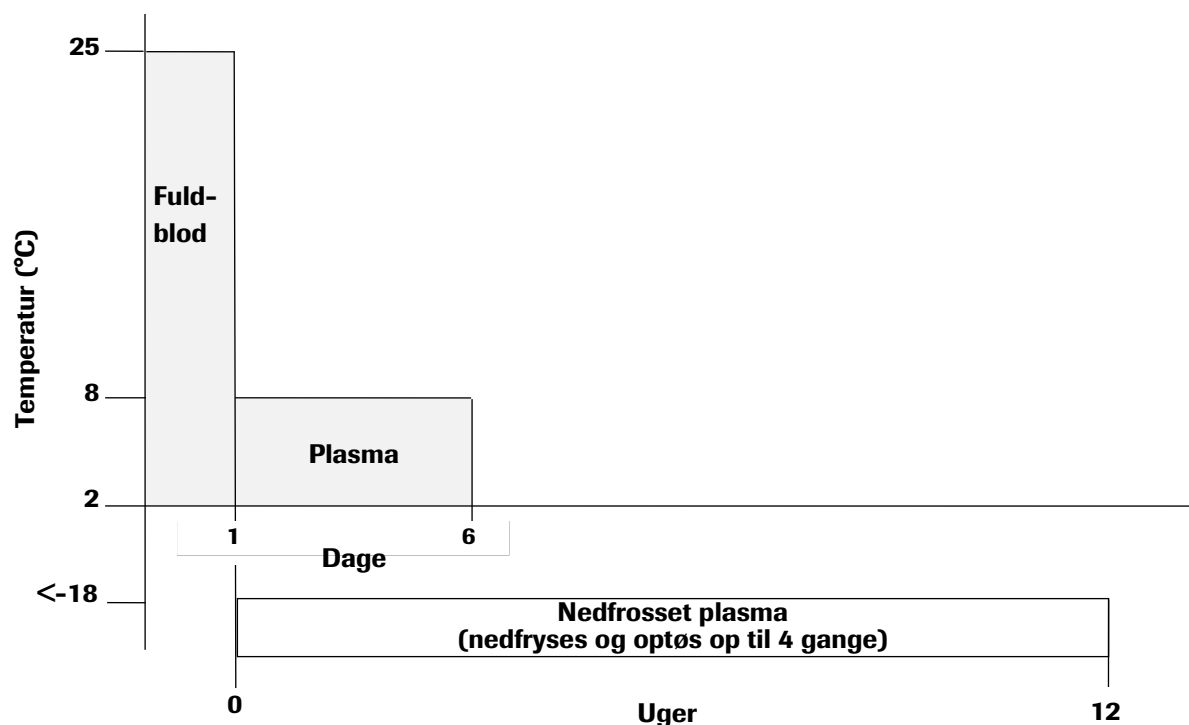
Opbevar alle prøver ved de angivne temperaturer.

Prøvens stabilitet påvirkes af forhøjede temperaturer.

Hvis der benyttes frosne prøver i sekundære rør, skal prøverne placeres ved stuetemperatur (15-30 °C), indtil de er fuldstændigt optøede, og derefter blandes kort (f.eks. på en vortex-mixer i 3-5 sekunder) og centrifugeres for at samle hele prøvevolumen i bunden af røret.

Prøver

- Blod skal indsamles i BD Vacutainer® PPT™-rør (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticerings-testmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel. Følg instruktionerne fra producenten af blodprøvetagningsrøret. Se Figur 1.
- Fuldblod, der er indsamlet i BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticerings-testmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel, kan opbevares og/eller transporteres i op til 24 timer ved 2-25 °C før forberedelse af plasma. Der skal foretages centrifugering i henhold til producentens anvisninger.
- Ved separation kan plasmaprøver opbevares i sekundære rør i op til 6 dage ved 2-8 °C eller i op til 12 uger ved ≤ -18 °C.
- Plasmaprøver kan holde til op til fire nedfrysninger/optøninger, når de nedfryses til ≤ -18 °C.

Figur 1 Prøveopbevaringsforhold

- Hvis prøverne skal sendes, skal de pakkes og mærkes i overensstemmelse med de gældende nationale og/eller internationale bestemmelser for transport af prøver og ætiologiske stoffer.

Bemærk! Fuldblod, der er indsamlet i BD Vacutainer® PPT™ (Plasma Preparation Tubes) til molekulære diagnosticeringstestmetoder eller i sterile rør med EDTA som antikoagulerende middel, kan også opbevares og/eller transporteres i op til 36 timer ved 2-25 °C før forberedelse af plasma, men separeret plasma kan derefter ikke opbevares længere og skal analyseres direkte.

Brugsanvisning

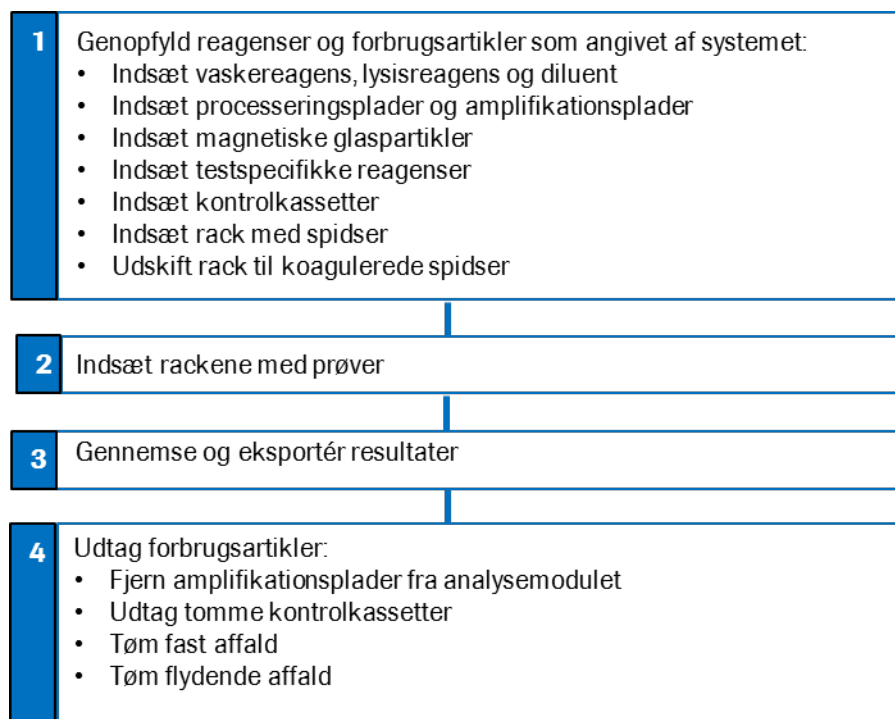
Procedurebemærkninger

- Brug ikke **cobas®** CMV-testreagenser, **cobas®** CMV Control Kit, **cobas®** NHP Negative Control Kit eller **cobas omni**-reagenser efter deres udløbsdato.
- Genanvend ikke forbrugsartikler. De er kun beregnet til engangsbrug.
- Se brugermanualen til **cobas®** 6800/8800-systemerne for at få oplysninger om korrekt vedligeholdelse af instrumenterne.

Kørsel af cobas® CMV

cobas® CMV kan køres med én påkrævet prøvevolumen på 500 µl. Testproceduren er beskrevet i detaljer i brugermanualen til **cobas®** 6800/8800-systemerne. Figur 2 nedenfor opsummerer proceduren.

Figur 2 **cobas®** CMV-procedure



Resultater

cobas® 6800/8800-systemerne beregner automatisk CMV DNA-koncentrationen for prøverne og kontrollerne. CMV DNA-koncentration er udtrykt i internationale enheder pr. milliliter (IE/ml).

Kvalitetskontrol og validitet af resultater

- Én negativ kontrol [(-) C] og to positive kontroller, en lav positiv kontrol [CMV L(+)C] og en høj positiv kontrol [CMV H(+)C] processeres med hver batch.
- I cobas® 6800/8800-softwaren og/eller -rapporten kontrolleres for markeringer og deres tilhørende resultater for at sikre, at batchen er valid.
- Batchen er valid, hvis der ikke vises nogen markeringer for de tre kontroller, der inkluderer én negativ kontrol og to positive kontroller: CMV L(+)C, CMV H(+)C. Det negative kontrolresultat vises som (-) C, og de lave og høje positive kontroller vises som CMV L(+)C og CMV H(+)C.

Resultater erklæres automatisk invalide af cobas® 6800/8800-softwaren på baggrund af fejl i negative og positive kontroller.

Kontrolmarkeringer

Tabel 9 Kontrolmarkeringer for negative og positive kontroller

Negativ kontrol	Markering	Resultat	Fortolkning
(-) C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Et invalidd resultat eller det beregnede titerresultat for den negative kontrol er ikke negativt.
Positiv kontrol	Markering	Resultat	Fortolkning
CMV L(+)C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Et invalidd resultat, eller det beregnede titerresultat for den lave positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.
CMV H(+)C	Q02 (Kontrolbatch mislykkedes)	Invalid	Et invalidd resultat, eller det beregnede titerresultat for den høje positive kontrol er ikke inden for det tildelte interval.

For invalide batches skal man gentage testen af hele batchen, herunder prøver og kontroller.

Fortolkning af resultater

For valide batches skal hver enkelt prøve kontrolleres for markeringer i **cobas**® 6800/8800-softwaren og/eller -rapporten. Resultatfortolkningen skal være som følger:

- En valid batch kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.

Tabel 10 Target-resultater til individuel target-resultatfortolkning

Resultater	Fortolkning
Target Not Detected	CMV DNA ikke detekteret. Rapportér resultater som "CMV ikke påvist".
< Titer Min	Den beregnede titer er under den lave kvantificeringsgrænse (LLoQ) for analysen. Rapportér resultater som "CMV påvist, under (titer min.)". Titer min. = 34,5 IE/ml
Titer	Det beregnede titerresultat er inden for det lineære område af analysen – større end eller lig med titer min. og mindre end eller lig med titer maks. Rapportér resultater som "(Titer) i CMV påvist".
> Titer Max ^a	Den beregnede titer er over den øvre kvantificeringsgrænse (ULoQ) for analysen. Rapportér resultater som "CMV påvist, større end (titer maks.)". Titer maks. = 1,0E+07 IE/ml

a Prøveresultat > Titer maks. henviser til CMV-positive prøver, der er påvist med titre over den øvre grænse for kvantificering (ULoQ). Hvis der ønskes et kvantitativt resultat, skal den oprindelige prøve fortyndes med CMV-negativt humant EDTA-plasma, og testen gentages. Multiplicér det rapporterede resultat med fortyndingsfaktoren.

Begrænsninger ved procedurerne

- **cobas**® CMV er kun evalueret til brug sammen med **cobas**® CMV Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent og **cobas omni** Wash Reagent til brug på **cobas**® 6800/8800-systemerne.
- Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer til prøveindsamling, -opbevaring og -behandling.
- Denne test er kun valideret til brug med EDTA-plasma. Test af andre prøvetyper med **cobas**® CMV kan medføre unøjagtige resultater. Målinger af plasmavirusbelastningen er ikke direkte sammenlignelige med dem fra andre prøvetyper.
- Kvantificeringen af CMV DNA kan påvirkes af prøvetagningsmetoder, patientfaktorer (dvs. alder, forekomst af symptomer) og/eller infektionsstadiet.
- Selvom de er sjældne, kan mutationer i de bedst konserverede områder i CMV DNA-polymerasegenet (UL54), som er dækket af **cobas**® CMV, påvirke primere og/eller probebindingsresultater, hvilket medfører underkvantificering af eller manglende evne til at detektere virussen.
- På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metodekorrelationsundersøgelser i laboratoriet for at påvise teknologiske forskelle, før der skiftes fra én teknologi til en anden. Brugerne bør følge de aktuelle politikker/procedurer.
- **cobas**® CMV-testen er ikke beregnet til brug ved screening af blod eller blodprodukter for tilstedeværelsen af CMV og er ikke valideret som diagnostisk test til konfirmering af forekomsten af CMV-infektion.

Vurdering af ikke-klinisk performance

Vigtige egenskaber for performance

Detektionsgrænse (LoD)

WHO International Standard

Detektionsgrænsen for cobas® CMV blev bestemt ved at analysere serielle fortyndinger af 1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus DNA for Nucleic Acid Amplification Technology Assays (1st HCMV WHO International Standard) fra NIBSC på CMV-negativt humant EDTA-plasma. Paneler med otte koncentrationsniveauer samt en blank blev testet ved hjælp af tre lot af cobas® CMV-testreagenser, flere kørsler, dage, brugere og instrumenter.

Resultaterne for EDTA-plasma vises i Tabel 11. Undersøgelsen påviste, at cobas® CMV detekterede CMV DNA ved en koncentration på 23 IE/ml eller større med en hit rate på ≥ 95 %.

Tabel 11 Detektionsgrænse i EDTA-plasma

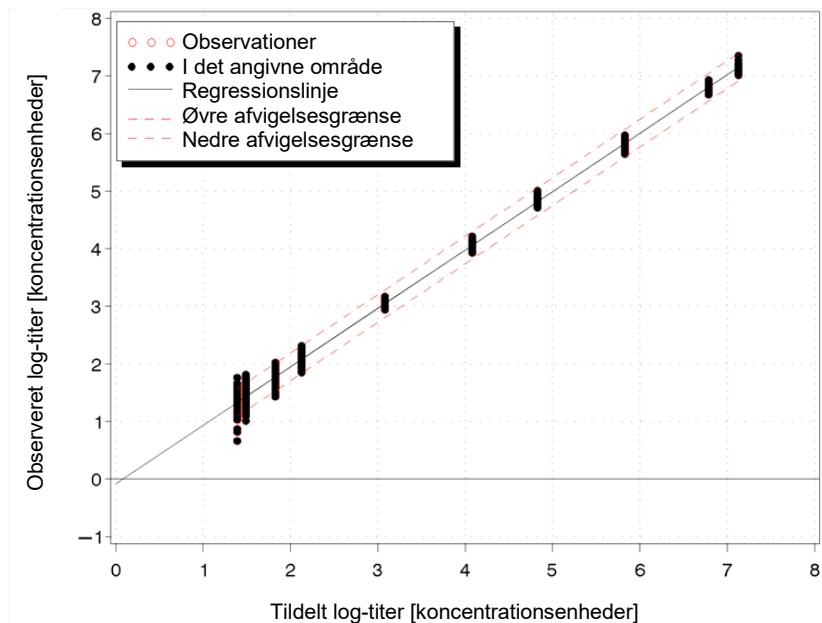
Koncentration i inptitter (CMV DNA IE/ml)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	188	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
LoD via PROBIT ved 95 % hit rate	20,6 IE/ml 95 % konfidensinterval: 17,9-24,3 IE/ml		

Lineært interval

Lineariteten for cobas® CMV blev evalueret ved hjælp af en fortyndingsserie bestående af 10 panelmedlemmer med CMV-genotype gB-1-DNA-koncentrationer, som spænder over analysens lineære område ($2,45\text{E}+01$ IE/ml til $1,34\text{E}+07$ IE/ml). Hvert panelmedlem blev testet i 48 bestemmelser med tre lot af cobas® CMV-testreagenser, og resultaterne af undersøgelsen er vist i Figur 3.

cobas® CMV blev påvist at være lineær fra $2,45\text{E}+01$ IE/ml til $1,34\text{E}+07$ IE/ml.

Figur 3 Bestemmelse af lineært område i EDTA-plasma



Præcision – i laboratoriet

Præcisionen af cobas® CMV blev bestemt ved analyse af serielle fortyndinger af dyrket virus med høj titer (Merlin, gB-1-genotype) i CMV-negativt EDTA-plasma. Ti fortyndingsniveauer blev testet i 48 bestemmelser for hvert niveau med tre lot af cobas® CMV -testreagenser ved hjælp af tre instrumenter og tre brugere over 12 dage. Hver af prøverne blev kørt igennem hele cobas® CMV-proceduren på et fuldautomatisk cobas® 6800/8800-system. Den angivne præcision repræsenterer derfor alle aspekter af testproceduren. Resultaterne vises i Tabel 12.

cobas® CMV viste høj præcision for tre lot med reagenser, der blev testet på tværs af et koncentrationsområde på $2,45\text{E}+01$ IE/ml til $1,34\text{E}+07$ IE/ml.

Tabel 12 Præcision i laboratoriet mht. cobas® CMV

Nominel koncentration (IE/ml)	Tildelt koncentration (IE/ml)	EDTA-plasma			
		Lot 1	Lot 2	Lot 3	Alle lot
		SD	SD	SD	Poolet SD
2,00E+07	1,34E+07	0,03	0,06	0,02	0,04
9,11E+06	6,11E+06	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	6,71E+05	0,05	0,03	0,06	0,05
1,00E+05	6,71E+04	0,06	0,05	0,03	0,05
1,80E+04	1,21E+04	0,06	0,04	0,05	0,05
1,80E+03	1,21E+03	0,04	0,03	0,04	0,04
2,00E+02	1,34E+02	0,13	0,10	0,11	0,12
1,00E+02	6,71E+01	0,14	0,11	0,09	0,12
4,60E+01	3,09E+01	0,20	0,23	0,17	0,20
3,65E+01	2,45E+01	0,22	0,20	0,23	0,22

Bekræftelse af genotype

Performance for cobas® CMV på CMV glykoprotein B-genotyper blev evalueret ved hjælp af:

- Bekræftelse af detektionsgrænsen for glykoprotein B-genotyperne 2 til og med 4
- Bekræftelse af linearitetsområdet for genotyperne 2 til og med 4

Bekræftelse af detektionsgrænsen for glykoprotein B-genotyperne gB-2, gB-3 og gB-4

CMV-cellekultursupernatanter for tre forskellige glykoprotein B-genotyper (gB-2, gB-3 og gB-4) blev fortyndet til tre forskellige koncentrationsniveauer i CMV-negativt EDTA-plasma. Hit rate-bestemmelsen blev udført med 63 bestemmelser for hvert niveau. Testen blev foretaget med tre lot af cobas® CMV-reagenser. Resultaterne vises i Tabel 13. Disse resultater bekræfter, at cobas® CMV detekterede CMV DNA for tre forskellige genotyper ved koncentrationer på 34,5 IE/ml med en hit rate på ≥ 95 %.

Tabel 13 Bekræftelse af detektionsgrænsen for CMV DNA-genotypen

Genotype	17,25 IE/ml			34,5 IE/ml			51,75 IE/ml		
	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)
gB-2	63	61	96,8 (99,6 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-3	63	57	90,5 (96,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-4	63	55	87,3 (94,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Øvre ensidet 95 % konfidensinterval

Bekræftelse af linearitetsområdet for genotyperne gB-2, gB-3 og gB-4

Den fortyndingsserie, der bruges ved bekræftelsen af linearitetsundersøgelsen af genotyper for cobas® CMV, bestod af syv panelmedlemmer, der spænder over det lineære område for analysen. Testen blev foretaget med to lot af cobas® CMV-reagenser. Der blev testet 16 bestemmelser pr. niveau i EDTA-plasma.

Det lineære område for cobas® CMV blev bekræftet for alle tre genotyper (gB-2, gB-3 og gB-4).

Bekræftelse af lægemiddelresistente CMV-prøver

Performance for cobas® CMV på lægemiddelresistente CMV-prøver blev evalueret ved hjælp af:

- Bekræftelse af detektionsgrænsen for alle CMV-prøver, der var resistente for begge lægemidler (resistente over for ganciclovir, valganciclovir, cidofovir eller foscarnet)
- Bekræftelse af linearitetsområdet for lægemiddelresistente CMV-prøver (resistente over for ganciclovir, valganciclovir, cidofovir eller foscarnet)

Bekræftelse af detektionsgrænsen for lægemiddelresistente CMV-prøver (resistente over for foscarnet eller ganciclovir, valganciclovir og cidofovir)

Cellekultursupernatanter for to forskellige lægemiddelresistente CMV-prøver (resistente over for foscarnet eller ganciclovir, valganciclovir og cidofovir) blev fortyndet til tre forskellige koncentrationsniveauer i CMV-negativt EDTA-plasma. Hit rate-bestemmelsen blev udført med 63 bestemmelser for hvert niveau. Testen blev foretaget med tre lot af cobas® CMV-reagenser. Resultaterne vises i Tabel 14. Disse resultater bekræfter, at cobas® CMV detekterede CMV DNA for to forskellige prøver, der var resistente over for foscarnet eller ganciclovir, valganciclovir og cidofovir ved koncentrationer på 34,5 IE/ml med en hit rate på $\geq 95\%$.

Tabel 14 Bekræftelse af detektionsgrænsen for lægemiddelresistente CMV-prøver

Lægemiddel-resistent	Mutations-sted i UL54	17,25 IE/ml			34,5 IE/ml			51,75 IE/ml		
		Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)	Antal valide bestemmelser	Antal positive	Hit rate i % (95 % CI*)
Foscarnet	E756Q	63	58	92,1 (97,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	L545S	63	59	93,7 (98,2 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Øvre ensidet 95 % konfidensinterval

Bekræftelse af linearitetsområdet for lægemiddelresistente CMV-prøver (resistente over for foscarnet eller ganciclovir, valganciclovir og cidofovir)

Den fortyndingsserie, der bruges ved bekræftelsen af lægemiddelresistente CMV-prøver for linearitetsundersøgelsen af cobas® CMV, bestod af syv panelmedlemmer, der spænder over det lineære område for analysen. Testen blev foretaget med to lot af cobas® CMV-reagenser. Der blev testet 16 bestemmelser pr. niveau i EDTA-plasma.

Det lineære område for cobas® CMV blev bekræftet for begge to lægemiddelresistente CMV-prøver (resistente over for foscarnet eller ganciclovir, valganciclovir og cidofovir).

Specificitet

Specificiteten for cobas® CMV blev bestemt ved at analysere CMV-negative EDTA-plasmaprøver fra individuelle donorer. Sekshundredeogotte individuelle EDTA-plasmaprøver blev testet med to lot med cobas® CMV-reagenser. Alle prøver blev testet negative for CMV DNA. I testpanelet var specificiteten for cobas® CMV 100 % (nedre ensidet 95 % konfidensgrænse: 99,5 %).

Analytisk specificitet

Den analytiske specificitet for cobas® CMV blev evalueret ved at fortynde et panel af mikroorganismer til en koncentration på 1,00E+06 partikler, kopier, IE, genomækvivalenter eller CFU/ml med CMV DNA-positivt og CMV DNA-negativt EDTA-plasma. De specifikke organismer, der blev testet, er angivet i tabel 15. Hvert panelmedlem blev evalueret med cobas® CMV. Ingen af ikke-CMV-patogenerne udviste interferens med testens performance.

Tabel 15 Mikroorganismer, der er testet for krydsreaktivitet

Vira	Bakterier	Gær
Adenovirus, type 5	Propionibacterium acnes	Aspergillus niger
BK polyomavirus	Staphylococcus aureus	Candida albicans
Epstein Barr-virus	Chlamydia trachomatis	Cryptococcus neoformans
Hepatitis B-virus	Clostridium perfringens	
Hepatitis C-virus	Enterococcus faecalis	
Herpes simplexvirus, type1	Escherichia coli	
Herpes simplexvirus, type 2	Klebsiella pneumoniae	
Human herpesvirus, type 6	Listeria monocytogenes	
Human herpesvirus, type 7	Mycobacterium avium	
Human herpesvirus, type 8	Neisseria gonorrhoeae	
Human immunodefektvirus-1	Staphylococcus epidermidis	
Human immunodefektvirus-2	Streptococcus pyogenes	
Human papillomavirus	Mycoplasma pneumoniae	
JC-virus	Salmonella typhimurium	
Parvovirus B19	Streptococcus pneumoniae	
Varicella-Zoster-virus		

Analytisk specificitet – interfererende stoffer

Høje niveauer af triglycerider (34,5 g/l), konjugeret bilirubin (0,25 g/l), ukonjugeret bilirubin (0,25 g/l), albumin (58,7 g/l), hæmoglobin (2,9 g/l) og humant DNA (2 mg/l) i prøver blev testet ved tilstedeværelse og fravær af CMV DNA. De testede endogene interferenser udviste ingen interferens med testens performance for **cobas®** CMV.

Effekten af tilstedeværelsen af autoimmune sygdomme, som f.eks. systemisk lupus erythematosus (SLE), reumatoid arthritis (RA) og antinukleært antistof (ANA), blev også evalueret ved tilstedeværelse og fravær af CMV DNA. Derudover blev de lægemiddelstoffer, der er angivet i Tabel 16, testet ved tre gange C_{max} ved tilstedeværelse og fravær af CMV DNA.

Alle potentielt interfererende stoffer viste sig ikke at interferere med testens performance.

Tabel 16 Lægemiddelstoffer, der er testet for interferens med kvantificeringen af CMV DNA ved hjælp af **cobas®** CMV

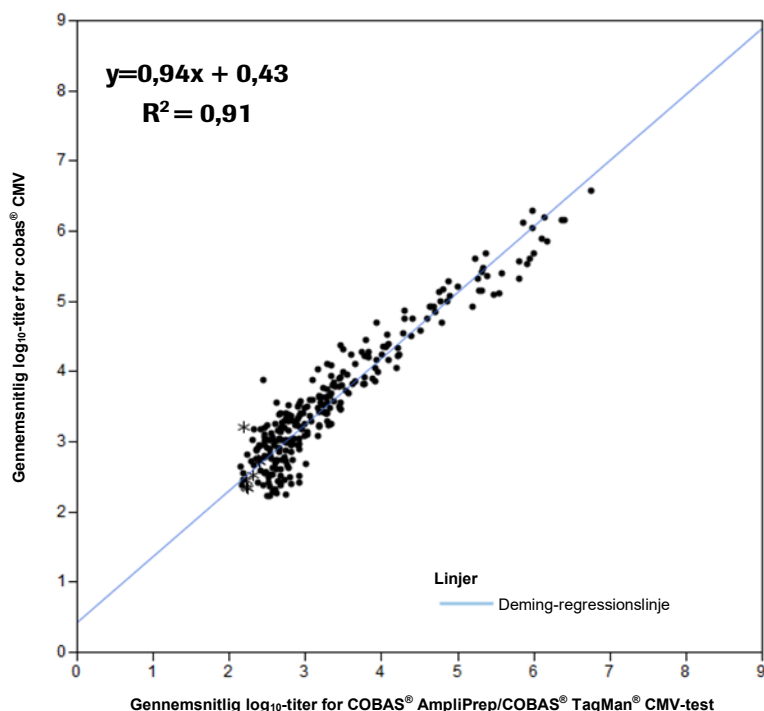
Lægemiddelklasse	Lægemidlets generiske navn	
Antimikrobiel	Cefotetan	Sulfamethoxazol
	Kaliumclavulanat	Ticarcillin disodium
	Fluconazol	Trimethoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam natrium	
Forbindelser til behandling af herpesvira	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
Immunsuppressivt lægemiddel	Azathioprin	Prednison
	Cyclosporin	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Mycophenolat mofetil	
	Mycophenolsyre	

Performance sammenlignet med COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-testen

Performance for cobas® CMV-testen og COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-testen blev sammenlignet ved analyse af EDTA-plasmaprøver fra CMV-inficerede patienter. I alt var 275 EDTA-plasmaprøver, der blev testet i dobbelttest og repræsenterede alle CMV-genotyper, valide og inden for kvantificeringsområdet for begge test. Der blev foretaget en Deming-regressionsanalyse.

Deming-regressionsresultaterne vises i Figur 4.

Figur 4 Regressionsanalyse for cobas® CMV-testen ift. den kvantitative CAP/CTM CMV-test



Systemfejlfrekvens

Systemfejlfrekvensen for cobas® CMV blev bestemt ved at teste 100 bestemmelser af EDTA-plasma beriget med en CMV-positiv klinisk prøve. Disse prøver blev testet ved en koncentration på ca. 3 x LoD.

Resultaterne af denne undersøgelse viste, at alle bestemmelser var valide og positive for CMV-target, hvilket medførte en generel systemfejlfrekvens på 0 % (95 % konfidensinterval 0 %-3,6 %).

Krydskontaminering

Krydskontamineringsforholdet for cobas® CMV blev bestemt ved at teste 240 bestemmelser af en normal CMV-negativ human EDTA-plasmaprøve og 225 bestemmelser af en CMV-prøve med høj titer ved 1,00E+06 IE/ml. I alt blev der udført fem kørsler med positive og negative prøver i en checkerboard-konfiguration.

Alle 240 bestemmelser af den negative prøve var negative, hvilket medførte et krydskontamineringsforhold på 0 % (95 % konfidensinterval 0 %-1,5 %).

Yderligere oplysninger

Vigtige testfunktioner

Prøvetype	EDTA-plasma
Mindste påkrævede prøvemængde	500 µl
Prøvebehandlingsvolumen	350 µl
Analytisk sensitivitet	34,5 IE/ml
Lineært interval	34,5 IE/ml til 1E+07 IE/ml
Specificitet	100 %
Genotyper påvist	CMV glykoprotein B-genotype 1-4
Lægemiddelresistente CMV-prøver detekteret	CMV-prøver, der var resistente over for ganciclovir, valganciclovir, cidofovir og foscarnet

Symboler

Følgende symboler anvendes ved Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabel 17 Symboler, der er anvendt ved Roche PCR-diagnostiske produkter

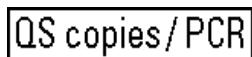
	Alder eller fødselsdato		Fremstillingsdato
	Hjælpesoftware		Distribueret af
	Tildelt interval (kopier/ml)		Må ikke genbruges
	Tildelt interval (IE/ml)		Kvinder
	Autoriseret repræsentant i EF		Kun til evaluering af IVD-performance
	Barkodedataark		Global Trade Item Number
	Batchkode		Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
	Biologisk fare		Nedre grænse for tildelt interval
	Katalognummer		Mænd
	Prøvetagningsdato		Producent
	Se brugsanvisning		Negativ kontrol
	Indeholder tilstrækkeligt til $<n>$ tests		Usteril
	Indhold i pakning		Patientnummer
	Kontrol		Patientnavn



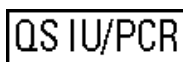
Riv her



Positiv kontrol



QS kopier pr. PCR-reaktion.
Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.



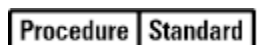
QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.



Serienummer



Sted



Standardprocedure



Steriliseret med ethylenoxid



Opbevares mørkt



Temperaturbegrænsning



Testdefinitionsfil



CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik



Denne side op



Unik udstyrsidentifikation



Ultrasensitive-procedure



Øvre grænse for tildelt interval



Urinpåfyldningslinje

Rx Only

Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.



Sidste anvendelsesdato



Udstyr til patientnær test



Udstyr, der ikke er til patientnær test



Udstyr til selvtest



Udstyr, der ikke er til selvtest

Producent og distributører

Tabel 18 Producent og distributører



Produceret i USA

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Fremstillet i USA

Distributed by Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemærker og patenter

Dette produkt er underlagt et eller flere amerikanske patentnr. 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8129118 og 6727067 samt tilsvarende udenlandske patenter for hver af disse.

COBAS, COBAS OMNI, AMPERASE, AMPLICOR, AMPLICOR CMV MONITOR, AMPLIPREP og TAQMAN er varemærker, der tilhører Roche.

Vacutainer® er et registreret varemærke, der tilhører Becton Dickinson & Company.

ProClin® er et registreret varemærke tilhørende Rohm and Haas Company.

Alle øvrige produktnavne og varemærker tilhører deres respektive ejere.

Teknikken til forebyggelse af afsmitning i AmpErase®-enzymet er omfattet af de amerikanske patentnr. 7,687,247, der tilhører Life Technologies og er licenseret til Roche Molecular Systems, Inc.

Se <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Referencer

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattson JR, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. 4th ed. London; John Wiley and Sons, 2000: pp. 79-116.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2675-2706.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus. Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin Heidelberg; Springer-Verlag: 2008, pp. 297-313.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. Rev Infect Dis. 1983;5:205-215.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. Immunol Ser. 1989;44:507-534.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev. 1992;5:204-210.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2629-2674.
8. Asberg A, Humar A, Rollag H, et al.; A VICTOR Study Group. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. Am J Transplant. 2007;7:2106-2113.
9. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. J Infect Dis. 2002;186:829-833.
10. 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;68:1305-1311.
11. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. Transplantation 2010;89(7):779-95.
12. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.; Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. Transplantation. 2013;96:333-360.
13. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, Rolles K, Griffiths PD, Emery VC. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. J Infect Dis. 1997;176:1484-1490.
14. Razonable RR, Emery VC; 11th Annual Meeting of the IHMF (International Herpes Management Forum). Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27–29 February 2004. Herpes. 2004;11:77-86.
15. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. J Clin Virol. 2008;41:237-241.
16. Salmon-Céron D, Mazon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS. 2000;14:1041-1049.

17. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, Grywacz M, Knight S, Griffiths PD. Quantitative effects of valacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis*. 1999;180:695-701.
18. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS*. 1997;11:889-893.
19. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-887.
20. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al.; American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice; Canadian Society of Transplantation. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transpl*. 2009;9:258-268.
21. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clinical and Applied Immunology Reviews*. 2002;2:155-167.
22. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant*. 2005;5:218-227.
23. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-128.
24. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-493.
25. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-878.
26. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-417.
27. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-994.
28. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc. Rev. 4.0 03/2021	Opdateret advarsler om farer. Symbolet Rx Only er indsat på første side. Tilføjet "Fremstillet i"-bemærkning. Opdateret afsnittet Varemærker og patenter. Adresserne på distributører er opdateret. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.