

## EBV Quant -määritys (Panther Fusion™)

Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön  
Ainoastaan vientiin Yhdysvalloista

### SISÄLLYS

<b>Yleisiä tietoja</b> .....	<b>2</b>
Käyttötarkoitus .....	2
Testin tiivistelmä ja selitys .....	2
Menetelmän toimintaperiaate .....	2
Varoitukset ja varotoimet .....	3
Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset .....	6
Näytteiden ottaminen, käsittely ja säilyttäminen .....	7
Panther Fusion -järjestelmässä säilytettävät näytteet .....	8
Näytteen siirto .....	8
<b>Panther Fusion -järjestelmä</b> .....	<b>9</b>
Toimitetut reagenssit ja materiaalit .....	9
Tarvittavat materiaalit, joita saa erikseen .....	10
Valinnaiset materiaalit .....	11
Panther Fusion -järjestelmän testausmenetelmä .....	11
Menetelmää koskevia huomautuksia .....	13
<b>Laadunvalvonta</b> .....	<b>14</b>
Määrittämiseen kalibrointi .....	14
Negatiiviset ja positiiviset kontrollit .....	14
Sisäinen kontrolli .....	14
<b>Tulosten tulkinta</b> .....	<b>15</b>
<b>Rajoitukset</b> .....	<b>16</b>
<b>Suorituskyky</b> .....	<b>17</b>
Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä standardia .....	17
Lineaarinen alue .....	17
Kvantitioinnin alaraja käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä standardia .....	18
Kvantitioinnin alarajan (LLoQ) vahvistus EBV-genotyyppien kesken .....	19
Jäljitettävyyden WHO:n 1. kansainväliseen standardiin .....	20
Mahdollisesti häiritsevät aineet .....	20
Analyttinen spesifisyys .....	22
Menetelmän korrelaatio .....	23
Näytteiden välinen kontaminaatio / ristikontaminaatio .....	23
<b>Lähdeluettelo</b> .....	<b>24</b>
<b>Yhteystiedot</b> .....	<b>25</b>

## Yleisiä tietoja

### Käyttötarkoitus

Panther Fusion™ EBV Quant -määritys on täysin automaattinen reaaliaikainen nukleinihappojen *in vitro* -PCR (RT-PCR) -monistustesti, jolla määritetään kvantitatiivisesti ihmisen Epstein-Barr-viruksen (EBV) DNA:n esiintyminen ihmisen EDTA-plasmanäytteissä.

Panther Fusion EBV Quant -määritys on tarkoitettu auttamaan diagnoosissa ja elinsiirtopotilaiden ja hematopoeettisia kantasolusiirteitä saaneiden potilaiden hoidossa.

Panther Fusion EBV Quant -määritystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi EBV:n verestä tai verivalmisteista havaitsemisen seulontamäärityksenä. Tämä määritys on tarkoitettu käytettäväksi Panther Fusion -järjestelmän kanssa.

### Testin tiivistelmä ja selitys

EBV on hyvin yleisesti esiintyvä, lineaarinen kaksoisjuosteinen DNA-virus, jonka koko on 172 emäsparia ja joka kuuluu herpesvirusten sukuun. EBV-genotyyppejä on kaksi, tyyppi 1 ja 2, jotka erotetaan toisistaan EBNA-2-geenin eroavaisuuksien perusteella.

Primaarin infektion jälkeen EBV tunkeutuu verenkierron B-lymfosyyttiin ja pysyy sen jälkeen latentissa tilassa. Arviolta 90 %:lla maailman väestöstä on EBV-infektio.<sup>1</sup> Immunokompetenteilla henkilöillä EBV-infektio saattaa olla oireeton lapsuuden aikana. Aikuisilla EBV-infektio saattaa kuitenkin johtaa tarttuvaan mononukleosiiniin<sup>2</sup> ja se liittyy erilaisiin syöpätyyppeihin: lymfoomat, leukemiat, epiteelin pahanlaatuiset kasvaimet ja mahasyöpä.<sup>3</sup>

Immuunipuutteisilla henkilöillä, kuten elinsiirtopotilailla ja HIV-tartunnan saaneilla henkilöillä, EBV:n uudelleenaktivoituminen saattaa johtaa pahanlaatuiseen lymfoproliferaatioon, ja se on tärkeä sairastavuuden ja kuolleisuuden syy. Suurin osa näistä EBV:hen liittyvistä kasvaimista, jotka tunnetaan nimellä elinsiirron jälkeinen lymfoproliferatiivinen tauti (PTLD), esiintyy yleensä ensimmäisen elinsiirron jälkeisen vuoden aikana.<sup>3</sup>

Kvantitatiivinen nukleinihapon monistustestaus kokoveri- tai plasmanäytteistä on ensisijainen EBV-infektion ja -taudin seurantamenetelmä elinsiirtopotilaissa, koska se on nopea, herkkä, helppo ja noninvasiivinen. Uusimmat ohjeet suosittelevat EBV-viruskuorman viikoittaista seurantaa EBV-hoidon aloituspäätöksen tueksi ja hoitovasteen seuraamiseksi.<sup>4</sup>

Yleensä suuremmat viruskuorman arvot korreloivat EBV:hen liittyvän taudin lisääntyneen riskin kanssa.<sup>5</sup> Näin ollen EBV:n DNA:n kvantitatiivinen määritys yhdessä kliinisten oireiden ja muiden keskeisten laboratoriotestien tulosten kanssa on ratkaisevan tärkeää EBV-infektiota sairastavien potilaiden hoidossa.

### Menetelmän toimintaperiaate

Panther Fusion -järjestelmä tekee näytteen käsittelystä, mukaan lukien solun hajottaminen, nukleinihapon sieppaus, monistus ja tunnistus, täysin automaattista Panther Fusion EBV Quant -määritystä varten. Panther Fusion EBV Quant -määritys kohdistuu hyvin konservoituneeseen EBNA-1-geeniin EBV-viruksen DNA:n tarkan kvantitoinnin varmistamiseksi. Määritys on standardoitu WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi: 09/260) mukaan EBV:n osalta.<sup>6</sup>

**Näytteen käsittely ja nukleiinihapon sieppaus:** Sisäinen kontrolli (IC-X) lisätään automaattisesti jokaiseen näytteeseen Fusion-sieppausreagenssi B:n käyttöliuoksen (wFCR-B) kautta tarkkailemaan reagenssin toimintahäiriön tai estävien aineiden aiheuttamaa häiriötä näytteen käsittelyn, monistuksen ja tunnistuksen aikana. Näytteet lisätään ensin Fusion-sieppausreagenssi B:hen (FCR-B) ja Fusion-tehostereagenssi B:hen (FER-B) nukleiinihapon vapauttamiseksi magneettisiin hiukkasiin hybridisoitumista varten. Siepatut hiukkaset erotetaan jäljelle jääneestä näytematriisista magneettikentässä joukolla pesuvaiheita, joissa käytetään mietoa pesuainetta. Siepattu nukleiinihappo uutetaan sitten magneettihiukkasista reagenssilla, jolla on alhainen ionivahvuus (Panther Fusion -eluutiopuskuri).

**Huomautus:** Panther Fusion -järjestelmä lisää IC-B:n FCR-B:hen. Kun IC-B on lisätty FCR-B:hen, seosta kutsutaan wFCR-B:ksi.

**PCR-monistus ja fluoresenssin tunnistus:** Kylmäkuivatun yksikköannoksen PCR-pääseos sekoitetaan Panther Fusion -sekoituspuskuriin ja yhdistetään eluoituun nukleiinihappoon reaktioputkessa. Panther Fusion -öljyreagenssia lisätään estämään haihtuminen PCR-reaktion aikana. PCR-pohjainen kohteen monistus tapahtuu sen jälkeen kohdekohtaisilla forward- ja reverse-alkukkeilla ja koettimella, mistä syntyy fluoresenssisignaali.

Panther Fusion -järjestelmä tuottaa Ct-arvon suhteessa testinäytteiden EBV-pitoisuuteen. Näytteen pitoisuus määritetään Panther Fusion -järjestelmäohjelmistolla käyttämällä kunkin reaktion EBV-viruksen Ct-arvoja ja vertaamalla niitä kalibrointikäyrään. EBV-tulokset ilmoitetaan yksiköissä IU/mL ja  $\log_{10}$  IU/mL plasmanäytteille. Kohteet ja Panther Fusion -järjestelmässä niiden tunnistamiseen käytettävät kanavat esitetään alla olevassa taulukossa:




Kohde	Kohdegeeni	Instrumentin kanava
EBV	EBNA-1	HEX
Sisäinen kontrolli	Ei sovellu	Quasar 705

## Varoitukset ja varotoimet

- Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.
- Ammattikäyttöön.
- Lue koko pakkausseloste ja *Panther/Panther Fusion -järjestelmän käyttäjän käsikirja* huolellisesti ennen tämän määrittämisen suorittamista.
- Panther Fusion -vahvennereagenssi B (FER-B) on syövyttävää, haitallista nieltynä ja aiheuttaa vakavia palovammoja ihoon sekä silmävaurioita.
- Vain tämän määrittämisen käyttöön ja mahdollisesti tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyyn asianmukaisesti koulutettu henkilökunta saa suorittaa tässä kuvattuja toimenpiteitä. Jos nestettä läikkyä, suorita desinfiointi käyttämällä asianmukaisia paikallisia toimenpiteitä.
- Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Noudata yleisiä varotoimia tämän määrittämisen suorittamisen aikana. Laboratorion johtajan on määritettävä oikeanlaiset käsittely- ja hävitysmenetelmät. Vain tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyyn asianmukaisesti koulutettu henkilökunta saa suorittaa tämän diagnostiikkatoimenpiteen.<sup>7</sup>

- G. Käytä tavallisia laboratoriotä koskevia varotoimia. Älä koskaan pipetoi suun avulla. Älä syö tai juo mitään tai tupakoi määritetyillä työskentelyalueilla. Käytä kertakäyttöisiä, puuterittomia käsineitä, suojalaseja ja laboratoriotakkaa käsitellessäsi näytteitä ja reagensseja. Pese kädet läpikotaisin, kun olet käsitellyt näytteitä ja reagensseja.
- H. Käytä vain toimitettuja tai määritettyjä kertakäyttöisiä laboratoriotarvikkeita.
- I. Työskentelypinnat, pipetit ja muut laitteet on desinfioitava säännöllisesti 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella.
- J. Hävitä kaikki materiaalit, jotka ovat olleet kosketuksissa näytteiden ja reagenssien kanssa, sovellettavien kansallisten, kansainvälisten ja alueellisten säännösten mukaisesti.
- K. Pidä huolta, että näytteen kuljetuksen aikana säilytysolosuhteet ovat oikeanlaiset, jotta näyte säilyy kunnossa. Näytteen säilyvyyttä muissa kuin suositelluissa toimitusolosuhteissa ei ole arvioitu.
- L. Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota näytteiden irrottamisen tai putkien avaamisen aikana. Näytteet voivat sisältää erittäin suuren määrän virusta tai muita organismeja. Varmista, että näytesäiliöt eivät pääse koskettamaan toisiaan, ja hävitä käytetyt materiaalit viemättä niitä avointen säiliöiden yli. Vaihda käsineet, jos ne joutuvat kosketuksiin näytteiden kanssa.
- M. Älä käytä reagensseja, kalibraattoreita tai kontrolleja viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- N. Säilytä määrityksen ainesosia suositelluissa säilytysolosuhteissa. Jos haluat lisätietoja, katso *Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset ja Panther Fusion -järjestelmän testausmenetelmä*.
- O. Älä yhdistä määritysreagensseja tai -nesteitä keskenään. Älä täytä reagensseja tai nesteitä liikaa; Panther Fusion -järjestelmä tarkistaa reagenssitasot.
- P. Vältä mikrobien ja nukleaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.
- Q. Vaadittu laaduntarkastus pitää suorittaa paikallisten, valtiollisten ja/tai liittovaltiotason määräysten tai akkreditointisäännösten tai laboratorion tavanomaisten laaduntarkastustoimenpiteiden mukaisesti.
- R. Älä käytä määrityskasettia, jos säilytuspussin sinetti on irronnut tai jos määrityskasetin kalvo ei ole paikallaan. Pyydä apua Hologicin tekniseltä tuelta, jos jompikumpi näistä tapahtuu.
- S. Älä käytä nestepusseja, jos kalvosinetti ei ole ehjä. Pyydä apua Hologicin tekniseltä tuelta, jos näin tapahtuu.
- T. Käsittele määrityskasetteja varoen. Älä pudota määrityskasetteja tai käännä niitä ympäri. Vältä altistamista ympäröivälle valolle.
- U. Eräät tämän sarjan reagenssit on merkitty vaara- ja turvallisuussymboleilla.

**Huomautus:** Vaarailmoitustiedot vastaavat EU:n käyttöturvallisuustiedotteiden (SDS) luokituksia. Aluekohtaisia vaaraviestintätietoja on kohdan Safety Data Sheet Library (käyttöturvallisuustiedotekirjasto) aluekohtaisessa käyttöturvallisuustiedotteessa sivustossa [www.hologic.com](http://www.hologic.com). Lisätietoja merkinnöistä on merkkien selitteessä osoitteessa [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

EU:n vaaratiedot	
	<p><b>Panther Fusion EBV Quant Assay Cartridge</b> ALFA-SYKLODEKSTRIINI 20–25 %</p> <p>— —</p> <p>H412 – Haitallista vesielioille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön P280 – Käytä silmiensuojainta/kasvonsuojainta</p>
	<p><b>Panther Fusion Oil</b> POLYDIMETYYLISILOKSAANI, 100-PROSENTTINEN</p> <p><b>VAROITUS</b> H315 – Ärsyttää ihoa H319 – Ärsyttää voimakkaasti silmiä</p>
	<p><b>Panther Fusion Enhancer Reagent Rgt (FER-B)</b> LITIUHIDROKSIDIMONOHYDRAATTI 5–10 %</p> <p><b>VAARA</b> H302 – Haitallista nieltynä H314 – Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa P260 – Älä hengitä pölyä/savua/kaasua/sumua/höyryä/suihketta P280 – Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta P303 + P361 + P353 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhto/suihkuta iho vedellä P305 + P351 + P338 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. P310 – Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin</p>
	

## Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset

A. Seuraavassa taulukossa näytetään tämän määrittelyn säilytys- ja käsittelyvaatimukset.

Reagenssi	Säilytys avaamattomana	Säilyvyys laitteessa/ avattuna <sup>1</sup>	Säilytys avattuna
Panther Fusion EBV Quant -määrittelykasetti	2 °C – 8 °C	60 vuorokautta	2°C – 8°C <sup>2</sup>
Panther Fusion Capture Reagent-B (FCR-B)	15°C – 30°C	30 vuorokautta	15°C – 30°C
Panther Fusion Enhancer Reagent-B (FER-B)	15°C – 30°C	30 vuorokautta	15°C – 30°C
Panther Fusion Internal Control-B (IC-B)	2 °C – 8 °C	(wFCR-B:ssä)	Ei sovelly
Panther Fusion -eluointipuskuri	15°C – 30°C	60 vuorokautta	15°C – 30°C
Panther Fusion Oil	15°C – 30°C	60 vuorokautta	15°C – 30°C
Panther Fusion Reconstitution Buffer I (sekoituspuskuri)	15°C – 30°C	60 vuorokautta	15°C – 30°C
Panther Fusion EBV Quant -kalibraattorit (1–5)	–15...–35 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo	Ei sovellettavissa – kertakäyttöinen
Panther Fusion EBV–BKV Quant High Positive Control	–15...–35 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo	Ei sovellettavissa – kertakäyttöinen
Panther Fusion EBV–BKV Quant Low Positive Control	–15...–35 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo	Ei sovellettavissa – kertakäyttöinen
Panther Fusion Transplant Negative Control (III)	–15...–35 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo	Ei sovellettavissa – kertakäyttöinen

Kun reagenssit poistetaan Panther Fusion -järjestelmästä, palauta ne välittömästi asianmukaiseen säilytyslämpötilaan.

<sup>1</sup> Panther Fusion EBV Quant -määrittelykasetin, FCR-B:n, FER-B:n ja IC-B:n kohdalla laitteessa olevan reagenssin säilymisajan laskenta alkaa, kun se asetetaan Panther Fusion -järjestelmään. Laitteessa säilyvyys alkaa Panther Fusion -sekoituspuskuri I:n, Panther Fusion -eluointipuskurin ja Panther Fusion -öljyreagenssin kohdalla, kun reagenssipakkausta käytetään ensimmäistä kertaa.

<sup>2</sup> Jos määrittelykasetti poistetaan Panther Fusion -järjestelmästä, säilytä sitä ilmatiiviissä astiassa, jossa on suositellun säilytyslämpötilan lämpöistä sikkatiivia.

B. Käytettävä Panther Fusion -sieppausreagenssi-B (wFCR-B) ja Panther Fusion - vahvennereagenssi-B (FER-B) säilyvät 60 vuorokautta, kun ne ovat suljettuina ja niitä säilytetään 15–30 °C:ssa. Älä laita niitä jääkaappiin. Älä aseta jääkaappiin.

C. Hävitä käyttämättömät reagenssit, joiden säilyvyysaika on ylitetty.

D. Vältä ristikontaminaatiota reagenssien käsittelyn ja säilytyksen aikana.

E. **Älä jäädytä reagensseja.**

F. **Älä pakasta kontrolleja tai kalibraattoreita uudelleen.**

## Näytteiden ottaminen, käsittely ja säilyttäminen

**Potilasnäytteet:** kliininen potilaasta kerätty materiaali, joka asetetaan asianmukaiseen siirtojärjestelmään. Panther Fusion EBV Quant -määrityksessä tämä sisältää kokoverinäytteet, jotka on otettu EDTA-antikoagulantteja sisältäviin putkiin tai plasman valmisteluputkiin (PPT).

**Näytteet:** yleisempi termi, jota käytetään kaikenlaisista materiaaleista, joita testataan Panther Fusion -järjestelmässä, mukaan lukien potilasnäytteet, kalibraattorit ja kontrollit.

**Huomautus:** Käsittele kaikkia näytteitä aivan kuin ne sisältäisivät mahdollisesti tartuntavaarallisia aineita. Käytä yleisiä varotoimia.

**Huomautus:** Huolehdi siitä, etteivät näytteet ristikontaminoidu käsittelyvaiheiden aikana. Hävitä esimerkiksi käytetyt materiaalit viemättä niitä avoimien putkien yli.

**Huomautus:** vain muovisia toissijaisia putkia suositellaan näytteiden säilytykseen.

### A. Näytteenotto

Seuraaviin lasi- tai muoviputkiin otettuja kokoverinäytteitä voidaan käyttää plasman valmisteluun:

- EDTA-antikoagulantteja sisältävät putket
- plasman valmistusputket (PPT:t).

### B. Näytteiden käsittely

1. Plasma: Kokoveri voidaan säilyttää 2–30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasma voidaan valmistella joko EDTA- tai PPT-putkista. Erotta plasma pelletöidyistä punasoluista käytettävän putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Plasma voidaan testata Panther Fusion -järjestelmässä primaariputkessa tai siirtää sekundaariputkeen, kuten Aptima-näytealikoottiputkeen (SAT).

Varmista riittävä näytetilavuus seuraavan taulukon avulla:

*Taulukko 1: Näytteiden minimitulavuudet*

Putki (koko ja tyyppi)	Minimitilavuus 1 rinnakkaisnäytteelle
Aptima-näytealikoottiputki (SAT)	0,6 mL
12 x 75 mm	0,9 mL
13 x 100 mm	0,9 mL
13 x 100 mm geelin kanssa	0,7 mL
16 x 100 mm geelin kanssa	1,1 mL

Jos plasmaa ei testata heti, sitä voidaan säilyttää kohdan *Näytteiden säilytysolosuhteet* ohjeiden mukaisesti. Sekundaariputkeen siirrettäessä plasma voidaan pakastaa –20 °C:n tai –70 °C:n lämpötilassa. Älä pakasta EDTA-primaarinäytteenottoputkissa olevia plasmanäytteitä.

### C. Näytteiden säilytysolosuhteet

Näytteitä voidaan säilyttää seuraavissa olosuhteissa:

#### 1. Plasman säilyvyys

- Käsittelemättömät näytteet säilyvät 24 tuntia 2–30 °C:n lämpötilassa sentrifugoinnin jälkeen.
- Käsittelemättömät näytteet säilyvät 5 päivää 2–8 °C:n lämpötilassa sentrifugoinnin jälkeen.
- Käsittelemättömät ja käsitellyt näytteet säilyvät 60 päivää –20 °C:n tai –70 °C:n lämpötilassa.

### Panther Fusion -järjestelmässä säilytettävät näytteet

Plasmanäytteet voidaan jättää Panther Fusion -järjestelmään ilman korkkia enintään 8 tunnin ajaksi. Näytteet voidaan poistaa Panther Fusion -järjestelmästä ja testata, kunhan kokonaissäilytysaika järjestelmässä ei ylitä 8 tuntia, ennen kuin Panther Fusion -järjestelmä pipetoi näytteen.

### Näytteen siirto

Säilytä näytteiden säilytysolosuhteet kuljetuksen aikana kohdan *Näytteiden ottaminen, käsittely ja säilyttäminen* mukaisesti.

**Huomautus:** *näytteet on kuljetettava soveltuvien kansallisten, kansainvälisten ja paikallisten siirtosäännösten mukaisesti.*



## Panther Fusion -järjestelmä

Panther Fusion -järjestelmä on integroitu nukleinihappojen testausjärjestelmä, joka automatisoi täysin kaikki erilaiset Panther Fusion -määrityksessä tarvittavat vaiheet näytteen käsittelystä monistukseen, tunnistukseen ja tietojen karsimiseen.

### Toimitetut reagenssit ja materiaalit

#### Määrityspakkaus

Osat	Osanro	Säilytys
<b>Panther Fusion EBV Quant -määrityskalibraattorit</b> PCAL 1 qEBV, 3 kpl/laatikko PCAL 2 qEBV, 3 kpl/laatikko PCAL 3 qEBV, 3 kpl/laatikko PCAL 4 qEBV, 3 kpl/laatikko PCAL 5 qEBV, 3 kpl/laatikko	PRD-07159	-15...-35 °C
<b>Panther Fusion EBV-BKV Quant -määrityskontrollit</b> HPC- ylärajan positiivinen kontrolli -putki, 5 kpl/laatikko LPC- alarajan positiivinen kontrolli -putki, 5 kpl/laatikko NC III -siirteen negatiivinen kontrolli -putki, 5 kpl/laatikko	PRD-07158	-15...-35 °C
<b>Panther Fusion EBV Quant -määrityskasetti, 96 testiä</b> Panther Fusion qEBV -määrityskasetti, 12 testiä, 8 kpl/laatikko	PRD-07157	2 °C – 8 °C
<b>Panther Fusion -sisäinen kontrolli B, 960 testiä</b> Panther Fusion -sisäinen kontrolli B -putki, 4 kpl/laatikko	PRD-06234	2 °C – 8 °C
<b>Panther Fusion -uuttoreagenssi-B, 960 testiä</b> Panther Fusion -sieppausreagenssi-B -pullo, 240 testiä, 4 kpl/laatikko Panther Fusion -vahvennereagenssi-B -pullo, 240 testiä, 4 kpl/laatikko	PRD-06232	15°C – 30°C
<b>Panther Fusion -eluointipuskuri, 2 400 testiä</b> Panther Fusion -eluointipuskuripakkaus, 1 200 testiä, 2 kpl/laatikko	PRD-04334	15°C – 30°C
<b>Panther Fusion -sekoituspuskuri I, 1 920 testiä</b> Panther Fusion -sekoituspuskuri I, 960 testiä, 2 per laatikko	PRD-04333	15°C – 30°C
<b>Panther Fusion -öljyreagenssi, 1 920 testiä</b> Panther Fusion -öljyreagenssi, 960 testiä, 2 per laatikko	PRD-04335	15°C – 30°C

## Tarvittavat materiaalit, joita saa erikseen

**Huomautus:** Hologicilta saatavissa oleville materiaaleille on annettu tuotenumerot, ellei toisin ole määritetty.

Materiaali	Tuotenumero
Panther-järjestelmä	303095
Panther Fusion -moduuli	PRD-04173
Panther Fusion -järjestelmä	PRD-04172
Aptima-määritysnestepakkaus (Aptima-pesuliuos, Aptiman deaktivoitinesteen puskuri ja Aptima-öljyreagenssi)	303014 (1 000 testiä)
Moniputkiyksiköt (MTU:t)	104772-02
Panther-jätepussipakkaus	902731
Panther-jäteastian kansi	504405
tai Panther-järjestelmän ajopakkaus sisältää moniputkiyksiköitä, jätepusseja, jäteastian kansia, määritysnesteitä ja automaattisen tunnistuksen reagensseja*	303096 (5 000 testiä)
Kärjet, 1 000 µL, suodattavia, sähköä johtavia, nesteen tunnistavia ja kertakäyttöisiä:  <i>Kaikki tuotteet eivät ole saatavina kaikilla alueilla. Pyydä oman alueesi tiedot paikalliselta edustajalta.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Panther Fusion -putkitelineet, 1008 testiä, 18 telinettä/laatikko	PRD-04000
Hologicin umpinaiset vaihtokorkit (kertakäyttöinen putken korkki)	PRD-06720 (100 korkkia/pussi)
Valkaisuaine, 5–8,25-prosenttinen (0,7–1,16 M) natriumhypokloriittiliuos	–
Kertakäyttöiset, jauheettomat käsineet	–
Muovitaustaiset laboratoriopöydän suojuukset	–
Nukkaamattomat liinat	–
Pipetti	–
Kärjet	–
Primaarinäytteenotto-putkivaihtoehdot (EDTA ja PPT): 13 mm x 100 mm 12 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	–
Sentrifugi	–
Vortex-sekoitin	–

\*Tarvitaan vain Panther Aptima -TMA-määrityksiin.

**Valinnaiset materiaalit**

Materiaali	Tuotenro
Toissijaisen putken vaihtoehdot:	
12 mm x 75 mm	–
13 mm x 100 mm	–
16 mm x 100 mm	–
Aptima-näytealikoittiputki (SAT) -pakkaus (100 putkea pussia kohti)	FAB-18184
Siirtoputken korkki (100 kpl:n pakkaus) <i>korkki SAT-putkea varten</i>	504415
Aptima-näytteenlaimennin	PRD-03003
Aptima-näytteenlaimenninpakkaus <i>sisältää Aptima-näytteenlaimentimen, 100 SAT:tä ja 100 korkkia</i>	PRD-03503
Siirtopipetit	–
Putkiravistelijä	–

**Panther Fusion -järjestelmän testausmenetelmä**

**Huomautus:** Jos haluat lisätietoja menetelmästä, katso Panther/Panther Fusion -järjestelmän käyttäjän käsikirja.

**A. Työskentelyalueen valmistelu**

1. Pyyhi työskentelypinnat 2,5–3,5-prosenttisella (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriittiliuoksen olla kosketuksissa pintoihin vähintään 1 minuutin ajan ja huuhtelee sen jälkeen pinnat deionisoidulla (DI) vedellä. Älä anna natriumhypokloriittiliuoksen kuivua. Peitä pöytäpinta puhtaalla, muovi- tai muovitaustaisilla imukykyisillä työpöytäpeitteillä.
2. Puhdista erillinen työskentelypinta, jossa näytteet valmistellaan. Käytä edellä kuvattua menettelyä (vaihe A.1).
3. Puhdista pipetoijat. Käytä edellä kuvattua puhdistusmenettelyä (vaihe A.1).

**B. Kalibraattorien ja kontrollien valmistelu**

Anna kalibraattorien ja kontrollien lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä toimimalla seuraavasti:

1. Poista kalibraattorit ja kontrollit säilytyksestä (–15 °C...–35 °C) ja tuo ne 15–30 °C:n lämpötilaan. Kääntelee jokaista putkea koko sulamisprosessin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

**Vaihtoehto.** Kalibraattori- ja kontrolliputket voidaan asettaa putkiravistelijaan, jossa ne sekoitetaan kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

**Huomautus:** Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä kääntäessäsi kalibraattoreita ja kontroleja. Vaahdo estää Panther Fusion -järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.

2. Kun putken sisältö on sulanut, kuivaa putken ulkopinta puhtaalla, kuivalla, kertakäyttöisellä pyyhkeellä.
3. Älä avaa putkia tässä vaiheessa, jotteivät ne kontaminoidu.

## C. Reagenssien valmistelu

1. Ota IC-B-, FCR-B- ja FER-B-pullot pois säilytyksestä.
2. Sekoita FCR-B:tä, kunnes helmet ovat täysin suspendoituneet. Vältä vaahdon muodostumista heiluttamisen aikana.
3. Avaa IC-B-, FCR-B- ja FER-B-pullot ja heitä korkit pois. Avaa Panther Fusion -järjestelmän yläosastossa sijaitseva TCR-luukku.
4. Aseta IC-B-, FCR-B- ja FER-B-pullot asianmukaisesti kohtiin TCR-karusellissa.
5. Sulje TCR-luukku.

**Huomautus:** Panther Fusion -järjestelmä lisää IC-B:n FCR-B:hen. Kun IC-B on lisätty FCR-B:hen, tätä yhdistelmää kutsutaan FCR-B-käyttöliuokseksi (wFCR-B). Jos wFCR-B ja FER-B poistetaan järjestelmästä, käytä uusia korkkeja ja aseta ne välittömästi säilytykseen asianmukaisten säilytysolosuhteiden mukaisesti.

## D. Näytteiden käsittely

**Huomautus:** Valmistele potilasnäytteet osion Näytteiden ottaminen, käsittely ja säilyttäminen ohjeiden mukaisesti ennen potilasnäytteiden lataamista Panther Fusion -järjestelmään.

Tarkasta näyteputket ennen niiden lisäämistä telineeseen. Jos näyteputkessa on kuplia tai se sisältää selvästi tavanomaista pienemmän määrän näytettä, napauta putken pohjaa kevyesti, jotta sisältö valuu pohjalle.

## E. Plasmanäytteen käsittely

1. Varmista, että primaariputkissa olevat käsitellyt näytteet tai sekundaariputkissa olevat laimentamattomat näytteet säilytetään asianmukaisesti kohdan *Näytteiden ottaminen, käsittely ja säilyttäminen* ohjeiden mukaan.
2. Varmista, että jäädytetyt näytteet on sulatettu kunnolla. Sekoita sulatettuja näytteitä vortex-sekoittimella 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
3. Anna näytteiden lämpötilan nousta 15–30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther Fusion -järjestelmässä säilytettävät näytteet* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
4. Varmista, että jokaisessa primaari- tai sekundaariputkessa on riittävästi näytettä. Katso näytteen minimitulavuus 1 rinnakkaisnäytettä varten kohdasta Taulukko 1.
5. Sentrifugoi jokaista näytettä 1 000–3 000 G:n kiihtyvyydellä 10 minuutin ajan juuri ennen näytteiden lataamista näytetelineeseen. Älä poista korkkeja tässä vaiheessa.

Katso alta vaiheesta F.2 lisätietoja telineen lataamisesta ja korkkien poistamisesta.

## F. Järjestelmän valmistelu

1. Katso ohjeita Panther Fusion -järjestelmän valmistelusta, kuten näytteiden, reagenssien, määrityskasettien ja yleisnesteiden lataamisesta, kohdista *Panther/Panther Fusion -järjestelmän käyttäjän käsikirja* ja *Menetelmää koskevia huomautuksia*.
2. Lisää näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle näyteputkelle (näyte ja tarvittaessa kalibraattorit ja kontrollit):
  - a. Avaa yhden näyteputken korkki, mutta älä ota sitä vielä pois.

**Huomautus:** Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota. Avaa näytteiden korkkeja varovasti.
  - b. Aseta näyteputki näytetelineeseen.

- c. Toista vaiheet 2.a ja 2.b kaikille jäljellä oleville näytteille.
- d. Kun näytteet on ladattu näytetelineeseen, poista jokainen näyteputken korkki ja laita ne yhteen näytetelineeseen. Kontaminaation välttämiseksi älä vie korkkia minkään muun näytetelineen tai näyteputken yli.
- e. Käytä tarvittaessa uutta, kertakäyttöistä siirtopipettiä mahdollisten kuplien tai vaahdon poistamiseen. Putkessa olevat kuplat estävät Panther Fusion -järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.
- f. Kun viimeinen korkki on poistettu, lataa näyteteline näyteosastoon.  
***Huomautus:** jos ajat samaan aikaan muita määrittäyksiä ja näytetyyppejä, kiinnitä näytepidike ennen näytetelineen asettamista näytesyvennykseen.*
- g. Toista vaiheet 2.a–2.f seuraavalle näytetelineelle.

## Menetelmää koskevia huomautuksia

### A. Kalibraattorit ja kontrollit

1. qEBV-kalibraattorit (5 putkea), EBV–BKV -alarajan positiivinen kontrolli (LPC)-, EBV–BKV -ylärajan positiivinen kontrolli- (HPC) ja siirteen negatiivinen kontrolli (NC III) -putket voidaan ladata mihin tahansa paikkaan näytetelineessä ja mihin tahansa näyteosaston kaistaan Panther Fusion -järjestelmässä. Kalibraattorin ja kontrollin pipetointi alkaa, kun EBV-näytteet on ladattu järjestelmään. Näytteiden pipetointi aloitetaan, kun toinen seuraavista kahdesta ehdosta täyttyy:
  - a. Järjestelmä käsittelee parhaillaan kalibraattoreita ja kontrolleja.
  - b. Kalibraattorien ja kontrollien validit tulokset rekisteröidään järjestelmään.
2. Kun kalibraattori ja kontrolliputket on pipetoitu, ja niitä käsitellään Panther Fusion EBV Quant -määrittystä varten, näytteet voidaan testata. Kalibroinnin tulokset ovat voimassa 60 päivää, ja kontrollin tulokset oivat voimassa enintään 30 päivää (usein järjestelmänvalvojan määrittämä), **paitsi jos:**
  - a. Kalibraattorin tulokset eivät ole valideja.
  - b. Kontrollin tulokset eivät ole valideja.
  - c. Käyttäjä pyytää uusien kontrollien/kalibraattorien suorittamista Panther Fusion -järjestelmän ohjelmistossa.
3. Jokainen uusi määrittyskasettiera, joka ladataan Panther Fusion -järjestelmään, täytyy kalibroida ennen sen käyttämistä näytteiden käsittelyyn.
4. Jokaista kalibraattoria ja jokaista kontrolliputkea voidaan käyttää vain kerran.

## Laadunvalvonta

### Määrittämiseen kalibrointi

Määrittäminen on kalibrointia, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Viisi positiivista kalibraattoria ajetaan kolmesti joka kerta, kun uusi määrittämiskasettiterä ladataan Panther Fusion -järjestelmään. Kun kalibrointi on tehty, se on voimassa enintään 60 päivää. Panther Fusion -järjestelmän ohjelmisto ilmoittaa käyttäjälle, milloin kalibrointi on tarpeen.

Käsittelyn aikana Panther Fusion -ohjelmisto vahvistaa automaattisesti kalibrointikäyrän kelpoisuuden. Jos kalibrointi ei läpäise kelpoisuustarkastuksia, Panther Fusion -järjestelmä mitätöi automaattisesti siihen liittyvät näytteet ja edellyttää uuden määrittämiskalibraattorisarjan suorittamista ennen uusien näytteiden pipetoimista.

Määrittäminen käsittelee oletusarvoisesti näytteet laimentamattomana plasmana.

### Negatiiviset ja positiiviset kontrollit

Joukko määrittämisen kontroleja on testattava kelvollisten tulosten saamiseksi. Yksi NC III:n (siirteen negatiivinen kontrolli), LPC:n (alarajan positiivinen kontrolli) ja HPC:n (ylärajan positiivinen kontrolli) rinnakkaisnäyte täytyy testata aina, kun uusi määrittämiskasettiterä ladataan Panther Fusion -järjestelmään tai kun aktiivisen kasettiterän validien kontrollien sarja on vanhentunut.

Panther Fusion -järjestelmä on määritetty vaatimaan, että määrittämiskontroleja ajetaan järjestelmänvalvojan määrittämien välein, enintään 30 vuorokauden välein. Panther Fusion -järjestelmän ohjelmisto varoittaa käyttäjää, kun määrittämiskontroleja vaaditaan, eikä se aloita uusia testejä, ennen kuin määrittämiskontrollit on asetettu järjestelmään ja niiden käsittely on aloitettu.

Käsittelyn aikana Panther Fusion -järjestelmä vahvistaa automaattisesti määrittämiskontrollien hyväksymiskriteerit. Jotta tulokset olisivat oikeita, määrittämiskontrollien pitää läpäistä joukko Panther Fusion -järjestelmän suorittamia kelpoisuustarkastuksia.

Jos määrittämiskontrollit läpäisevät kaikki kelpoisuustarkastukset, niitä pidetään kelvollisina järjestelmänvalvojan määrittämien aikavälin ajan. Kun aikaväli on kulunut umpeen, Panther Fusion -järjestelmä määrittää määrittämiskontrollit vanhentuneiksi ja uusi määrittämiskontrollisarja tarvitaan ennen uusien näytteiden pipetoimista.

Jos jokin määrittämiskontrolli ei läpäise kelpoisuustarkastuksia, Panther Fusion -järjestelmä mitätöi automaattisesti siihen liittyvät näytteet, ja uusi määrittämiskontrollisarja tarvitaan ennen uusien näytteiden pipetoimista.

### Sisäinen kontrolli

Sisäinen kontrolli lisätään jokaiseen näytteeseen uuttoprosessin aikana. Panther Fusion -järjestelmän ohjelmisto vahvistaa automaattisesti sisäisen kontrollin hyväksyntäkriteerit käsittelyn aikana. Sisäisen kontrollin tunnistusta ei vaadita näytteille, jotka ovat positiivisia EBV:n suhteen. Sisäinen kontrolli täytyy tunnistaa kaikissa sellaisissa näytteissä, jotka antavat negatiivisen EBV-tuloksen. Näytteiden, jotka eivät täytä tätä kriteeriä, raportoidaan olevan virheellisiä. Jokainen näyte, jonka tulos on virheellinen, täytyy testata uudelleen.

Panther Fusion -järjestelmän ohjelmisto tarkistaa prosessit tarkasti, kun toimenpiteet suoritetaan noudattaen tässä pakkausselosteessa ja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaassa* annettuja ohjeita.

## Tulosten tulkinta

Panther Fusion -järjestelmä määrittää automaattisesti EBV:n DNA-pitoisuuden näytteistä ja kontroleista vertaamalla tuloksia kalibrointikäyrään. EBV:n DNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/mL ja  $\log_{10}$  IU/mL. Taulukko 2 esittää tulosten tulkinnan.

Taulukko 2: Plasmatuloksen tulkinta

Ilmoitetut EBV Quant -määrityksen tulokset		
IU/mL	Log <sub>10</sub> -arvo	Tulkinta
Ei havaittu	Ei havaittu	EBV:n DNA:ta ei tunnistettu.
< 120 tunnistettu	< 2,08	EBV:n DNA tunnistetaan, mutta sen pitoisuus on alle kvantitoinnin alarajan (LLoQ).
120–1,50E09	2,08–9,18	EBV:n DNA-pitoisuus on kvantitatiivisella alueella LLoQ–ULoQ IU/mL.
> 1,50E09	> 9,18	EBV:n DNA-pitoisuus ylittää kvantitoinnin ylärajan (ULoQ).
Epäkelpo <sup>a</sup>	Epäkelpo <sup>a</sup>	Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen.

<sup>a</sup> Virheelliset tulokset näytetään sinisellä fontilla.

## Rajoitukset

- A. Tätä määritystä saa käyttää vain tähän toimenpiteeseen koulutettu henkilökunta. Näiden ohjeiden noudattamatta jättäminen saattaa johtaa virheellisiin tuloksiin.
- B. Luotettavia tuloksia saadaan vain, jos näytteenotto, kuljetus, säilytys ja käsittely tehdään vaaditulla tavalla.
- C. Vältä kontaminaatiot noudattamalla hyviä laboratoriokäytäntöjä sekä tässä pakkausselosteessa määritettyjä toimenpiteitä.
- D. Vaikkakin se on harvinaista, mutaatiot alukkeiden ja/tai koettimien kattamilla virusgenomin erittäin hyvin säilyneillä alueilla Panther Fusion EBV Quant -määrittelyssä voivat aiheuttaa viruksen alikvantitioinnin tai tunnistamisen epäonnistumisen.
- E. Negatiiviset tulokset eivät sulje pois EBV-infektion mahdollisuutta, eikä pelkästään niitä saa käyttää hoidon tai muiden hoitopäätösten perustana.
- F. Positiivinen tulos tarkoittaa, että määrittelyssä tunnistettiin kohdeviruksen nukleiinihappo. Nukleiinihappoa voi olla jäljellä, vaikka virus ei olisi enää elossa.



## Suorituskyky

### Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä standardia

Määrityksen havaitsemisraja (LoD) määritetään siksi EBV:n DNA-pitoisuudeksi, joka todetaan vähintään 95 % todennäköisyydellä CLSI EP17-A2:n mukaisesti.<sup>8</sup>

### Havaitsemisraja WHO:n standardien mukaan plasmassa

LoD määritettiin testaamalla 1. WHO:n kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 09/260) testisarjoja EBV-negatiivisella ihmisplasmalla laimennetulla EBV:llä. Jokaisesta laimennoksesta testattiin kaksikymmentä (20) rinnakkaisnäytettä jokaisella kolmella reagenssierällä, jolloin saatiin yhteensä 60 rinnakkaisnäytettä laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. LoD-arvot, jotka Taulukko 3 esittää, ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Panther Fusion EBV Quant -määrityksen LoD WHO:n 1. kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 54,1 IU/mL plasman osalta.

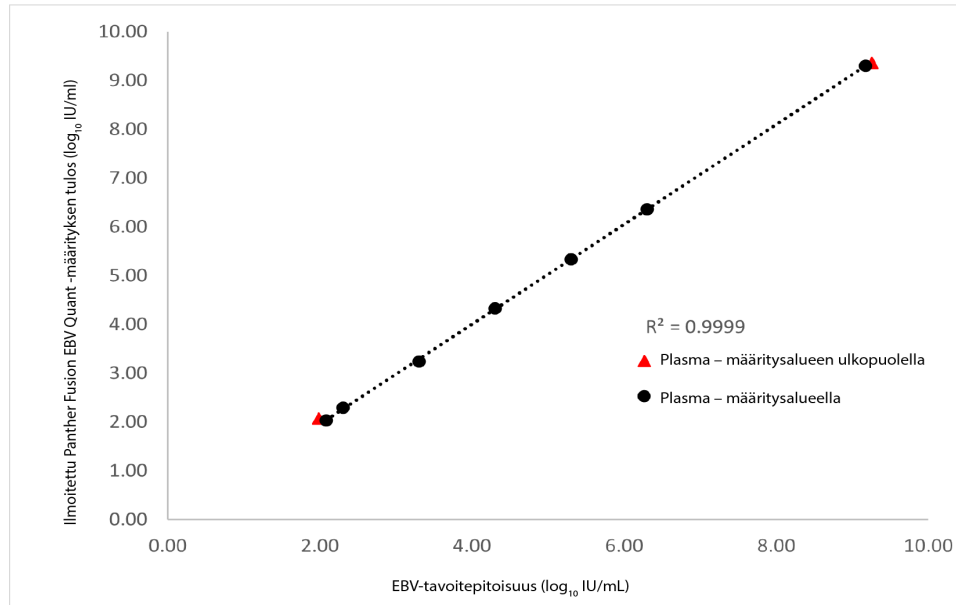
Taulukko 3: Plasman havaitsemisraja käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä EBV-standardia

Ennakoitu havaitsemisraja	Pitoisuus (IU/mL)
10 %	1,5
20 %	2,4
30 %	3,6
40 %	5,1
50 %	7,2
60 %	10,2
70 %	14,8
80 %	22,4
90 %	38,0
95 %	54,1

## Lineaarinen alue

### Lineaarinen alue plasmassa

Lineaarinen alue määritettiin testaamalla testisarjat, jotka koostuivat EBV-negatiivisella ihmisen plasmalla laimennetusta EBV:stä CLSI EP06-A:n mukaisesti.<sup>9</sup> Testisarjojen pitoisuusalue oli 1,98–9,26 log IU/mL. Panther Fusion EBV Quant -määritys osoitti lineaarisuutta testatulla alueella. Määrityksen kvantitioinnin yläraja (ULoQ) on 9,18 log IU/mL, katso Kuva 1.



**Kuva 1. Lineaarisuus plasmassa**

### Kvantitoinnin alaraja käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä standardia

Kvantitoinnin alaraja (LLoQ) on määritetty alhaisimmaksi pitoisuudeksi, jolla EBV voidaan luotettavasti kvantitoida, CLSI EP17-A2:n mukaisesti.<sup>8</sup> Kokonaisvirhe arvioitiin käyttämällä Westgard-mallia: Kokonaisvirhe (TE) = |poikkeama| + 2 SD. Mittausten tarkkuuden ja täsmällisyyden varmistamiseksi Panther Fusion EBV Quant -määrityksen kokonaisvirheeksi asetettiin 1,2 log IU/mL, poikkeama totuuteen ja SD, joiden täytyy olla  $\leq 0,5$  log IU/mL ja  $\leq 0,35$  log IU/mL.

### Kvantitoinnin alaraja käytettäessä WHO:n standardia plasmassa

LLoQ määritettiin testaamalla WHO:n 1. kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 09/260) testisarjoja EBV-negatiivisella ihmisplasmalla laimennetulla EBV:llä. Jokaisesta laimennoksesta testattiin kaksikymmentä (20) rinnakkaisnäytettä jokaisella kolmella reagenssierällä, jolloin saatiin yhteensä 60 rinnakkaisnäytettä laimennosta kohti. Kolmen reagenssierän LLoQ-tulokset esitetään kohdassa Taulukko 4. WHO:n 1. kansainvälisellä standardilla tuotettu LLoQ EBV:lle plasmassa on 120 IU/mL (2,08 log IU/mL).

Taulukko 4: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä standardia plasmassa laimennetulle EBV:lle

Reagenssierä	N	N tunnistettu	Tavoitepitoisuus (log IU/mL)	EBV Quant -		Poikkeama  (log IU/mL)	Laskettu TE (log IU/mL)
				määritys (log IU/mL)	SD (log IU/mL)		
1	20	20	1,93	2,06	0,21	0,2	0,6
	20	20	2,08	2,33	0,21	0,3	0,7
	20	20	2,18	2,45	0,13	0,3	0,5
	20	20	2,26	2,44	0,15	0,2	0,5
2	20	20	1,93	1,61	0,30	0,3	0,9
	20	20	2,08	1,79	0,23	0,3	0,8
	20	20	2,18	2,00	0,18	0,2	0,6
	20	20	2,26	2,09	0,17	0,2	0,5
3	20	20	1,93	1,75	0,20	0,2	0,6
	20	20	2,08	1,88	0,25	0,2	0,7
	20	20	2,18	2,09	0,12	0,1	0,4
	20	20	2,26	2,04	0,15	0,2	0,5

SD = keskihajonta  $\leq 0,35$  (log IU/mL).|Poikkeama| = poikkeama todellisesta  $\leq 0,5$  (log IU/mL).

Jokaisella reagenssierällä testattu LLoQ-pitoisuutta vastaava laimennos on korostettu harmaalla.

## Kvantitoinnin alarajan (LLOQ) vahvistus EBV-genotyyppien kesken

### Kvantitoinnin alarajan genotyyppien kesken plasmassa

WHO:n standardia käyttämällä määritetty LLoQ arvioitiin testaamalla EBV-genotyyppisiä 1 (Raji, Akata ja B95-8) ja 2 (AG876, P3H1 ja Jijoye), joihin oli lisätty pitoisuus 3 X LLoQ, EBV-negatiivisessa ihmisplasmassa. Kustakin testisarjan jäsenestä testattiin kolme rinnakkaisnäytettä yhden reagenssierän kanssa. Tulokset: katso Taulukko 5.

Taulukko 5: LLoQ:n vahvistus genotyyppien kesken plasmasta

Isolaatti (genotyyppi)	N	N tunnistettu	Tavoitepitoisuus (log IU/mL)	EBV Quant		Poikkeama  (log IU/mL)
				-määritys (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	
Raji (genotyyppi 1)	3	3	2,56	2,84	0,12	0,3
Akata (genotyyppi 1)	3	3	2,56	2,95	0,11	0,4
B95-8 (genotyyppi 1)	3	3	2,56	2,59	0,08	0,1
AG876 (genotyyppi 2)	3	3	2,56	2,72	0,23	0,2
P3H1 (genotyyppi 2)	3	3	2,56	2,91	0,07	0,4
Jijoye (genotyyppi 2)	3	3	2,56	2,75	0,16	0,2

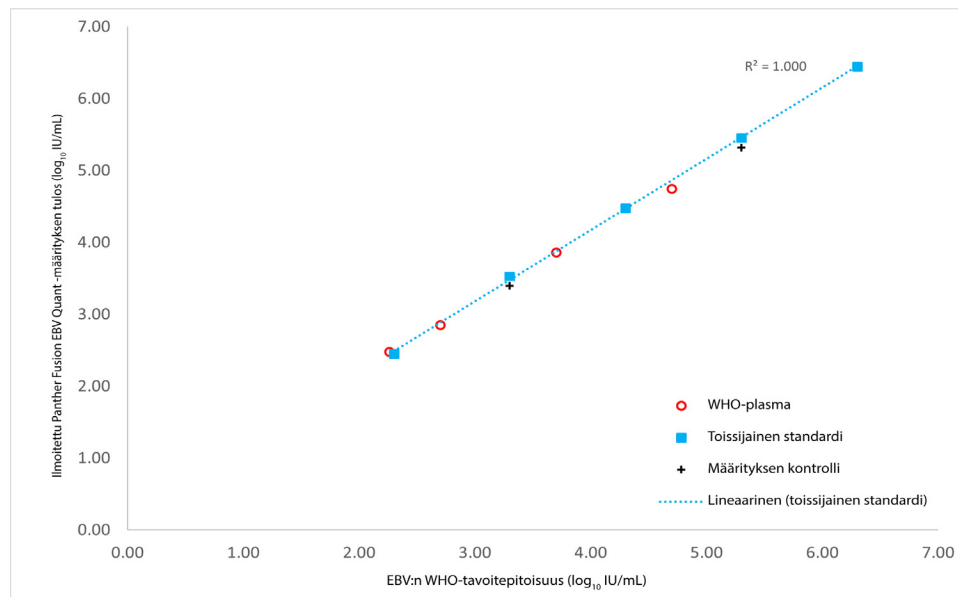
SD = keskihajonta.

## Jäljitettävyys WHO:n 1. kansainväliseen standardiin

Tuotteen kehityksen ja valmistuksen aikana käytettiin sarjaa toissijaisia standardeja, joiden pitoisuudet tiedetään, jäljitettävyden määrittämiseksi WHO:n standardin mukaan. EBV:n WHO:n 1. standardi laimennettiin ja testattiin toissijaisten standardien ja määrittämisen kontrollien sekä Panther Fusion EBV Quant -määrittämissä käytettävien kalibraattorien kanssa jäljitettävyden määrittämiseksi CLSI EP32-R:n mukaan.<sup>10</sup> Toissijaisten standardien pitoisuus oli 2,30–6,30 log<sub>10</sub> IU/mL.

### Jäljitettävyys WHO:n standardiin plasmaa käytettäessä

EBV:n WHO:n 1. standardia varten testatut pitoisuudet olivat 2,26–4,70 log<sub>10</sub> IU/mL. WHO:n plasmatestisarjat, toissijaiset standardit, määrittämisen kontrollit ja määrittämisen kalibraattorit antoivat odotetut tulokset määrittämisen lineaarisella alueella, kuten Kuva 2 osoittaa.



**Kuva 2. EBV:n ensimmäisen WHO-standardin tavoitepitoisuuksien ja ilmoitettujen pitoisuuksien välinen jäljitettävyys Panther Fusion EBV Quant -määrittämissä (plasmaan laimennettu WHO-standardi)**

## Mahdollisesti häiritsevät aineet

Panther Fusion EBV Quant -määrittämisen herkkyys endogeenisten aineiden, antikoagulanttien ja siirteiden saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin EBV-negatiivissa matriiseissa, kun läsnä oli tai ei ollut 2,56 log IU/mL EBV:tä plasmassa. Kunkin häiritsevän aineen testipitoisuudet valittiin käytettävissä olevien kirjallisuusviitteiden ja CLSI EP07:n<sup>11</sup> ja EP37:n<sup>12</sup> ohjeiden mukaan.

Määrittämisen määritystarkkuudessa ei havaittu mitään häiriöitä plasmanäytteissä, kun läsnä oli mahdollisesti häiritseviä endogeenisiä aineita, jotka luettelee Taulukko 6.

Taulukko 6: Endogeeniset aineet

Mahdollisesti häiritsevä aine	Rinnakkaisnäytteiden määrä	Testattu pitoisuus
Albumiini	3	375 mg/dL
Konjugoitu bilirubiini	3	40 mg/dL
Hemoglobiini	3	1 000 mg/dL
Hepariini	3	0,66 mg/dL
Ihmisen genomin DNA	3	0,2 mg/mL
Triglyseridit	3	3,45 mg/dL
Konjugoitumaton bilirubiini	3	0,40 mg/dL

Määrityksen kvantitioinnin tarkkuudessa ei havaittu häiriöitä kohdassa Taulukko 7 lueteltujen eksogeenisten aineiden kanssa.

Taulukko 7: Eksogeeniset aineet

Mahdollisesti häiritsevä aine	Rinnakkaisnäytteiden määrä	Testattu pitoisuus
Asykloviiri	3	6,6 mg/dL
Atsatiopriini	3	0,258 mg/dL
Kefotetaani	3	71,1 mg/dL
Sidofoviiri	3	12,4 mg/dL
Klavulaanihappo	3	1,47 mg/mL
Siklosporiini	3	0,180 mg/dL
EDTA	3	0,099 mg/dL
Everolimuusi	3	0,0183 mg/dL
Flukonatsoli	3	2,55 mg/dL
Foskarnetti	3	108 mg/dL
Gansikloviiri	3	3,96 mg/dL
Letermoviiri	3	3,9 mg/dL
Mykofenolaattimofetiili	3	18,1 mg/dL
Mykofenolihappo	3	18,1 mg/dL
Piperasilliini	3	110 mg/dL
Prednisoni	3	0,0099 mg/dL
Sirolimuusi	3	0,0213 mg/dL
Natriumsitraatti	3	3200 mg/dL
Sulfametoksatsoli	3	35,7 mg/dL
Takrolimuusi	3	0,0144 mg/dL
Tatsobaktaaminatrium	3	10,2 mg/dL
Tenofoviiridisoproksiilifumaraatti	3	0,0978 mg/dL
Tikarsilliini	3	151 mg/dL
Trimetopriimi	3	4,2 mg/dL

Taulukko 7: Eksogeeniset aineet (jatkuu)

Mahdollisesti häiritsevä aine	Rinnakkaisnäytteiden määrä	Testattu pitoisuus
Valasikloviiri	3	3,83 mg/dL
Valgansikloviiri	3	4,83 mg/dL
Vankomysiini	3	12 mg/dL

### Analyttinen spesifisyys

Mahdollinen ristireaktiivisuus patogeenien, jotka Taulukko 8 luettelee, kanssa arviointiin EBV-negatiivisilla matriiseilla, kun läsnä oli tai ei ollut 2,56 log IU/mL EBV:tä plasmassa. Patogeenit testattiin korkeimmalla saatavilla olevalla pitoisuudella. Ristireaktiivisuutta tai häiriöitä ei havaittu kvantitioinnin tarkkuudessa.

Taulukko 8: Analyttisen spesifisyyden suhteen testatut patogeenit

Mikro-organismi/patogeeni	Pitoisuus	Mikro-organismi/patogeeni	Pitoisuus
ADV-4	1,00E+04 TCID <sub>50</sub> /mL	Ihmisen parainfluenssavirus	1,00E+05 IU/mL
<i>Aspergillus niger</i>	1,00E+06 CFU/mL	A-influenssa	1,00E+05 IU/mL
BKV	5,00E+06 cp/mL	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1,00E+06 cp/mL
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Listeria monocytogenes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,00E+06 IFU/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 CCU/mL
<i>Clostridium perfringens</i>	1,00E+06 cp/mL	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1,00E+06 cp/mL
CMV	1,00E+05 cp/mL	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1,00E+06 CFU/mL	Rinovirus	1,00E+06 cp/mL
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Salmonella enterica</i>	1,00E+06 CFU/mL
<i>Escherichia coli</i>	1,00E+06 CFU/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1,00E+06 CFU/mL
HBV	1,00E+05 IU/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 CFU/mL
HCV	1,00E+04 IU/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,00E+06 CFU/mL
HIV-1	1,00E+05 IU/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 CFU/mL
HPV-18 (infektoituneet HeLa-solut)	1,00E+05 solua/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 CFU/mL
Ihmisen herpesvirus 6	1,00E+05 cp/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,00E+05 trofotsoiittia/mL
Ihmisen herpesvirus 7	1,00E+03 TCID <sub>50</sub> /mL	Varicella-zostervirus	1,00E+05 cp/mL
Ihmisen herpesvirus 8	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1,00E+06 CFU/mL
Ihmisen metapneumovirus	1,00E+03 IU/mL	Zikavirus	1,00E+05 TCID <sub>50</sub> /mL

CCU/mL = pesäkkeitä muuttavaa yksikköä / mL.

CFU/mL = pesäkkeitä muodostavaa yksikköä / mL.

cp/mL = kopioita/mL.

IFU/mL = inklusion muodostavaa yksikköä / mL.

IU/mL = kansainvälistä yksikköä / mL.

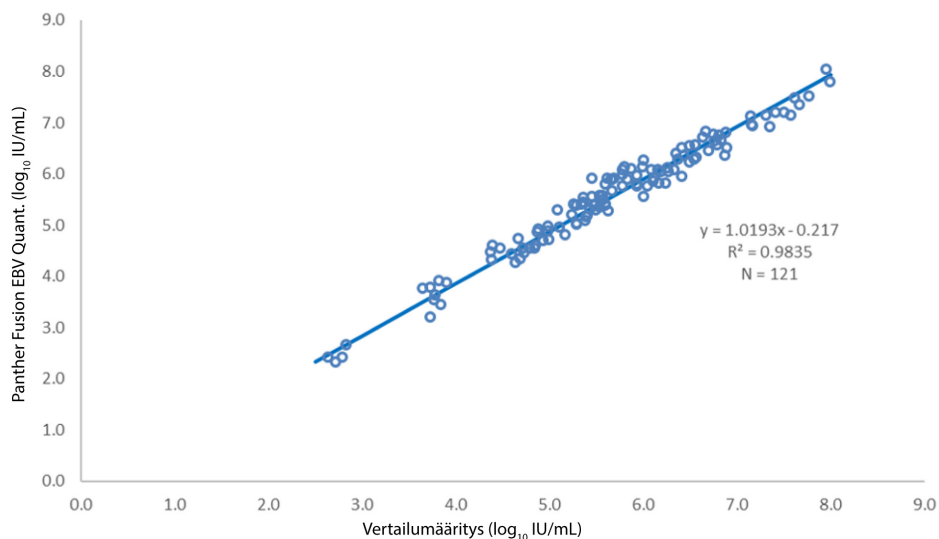
TCID<sub>50</sub>/mL = kudosviljelmän tartuttavan annoksen yksikköä / mL.

## Menetelmän korrelaatio

Tämä tutkimus suunniteltiin CLSI EP09c:n mukaisesti.<sup>13</sup>

### Plasmamenetelmän korrelaatio

Panther Fusion EBV Quant -määrityksen suorituskykyä arvioitiin suhteessa vertailumääritykseen testaamalla retrospektiivisesti otettuja näytteitä ja keinotekoisia näytteitä, jotka kattoivat koko lineaarisen alueen. Demingin regressioon käytettiin yhteensä 121 näytettä kummallekin määrittämiselle yhteiseltä lineaariselta alueelta kohdan Kuva 3 mukaisesti.



**Kuva 3. Panther Fusion EBV Quant -määrityksen EBV-viruskuorman ja vertailumäärityksen välinen korrelaatio plasmanäytteiden testauksessa**

### Näytteiden välinen kontaminaatio / ristikontaminaatio

Näytteiden välinen kontaminaatio arvioitiin käyttämällä korkean pitoisuuden STM-näytteitä, joihin oli lisätty EBV:tä ( $1,5E+09$  IU/mL), EBV-negatiivisten näytteiden joukkoon shakkilautakuvion tavoin siroteltuina. Testaus suoritettiin 5 ajossa. Näytteiden välisen kontaminaation kokonaisuus oli 0,67% (1/150).

## Lähdeluettelo

1. Tzellos S, Farrell PJ. 2012. Epstein-Barr Virus Sequence Variation—Biology and Disease. *Pathogens*. 1(2):156–174. doi.org/10.3390/pathogens1020156
2. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis. (2016). <https://www.cdc.gov/epstein-barr/about-mono.html>
3. Kimura H, Kwong Y-L. 2019. EBV Viral Loads in Diagnosis, Monitoring, and Response Assessment. *Front. Oncol.* 9:62.
4. Nijland, ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, ten Berge JJM. 2016 *Transplantation Direct* 2016;2: e48 doi: 10.1097/TXD.0000000000000557
5. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al , on behalf of the Sixth European Conference on Infections in Leukemia, a joint venture of the Infectious Diseases Working Party of the European Society of Blood and Marrow Transplantation (EBMT-IDWP), the Infectious Diseases Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC-IDG), the International Immunocompromised Host Society (IHS) and the European Leukemia Net (ELN). 2016 Management of Epstein-Barr Virus Infections and Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders in Patients after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) Guidelines. *Haematologica*. 107(7):803-811. doi:10.3324/haematol.2016.144428
6. 1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/260, version 4.0).
7. Clinical & Laboratory Standards Institute. Document M29: Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. CLSI:n verkkosivusto <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m29/> (4. huhtikuuta 2022)
8. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guidelines – Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standard Institute, Wayne, PA.
9. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guidelines. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
10. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
11. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Interference Testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
12. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI). 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



## Yhteystiedot



Diagenode S.A.  
3, Rue du Bois Saint Jean  
4102 Seraing, Belgia



UK Responsible Person:  
Hologic Ltd.  
Oaks Business Park, Crewe Road  
Wythenshawe, Manchester, M23 9HZ  
United Kingdom

Australian Sponsor Address:  
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd  
Macquarie Park, NSW 2113

Katso maakohtaisen teknisen tuen ja asiakaspalvelun sähköpostiosoite ja puhelinnumero osoitteesta [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Hologic, Aptima, Panther ja Panther Fusion sekä niihin liittyvät logot ovat Hologic Inc:n ja/tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä ja/tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa.

Quasar on rekisteröity tavaramerkki, jonka Biosearch Technologies, Inc on lisensoinut.

Kaikki muut tässä pakkausselosteessa olevat tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Yksi tai useampi sivustossa [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents) mainituista US-patenteista voi kattaa tämän tuotteen.

©2022-2023 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-26019-1701, vers. 002  
2023-05