

Aptima™ CMV Quant Assay

Tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkakäyttöön

Vain Yhdysvalloista vientiin

Yleisiä tietoja	2
Käyttötarkoitus	2
Testin yhteenveto ja kuvaus	2
Menetelmän toimintaperiaate	2
Varoitukset ja varotoimet	3
Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset	7
Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen	8
Panther System -järjestelmässä säilytettävät näytteet	11
Näytteen siirto	11
Panther System -järjestelmä	12
Toimitetut reagenssit ja materiaalit	12
Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen	14
Valinnaiset materiaalit	15
Panther System -järjestelmän testausmenetelmä	15
Menetelmää koskevia huomautuksia	21
Laadunvalvonta	22
Määrittämisen kalibrointi	22
Negatiiviset ja positiiviset kontrollit	22
Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli	22
Tulosten tulkinta	23
Rajoitukset	24
Suorituskyky	25
Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia	25
CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja	26
Lineaarinen alue	28
Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken	30
Kvantitoinnin alaraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia	32
CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien kvantitoinnin alarajan määrittäminen	34
Toistotarkkuus	39
Mahdollisesti häiritsevät aineet	40
Spesifisyys	41
Analyttinen spesifisyys	42
Näytteiden välinen kontaminaatio	43
Menetelmän korrelaatio	43
Toistettavuus	45
Lähdeluettelo	47
Yhteystiedot	48

Yleisiä tietoja

Käyttötarkoitus

Aptima CMV Quant Assay (Aptiman kvantitatiivinen CMV-määritys) on nukleinihappojen in vitro -monistustesti, jolla määritetään kvantitatiivisesti ihmisen sytomegaloviruksen (CMV) DNA:n esiintyminen ihmisen EDTA-plasmassa ja kokoveressä täysautomaattisella Panther System -järjestelmällä.

Aptima CMV Quant Assay on tarkoitettu käytettäväksi diagnosoinnin apuvälineenä ja apuvälineenä kiinteän elinsiirteen saaneiden sekä hematopoeettisen kantasolusiirteen saaneiden potilaiden hoidossa.

Aptima CMV Quant Assay -määritystä ei ole tarkoitettu käytettäväksi CMV:n verestä tai verivalmisteista havaitsemisen seulontatestinä.

Testin yhteenveto ja kuvaus

Ihmisen CMV on hyvin yleisesti esiintyvä suoraketjuinen, kaksoisjuosteinen 240 kiloemäksen DNA-virus, joka kuuluu herpesvirusten perheeseen. Tutkitun populaation ja maantieteellisen alueen mukaan vaihdellen CMV:n esiintyminen seerumissa on 45–100 % maailmanlaajuisesti.^{1,2} Potilailla, joiden immuunijärjestelmä toimii kunnolla, CMV-infektio on yleensä oireeton ja rajoittuu itsestään vähäiseksi. Henkilöillä, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt, kuten siirrepotilailla ja potilailla, joilla on immuunikatovirusinfektio, CMV on kuitenkin merkittävä sairaalloisuutta ja kuolleisuutta määrittävä tekijä.

Muiden herpesvirusten tavoin CMV muodostaa primaarisen infektion jälkeen elinikäisen piilevän infektion, joka voi aktivoitua ajoittain uudelleen. Siirrepotilailla piilevän CMV:n siirtyminen kehoon siirteen kautta tai piilevän CMV-infektion uudelleen aktivoituminen isännässä voi aiheuttaa viruksen laaja-alaisen replikoitumisen ja leviämisen useisiin elimiin, mikä on usein hengenvaarallista.³

Kvantitatiivinen nukleinihappojen monistukseen perustuva testaus on ensisijainen CMV-infektion ja -sairauden tarkkailumenetelmällä siirteen saaneilla potilailla, koska se on sekä nopea että herkkä testi.⁴ Viimeaikaiset ohjeet suosittelevat CMV-viruskuormituksen tarkastamista vähintään viikoittain, jotta osataan tehdä CMV:tä estävää hoitoa koskevat päätökset ja voidaan tarkkailla hoitovastetta.^{5,6,8} Yleensä suurempiin viruskuormituksen arvoihin liittyy kasvanut CMV-sairauden riski.^{4,9} Näin ollen CMV:n DNA:n kvantitatiivinen määritys yhdessä kliinisten oireiden ja muiden keskeisten laboratoriotestien tulosten kanssa on ratkaisevan tärkeää CMV-infektiota sairastavien potilaiden hoidossa.

Menetelmän toimintaperiaate

Aptima CMV Quant assay -määritys on nukleinihappojen in vitro -monistustesti, joka käyttää Panther System -järjestelmässä* reaaliaikaista transkriptiovälitteistä monistustekniikkaa (TMA) CMV:n DNA:n genotyyppien 1, 2, 3 ja 4 kvantitatiiviseen määrittämiseen. Testin aluke kohdentuu erittäin konservoituneeseen UL56-geeniin, mikä varmistaa CMV:n DNA:n tarkan kvantitatiivisen määrityksen. Määritys on standardoitu WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi: 09/162) mukaisesti ihmisen sytomegaloviruksen määrittämistä varten²¹.

Aptima CMV Quant Assay -määrityksessä on kolme päävaihetta, jotka kaikki tehdään yhdessä putkessa Panther System -järjestelmässä: kohteen eristys, kohteen monistus TMA-tekniikalla ja monistustuotteiden (amplikoni) havaitseminen fluoresoivasti leimatuilla koettimilla.

*Mukaan lukien Panther System -järjestelmän muunnelmat.

Kohteen eristuksen aikana virus-DNA eristetään näytteistä. Näytettä käsitellään puhdistusaineella, jotta viruksen kuori liukenee, proteiinit denaturoituvat ja viruksen genomin DNA vapautuu. Eristetyt oligonukleotidit hybridisoituvat testinäytteen CMV:n DNA:n erittäin hyvin konservoituneisiin alueisiin (jos sellaisia on). Hybridisoitu kohde sidotaan sen jälkeen magneettisiin mikrohiukkasiin, jotka erotetaan näytteestä magneettikentässä. Pesuvaiheissa ulkoiset ainesosat poistetaan reaktioputkesta.

Kohteen monistus tapahtuu TMA-tekniikalla, joka on transkriptiovälitteinen nukleiinihappojen monistusmenetelmä, jossa käytetään kahta entsyymiä, Moloneyn hiiren leukemiaviruksen (MMLV) käänteistranskriptaasia ja T7 RNA -polymeraasia. Käänteistranskriptaasia käytetään kohdesekvenssin DNA-kopion (joka sisältää promootterisekvenssin T7 RNA -polymeraasia varten) luomiseen. T7 RNA -polymeraasi tuottaa useita RNA-amplikonin kopioita DNA-kopioalukkeesta.

Havaitseminen tehdään käyttämällä yksijuosteisia, fluoresoivasti leimattuja nukleiinihappokoettimia, jotka ovat läsnä kohteen monistuksen aikana ja hybridisoituvat spesifisesti amplikoniin reaaliaikaisesti. Jokaisessa koettimessa on fluorofori ja sammuttaja. Kun koetin ei hybridisoidu amplikoniin, sammuttaja on fluoroforin läheisyydessä ja estää fluoresenssin. Kun fluoresoivasti leimattu koetin sitoutuu amplikoniin, sammuttaja siirtyy kauemmas pois päin fluoroforista, joka lähettää signaalia tietyllä aallonpituudella, kun valonlähde virittää sen. Kun enemmän fluoresoivasti leimattuja koettimia hybridisoituu amplikoniin, ne synnyttävät suuremman fluoresoivan signaalin. Aika, joka fluoresoivalta signaalilta kuluu tietyn kynnsarvon saavuttamiseen, on suhteessa CMV:n alkupitoisuuteen. Jokaisessa reaktiossa on mukana sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli (IC) -aine, joka ilmaisee näytteen käsittelyssä, monistuksessa ja havaitsemisissa ilmenevän vaihtelun. Näytteen pitoisuus määritetään Panther System -järjestelmäohjelmistolla käyttämällä kunkin reaktion CMV- ja IC-signaaleja ja vertaamalla niitä kalibroitietoihin.

Määrityksen tulokset muunnetaan kopioita/mL-arvoista IU/mL-arvoiksi käyttäen Panther-ohjelmiston sisäistä muuntotekijäyhtälöä. Samaa muuntokerroinyhtälöä käytetään sekä kokoveri- että plasmanäytteille. Laimennuskerrointa 4 käytetään kokoverinäytteiden CMV-viruskuorman tuloksille, kun Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin) on valittu Panther-järjestelmässä.

Varoitukset ja varotoimet

- A. Diagnostiseen *in vitro* -käyttöön.
- B. Ammattikäyttöön.
- C. Epäkelpojen tulosten riskin vähentämiseksi käyttäjän on luettava huolella koko pakkausseloste ja asianmukainen *Panther System / Panther Fusion System -käyttöopas* ennen määrityksen suorittamista.

Laboratorioon liittyviä seikkoja

- D. HUOMIO: Tämän määrityksen kontrollit sisältävät ihmisen plasmaa. Plasma on negatiivista hepatiitti B -pinta-antigeenin (HBsAg), HCV:n vasta-aineiden, HIV-1:n ja HIV-2:n vasta-aineiden ja HIV-antigeenin suhteen, kun se testataan Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkehallinnon lisensoitujen testausmenettelyjen mukaisesti. Lisäksi plasma ei reagoi CMV:n DNA:n, HBV:n DNA:n, HCV:n RNA:n ja HIV-1:n RNA:n kanssa, kun se testataan lisensoituilla nukleiinihappotesteillä käyttämällä yhdistettyjä näytteitä. Kaiken ihmisen verestä peräisin olevan materiaalin on katsottava olevan mahdollisesti tartuntavaarallista, ja siksi tällaista materiaalia on käsiteltävä yleisten varotoimien mukaisesti.^{10,11,12}

- E. Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima CMV Quant Assay -määrityksen käyttöön ja mahdollisesti tartuntavaarallisten materiaalien käsittelyyn. Jos tapahtuu vuoto, on suoritettava heti desinfiointi asianmukaisten tutkimuspaikan menettelyohjeiden mukaisesti.
- F. Käytä vain toimitettuja tai määritettyjä kertakäyttöisiä laboratoriotarvikkeita.
- G. Käytä tavallisia laboratoriota koskevia varotoimia. Älä koskaan pipetoi suun avulla. Älä syö tai juo mitään tai tupakoi määritetyillä työskentelyalueilla. Käytä kertakäyttöisiä, jauheettomia käsineitä, silmäsuojaimia ja laboratoriotakkeja näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn aikana. Pese kädet perusteellisesti näytteiden ja tarvikesarjan reagenssien käsittelyn jälkeen.
- H. Työskentelypinnat, pipetit ja muut laitteet on desinfioitava säännöllisesti 2,5 %–3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella.
- I. Hävitä kaikki materiaalit, jotka ovat koskeneet näytteisiin ja reagensseihin, paikallisten ja kansallisten asetusten mukaisesti.^{10,11,12,13} Puhdista ja desinfioi kaikki työskentelypinnat huolellisesti.
- J. Kontrollit sisältävät natriumatsidia säilöntäaineena. Älä käytä metalliputkea reagenssin siirtoon. Jos natriumatsidiyhdisteitä sisältävät liuokset hävitetään viemäristöön, ne on laimennettava ja huuhdeltava runsaalla määrällä juoksevaa vettä. Näitä varotoimia suositellaan, jottei metalliputkiin kerry jäämiä, joista voi kehittyä räjähdysvaarallisia.
- K. Molekyylilaboratorioiden hyvät peruskäytännöt sisältävät ympäristön valvonnan. Laboratorion ympäristön valvontaan suositellaan seuraavaa menettelytapaa:
1. Hanki puuvillakärkinen vanupuikko ja liitä se Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -näytealikoottiputkeen.
 2. Merkitse jokainen SAT-putki asianmukaisesti.
 3. Täytä jokainen SAT-putki 1 mL:lla Aptima Specimen Diluent -laimennusainetta.
 4. Kostuta vanupuikko kevyesti nukleaasittomalla deionisoidulla vedellä pintanäytteiden ottamista varten.
 5. Hankaa kohdepintaa ylhäältä alaspäin suuntautuvalla liikkeellä. Pyöritä puikkoa noin puoli kierrosta kohdepinnan hankaamisen aikana.
 6. Aseta vanupuikkonäyte heti näyteputkeen ja pyöritä vanupuikkoa varovasti laimennusaineessa, jotta mahdolliset vanuun tarttuneet materiaalit siirtyvät nesteeseen. Paina vanupuikko siirtoputken kylkeen ottaaksesi mahdollisimman paljon nestettä. Heitä vanupuikko pois ja sulje putki korkilla.
 7. Toista vaiheet jäljellä oleville vanupuikkonäytteille.
 8. Testaa vanupuikko molekyylimäärityksellä.

Näytteeseen liittyviä seikkoja





- L. Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Noudata yleisiä varotoimia^{10,11,12} tämän määrityksen suorittamisen aikana. Asianmukaiset käsittely- ja hävitysmenetelmät on määritettävä paikallisten määräysten mukaisesti.¹¹ Tämän menetelmän saa suorittaa vain henkilöstö, joka on saanut riittävän koulutuksen Aptima CMV Quant Assay -määrityksen käytöstä ja tartuntavaarallisten materiaalien käsittelystä.
- M. Pidä huolta, että näytteen kuljetuksen aikana säilytysolosuhteet ovat oikeanlaiset, jotta näyte säilyy kunnossa. Näytteen stabiiliutta muiden kuin suositeltujen toimitusolosuhteiden aikana ei ole arvioitu.





- N. Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota näytteiden irrottamisen tai putkien avaamisen aikana. Näytteet voivat sisältää erittäin suuria eliöpitoisuuksia. Varmista, että näytesäiliöt eivät koske toisiinsa, ja hävitä käytetyt materiaalit viemättä niitä avointen säiliöiden yli. Vaihda käsineet, jos ne koskevat näytteeseen.

Määrittämiseen liittyviä seikkoja



- O. Älä käytä reagenssitarvikesarjaa, kalibraattoria tai kontrolleja niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- P. Älä vaihda, sekoita tai yhdistä määrittämisreagensseja tarvikesarjoista, joiden pääeränumerot eivät ole samoja. Määrittämisen nesteillä voi olla eri eränumerot. Kontrolleilla ja kalibraattorilla voi olla eri eränumerot.
- Q. Vältä mikrobien ja nukleaaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.
- R. Sulje kaikki määrittämisreagenssit korkeilla ja säilytä niitä määrittämisyssä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen määrittämisreagenssien käyttö voi vaikuttaa määrittämisen suorittamiseen. Jos haluat lisätietoja, katso *Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset ja Panther System -järjestelmän testausmenetelmä*.
- S. Älä yhdistä mitään määrittämisreagensseja tai nesteitä ilman erillistä ohjetta. Älä täytä vajaita reagenssi- tai nestepulloja. Panther System -järjestelmää varmistaa reagenssien määrät.
- T. Varo kohteen vahvennereagenssin (Target Enhancer Reagent, TER) joutumista iholle, silmiin ja limakalvoille. Pese vedellä alue, jolle tätä reagenssia on joutunut. Jos reagenssia läikky, laimenna vedellä ja noudata asianmukaisia tutkimuspaikan menettelyohjeita.
- U. Jotkin tämän tarvikesarjan reagenssit on merkitty vaara- ja turvallisuussymboleihin.

Huomautus: Vaarailmoitukset vastaavat EU:n käyttöturvallisuustiedotteiden luokituksia. Jos haluat tutustua oman alueesi vaarailmoitustietoihin, tutustu aluekohtaiseen käyttöturvallisuustiedotekirjastoon osoitteessa www.hologicsds.com

Kanadan vaaratiedot	
	<p>CMV-pakkauksen kontrollit <i>Ihmisplasma 95–100 %</i> <i>Natriumatsidi <1 %</i></p>
	<p>VAROITUS H312 – Haitallista joutuessaan iholle EUH032 – Kehittää erittäin myrkyllistä kaasua hapon kanssa P280 – Käytä silmiensuojainta/kasvonsuojainta Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa</p>
	<p>Kohteen vahvennereagenssi (TER) <i>Litiumhydroksidimonohydraatti 5–10 %</i></p>
	<p>VAARA H302 – Haitallista nieltynä H314 – Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa P264 – Pese kasvot, kädet ja näkyvissä oleva iho huolellisesti käsittelyn jälkeen P270 – Syöminen, juominen ja tupakointi kielletty kemikaalia käytettäessä 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: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. P310 – Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin P405 – Varastoi lukitussa tilassa</p>

EU:n vaaratiedot	
	<p>CMV-pakkauksen kontrollit <i>Ihmisen plasma 95–100 %</i> <i>Natriumatsidi < 1 %</i></p>
	<p>VAROITUS H312 – Haitallista joutuessaan iholle H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia EUH032 – Kosketus happojen kanssa vapauttaa erittäin myrkyllistä kaasua P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön P280 – Käytä silmiensuojainta/kasvonsuojainta</p>
	<p>Target Enhancer Reagent (kohteen vahvennereagenssi) <i>Litiumhydroksidimonohydraatti 5–10 %</i></p>
	<p>VAARA 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: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. P310 – Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin</p>

Australian vaaratiedot	
	<p>CMV-pakkauksen kontrollit <i>Ihmisplasma 95–100 %</i> <i>Natriumatsidi <1 %</i></p>
	<p>VAROITUS H312 – Haitallista joutuessaan iholle H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia EUH032 – Kehittää erittäin myrkyllistä kaasua hapon kanssa P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön P280 – Käytä silmiensuojainta/kasvonsuojainta</p>

	<p>Kohteen vahvennereagenssi (TER) <i>Litiumhydroksidimonohydraatti 5–10 %</i></p>
	<p>VAARA 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: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. P310 – Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin</p>

	<p>Pakkauksen kalibraattori <i>HEPES 15–20 %</i> <i>Litiumhydroksidi, monohydraatti 1–5 %</i> <i>Butaanidihappo 1–5 %</i></p> <p>H312 – Haitallista joutuessaan iholle H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia EUH032 – Kehittää erittäin myrkyllistä kaasua hapon kanssa P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön P280 – Käytä silmiensuojainta/kasvonsuojainta</p>
--	--

Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset

- A. Seuraavassa taulukossa esitetään reagenssien, kontrollien ja kalibraattorin säilytysolosuhteet ja stabiilius.

Reagenssi	Säilytys avaamattomana	Avattu tarvikesarja (sekoitettu)	
		Säilytys	Säilyvyys
qCMV Amplification Reagent (qCMV-monistusreagenssi)	2 °C...8 °C		
qCMV Amplification Reconstitution Solution (qCMV-monistuksen sekoitusliuos)	2 °C...8 °C	2 °C...8 °C	30 päivää ^a
qCMV Enzyme Reagent (qCMV-entsyymireagenssi)	2 °C...8 °C		
qCMV Enzyme Reconstitution Solution (qCMV-entsyymin sekoitusliuos)	2 °C...8 °C	2 °C...8 °C	30 päivää ^a
qCMV Promoter Reagent (qCMV-promootterireagenssi)	2 °C...8 °C		
qCMV Promoter Reconstitution Solution (qCMV-promootterin sekoitusliuos)	2 °C...8 °C	2 °C...8 °C	30 päivää ^a
qCMV Target Capture Reagent (qCMV-kohteen eristysreagenssi)	2 °C...8 °C	2 °C...8 °C	30 päivää ^a
qCMV PCAL (positiivinen kalibraattori)	-15 °C...-35 °C	15 °C...30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qCMV NC CONTROL – (negatiivinen kontrolli)	-15 °C...-35 °C	15 °C...30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qCMV LPC CONTROL + (alarajan positiivinen kontrolli)	-15 °C...-35 °C	15 °C...30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qCMV HPC CONTROL + (ylärajan positiivinen kontrolli)	-15 °C...-35 °C	15 °C...30 °C	Kertakäyttöinen injektiopullo Käytä 24 tunnin sisällä
qCMV Target Enhancer Reagent (qCMV-kohteen vahvennereagenssi)	15 °C...30 °C	15 °C...30 °C	30 päivää ^a

^a Kun reagenssit poistetaan Panther Systemistä, ne on palautettava heti asianmukaisiin säilytyslämpötiloihinsa.

- B. Hävitä kaikki käyttämättömät sekoitetut reagenssit, kohteen eristysreagenssi (Target Capture Reagent, TCR) ja kohteen vahvennereagenssi (Target enhancer reagent, TER) 30 päivän kuluttua tai kun pääerän viimeinen käyttöpäivä on umpeutunut, kumpi tapahtuukin ensin.
- C. Panther System -järjestelmässä säilytettyjen reagenssien säilyvyys on 96 tuntia. Reagenssit voidaan ladata Panther System -järjestelmään enintään 8 kertaa. Panther System kirjaa lokiin jokaisen reagenssien latauskerran.
- D. Kalibraattorin sulattamisen jälkeen liuoksen on oltava kirkasta, eli se ei saa olla utuista eikä siinä saa olla sakkaa. Varmista, että sakka on liennut. Älä käytä kalibraattoria, jos esiintyy hyytymistä, saostumista tai sameutta.

- E. Kylmäkuivattu promootterireagenssi ja sekoitettu promootterireagenssi ovat valonarkoja. Suojaa nämä reagenssit valolta säilytyksen ja käytön valmistelun aikana.
- F. qCMV-kohteen vahvennereagenssin lämpötilan täytyy olla 15 °C...30 °C ennen käyttöä.

Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen

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

Huomautus: Vältä ristikontaminaatiota näytteiden käsittelyn aikana. Hävitä esimerkiksi käytetyt materiaalit viemättä niitä avoimien putkien yli.

Huomautus: vain muovisia toissijaisia putkia suositellaan näytteiden säilytykseen.

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

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

A. Näytteenotto

1. Plasma: Kokoveri voidaan säilyttää 2 °C:ssa...30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Erotta plasma pelletöidyistä punasoluista käytettävän putken valmistajan ohjeiden mukaisesti. Plasma voidaan testata Panther System -järjestelmässä ensisijaisessa putkessa tai siirtää toissijaiseen putkeen, kuten Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -näytealikoottiputkeen. 500 µL:n näytetilavuuden saamiseen ensisijaisiin näytteenottoputkiin tarvitaan vähintään 1 200 µL:n plasmatilavuus. Toissijaisten putkien tapauksessa 500 µL:n näytetilavuus saadaan vähintään 700 µL:lla plasmaa. Seuraavassa taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset.

Putki (koko ja tyyppi)	Kuollut tilavuus Pantherissa
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT) - näytealikoottiputki	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm geelin kanssa	0,3 mL
16 x 100 mm geelin kanssa	0,7 mL

Jos plasmaa ei testata heti, sitä voidaan säilyttää alla esitettyjen ohjeiden mukaisesti. Jos plasma siirretään toissijaiseen putkeen, se voidaan jäädyttää -20 °C:seen tai -70 °C:seen. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä. Älä jäädytä plasmanäytteitä ensisijaisissa EDTA-näytteenottoputkissa.

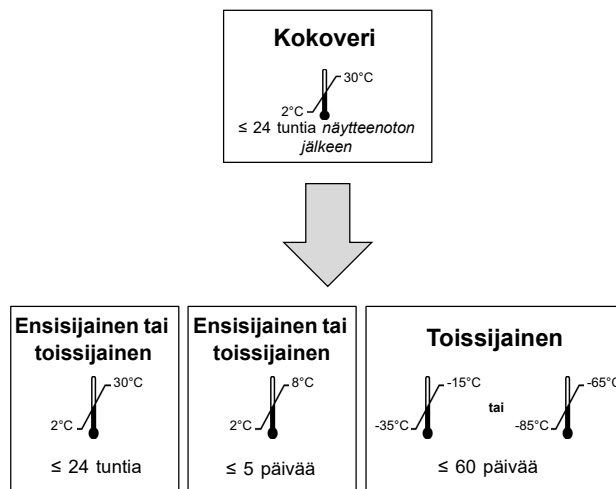
2. Kokoveri pitää käsitellä käyttäen ennalta täytettyjä kokoveren laimennusputkia ennen kuin se testataan Panther System -järjestelmässä. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä käsittelemättömille kokoverinäytteille.

B. Näytteiden säilytysolosuhteet

1. EDTA-plasmanäytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2 °C:ssa...30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa näytteenottoputkessa tai toissijaisessa putkessa 2 °C:ssa...30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- ensisijaisessa näytteenottoputkessa tai toissijaisessa putkessa 2 °C:ssa...8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- toissijaisessa putkessa –20 °C:ssa tai –70 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.

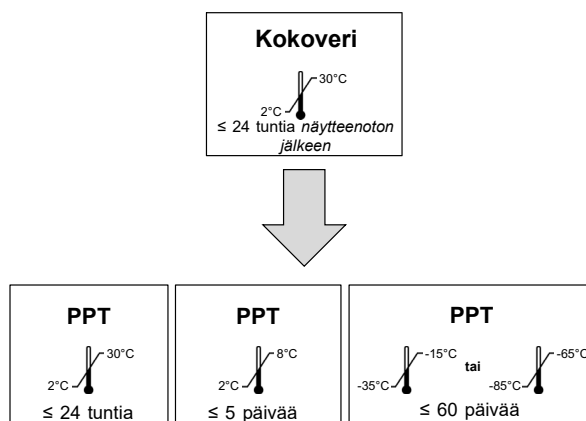


Kuva 1. EDTA-putkien säilytysolosuhteet

2. PPT-näytteet

Kokoveri voidaan säilyttää 2 °C:ssa...30 °C:ssa, ja se on sentrifugoitava 24 tunnin kuluessa näytteenotosta. Plasmaa voidaan sen jälkeen säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- PPT-putkessa 2 °C:ssa...30 °C:ssa enintään 24 tunnin ajan
- PPT-putkessa 2 °C:ssa...8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- PPT-putkessa -20 °C:ssa...-70 °C:ssa enintään 60 päivän ajan

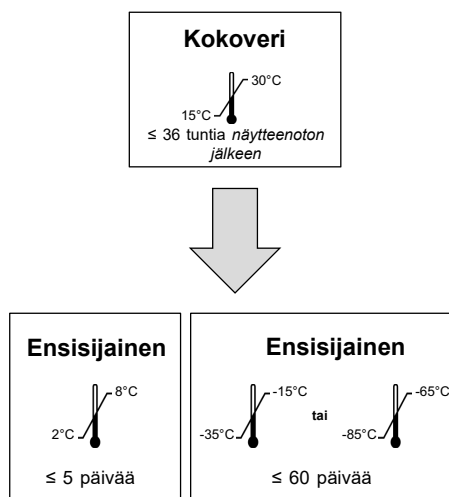


Kuva 2. PPT-putkien säilytysolosuhteet

3. Kokoverinäytteet

Kokoverta voidaan säilyttää 15 °C:ssa...30 °C:ssa enintään 36 tunnin ajan näytteenoton jälkeen. Kerättyä kokoverta voidaan säilyttää jossain seuraavista olosuhteista:

- ensisijaisessa näytteenottoputkessa 2 °C:ssa...8 °C:ssa enintään 5 päivän ajan tai
- ensisijaisessa näytteenottoputkessa –20 °C:ssa...–70 °C:ssa enintään 60 päivän ajan.



Kuva 3. Kokoverinäytteiden säilytysolosuhteet

Panther System -järjestelmässä säilytettävät näytteet

Plasma- ja kokoverinäytteet voidaan jättää Panther System -järjestelmään ilman korkkia enintään 8 tunnin ajaksi. Näytteet voidaan poistaa Panther Systemistä ja testata, kunhan kokonaissäilytysaika järjestelmässä ei ylitä 8 tuntia, ennen kuin Panther System pipetoi näytteen.

Näytteen siirto

Pidä näytteen säilytysolosuhteet kohdassa *Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen* kuvattuina.

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

Panther System -järjestelmä

Panther System -järjestelmään tarkoitetut Aptima CMV Quant Assay -määrityksen reagenssit luetellaan alla. Reagenssin yksilöintimerkinnot luetellaan myös reagenssin nimen vieressä.

Toimitetut reagenssit ja materiaalit

Aptima CMV Quant Assay Kit, 100 testiä (tuotenro PRD-05074)
(1 määrittelylaatikko, 1 kalibraattoripakkaus, 1 kontrollipakkaus ja 1 kohteen vahvennereagenssilaatikko)

Aptima CMV Quant Assay -laatikko
(säilytä 2 °C:ssa...8 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Merkintä	Komponentti	Määrä
A	qCMV Amplification Reagent (qCMV-monistusreagenssi) <i>Ei-infektoivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i>	1 injektiopullo
E	qCMV Enzyme Reagent (qCMV-entsyymireagenssi) <i>Käänteistranskriptaasi ja RNA-polymeraasi kuivattuina HEPES-puskuroidussa liuoksessa.</i>	1 injektiopullo
PRO	qCMV Promoter Reagent (qCMV-promoottireagenssi) <i>Ei-infektoivat nukleiinihapot puskuriliuokseen kuivattuina.</i>	1 injektiopullo
AR	qCMV Amplification Reconstitution Solution (qCMV-monistuksen sekoitusliuos) <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qCMV Enzyme Reconstitution Solution (qCMV-entsyymin sekoitusliuos) <i>HEPES-puskuroitu liuos, joka sisältää pinta-aktiivista ainetta ja glyserolia.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qCMV Promoter Reconstitution Solution (qCMV-promootterin sekoitusliuos) <i>Vesiliuos, joka sisältää glyserolia ja säilöntäaineita.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qCMV Target Capture Reagent (qCMV-kohteen eristysreagenssi) <i>Nukleiinihapot puskuroidussa suolaliuoksessa, joka sisältää kiinteän faasin ei-infektoivia nukleiinihappoja ja sisäistä kalibraattoria.</i>	1 x 72,0 mL
	Sekoituskaulukset	3
	Pääerän viivakoodiarkki	1 arkki

Aptima CMV Quant Calibrator -pakkaus (tuotenro PRD-05075)
(säilytä -15 °C:ssa...-35 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Merkintä	Komponentti	Määrä
PCAL	qCMV Positive Calibrator (positiivinen qCMV-kalibraattori) <i>Plasmidi-DNA:ta puskuroidussa liuoksessa.</i>	5 x 2,5 mL
	Kalibraattorin viivakooditarra	—

Aptima CMV Quant Controls -pakkaus (tuotenro No. PRD-05076)
(säilytä –15 °C:ssa...–35 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Merkintä	Komponentti	Määrä
NC	qCMV Negative Control (negatiivinen qCMV-kontrolli) <i>CMV-negatiivinen defibrinoitu ihmisen plasma, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2 % natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	qCMV Low Positive Control (qCMV:n alarajan positiivinen kontrolli) <i>Inaktivoitu CMV defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2 % natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	qCMV High Positive Control (qCMV:n ylärajan positiivinen kontrolli) <i>Inaktivoitu CMV defibrinoidussa ihmisen plasmassa, joka sisältää gentamysiiniä ja 0,2 % natriumatsidia säilöntäaineina.</i>	5 x 0,8 mL
	Kontrollin viivakooditarra	—

Aptima CMV Quant Target Enhancer Reagent -laatikko
(säilytä 15 °C:ssa...30 °C:ssa vastaanoton jälkeen)

Merkintä	Komponentti	Määrä
TER	qCMV Target Enhancer Reagent (qCMV-kohteen vahvennereagenssi) <i>Litiumhydroksidin väkevöity liuos.</i>	1 x 46,0 mL

Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen

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

Materiaali	Tuotenumero
Panther™ System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (Panther-ajosarja reaaliaikaista määrittämiä varten – vain reaaliaikaisia määrittämiä varten)	PRD-03455 (5 000 testiä)
<i>Aptima™ Assay Fluids Kit (tunnetaan myös nimellä Universal Fluids Kit, yleisnestesarja) sisältää Aptima Wash Solution -pesuliuosta, Aptima Buffer for Deactivation Fluid -puskuria ja Aptima Oil Reagent -öljyreagenssia</i>	303014 (1 000 testiä)
<i>Moniputkiyksiköt (MTU:t)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit -jätepussipakkaus</i>	902731
<i>Panther System -jäteastian kansi</i>	504405
Vaihtoehtoisesti Panther System -järjestelmän ajosarja <i>(kun suoritetaan ei-reaaliaikaisia TMA-määrittämiä rinnan reaaliaikaisten TMA-määrittämien kanssa) sisältää moniputkiyksiköitä, jätetuppeja, jätetastian kansiä ja määrittämissä</i>	303096 (5 000 testiä)
Kokoveren laimennusaineen putket (vain kokoverinäytteiden käsittelyyn)	PRD-06783 (100 esitötettyä putkea yhdessä pussissa)
Kärjet, 1 000 µL, johtavia, nesteen tunnistavia	10612513 (Tecan)
Valkaisuaine, 5 % – 7 % (0,7–1,0 M) natriumhypokloriittiliuos	—
Kertakäyttöiset, jauheettomat käsineet	—
Vaihdettavat korkit, joita ei voi läpäistä	103036A
Hologicin umpinaiset vaihtokorkit (kertakäyttöinen putken korkki kokoveren käsittelyyn)	PRD-06720
Reagenssin vaihtokorkit	
<i>Monistus-, entsyymi-, promootterireagenssien sekoituspullot</i>	CL0041 (100 korkkia)
<i>TCR-pullo</i>	CL0040 (100 korkkia)
<i>TER-pullo</i>	903302 (100 korkkia)
Muovitaustaiset laboratoriopöydän suojukset	—
Nukkaamattomat liinat	—
Pipetoija	—
Kärjet	—
Ensisijaiset näytteenotto-putket (EDTA ja PTT), vaihtoehdot:	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Sentrifugi	—
Vortex-sekoitin	—

Valinnaiset materiaalit

Materiaali	Tuotenro
Toissijaisen putken vaihtoehdot:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) -näytealikkvoottiputket (100 kpl)</i>	503762
Kuljetusputken korkki (100 kpl:n pakkaus) <i>korkki SAT-putkea varten</i>	504415
Aptima Specimen Diluent (Aptima-näytteenlaimennin)	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent -näytteenlaimenninpakkaus <i>sisältää Aptima Specimen Diluent -laimenninta, 100 SAT-putkea ja 100 korkkia</i>	PRD-03503
Siirtopipetit	—
Vanukärkiset puikot	—
Putkiravisteliija	—

Panther System -järjestelmän testausmenetelmä

Huomautus: Panther System / Panther Fusion System -järjestelmän käyttöoppaassa on lisätietoja testausmenetelmistä.

A. Työskentelyalueen valmistelu

- Puhdista työskentelypinnat, joilla reagenssit valmistetaan. Pyyhi työskentelypinnat 2,5 % –3,5 % (0,35–0,5 M) natriumhypokloriittiliuoksella. Anna natriumhypokloriittiliuoksen koskea pintoihin vähintään 1 minuutin ajan ja tee sitten huuhtelu deionisoidulla (DI) vedellä. Älä anna natriumhypokloriittiliuoksen kuivua. Peitä pöytäpinta puhtailla, muovitaustaisilla imukykyisillä työpöytäpeiteillä.
- Puhdista erillinen työskentelypinta, jossa näytteet valmistellaan. Käytä edellä kuvattua menettelyä (vaihe A.1).
- Puhdista pipetoijat. Käytä edellä kuvattua puhdistusmenettelyä (vaihe A.1).

B. Kalibraattorin ja kontrollien valmistus

Anna kalibraattorin ja kontrollien lämpötilan nousta 15 °C:seen...30 °C:seen ennen käsittelyä toimimalla seuraavasti:

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

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

Huomautus: Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä kääntäessäsi kalibraattoria ja kontrolleja. Vaahdo estää Panther System -järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.

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

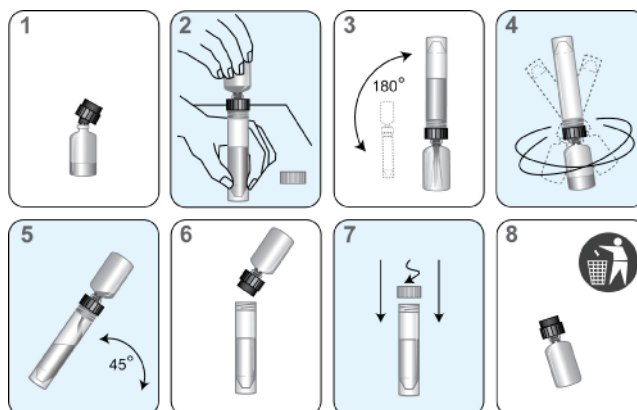
C. Reagenssin sekoitus / uuden pakkauksen valmistelu

Huomautus: reagenssien sekoitus on tehtävä ennen minkään töiden aloittamista Panther System -järjestelmällä.

1. Toimi seuraavasti Target Capture Reagent (TCR) -reagenssin valmistelemista varten:
 - a. Poista TCR säilytyksestä (2 °C...8 °C). Tarkista TCR-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.
 - b. Ravistele TCR-pulloa heti voimakkaasti 10 kertaa. Anna TCR-pullon jäädä 15 °C:seen...30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi. Ravistele ja käänteile tänä aikana TCR-pulloa vähintään 10 minuutin välein.

Vaihtoehto: TCR-pullo voidaan valmistella putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista TCR säilytyksestä (2 °C...8 °C) ja ravistele sitä heti voimakkaasti 10 kertaa. Aseta TCR-pullo putkiravistelijaan ja jätä TCR 15 °C:seen...30 °C:seen lämpenemään vähintään 45 minuutin ajaksi.
 - c. Varmista, että kaikki sakka on liuoksessa ja magneettihiukkaset on suspendoitu ennen käyttöä.
2. Tee monistus-, entsyymi- ja promootterireagenssien sekoitus seuraavalla tavalla:
 - a. Poista kylmäkuivatut reagenssit ja vastaavat sekoitusliuokset säilytyksestä (2 °C...8 °C). Käytä jokaista sekoitusliuosta kylmäkuivatun reagenssinsa kanssa.
 - b. Varmista, että sekoitusliuoksella ja kylmäkuivatulla reagenssilla on täsmäyvät tarran värit. Tarkista pääerän viivakoodiarkin eränumerot ja varmista, että käytät yhdessä asianmukaisia reagensseja.
 - i. Avaa kylmäkuivattu reagenssipullo poistamalla metallitiiviste ja kumitulppa.
 - ii. Aseta sekoituskaulus (musta) urallinen pää injektiopullon päälle (Kuva 4, vaihe 1).
 - iii. Avaa täsmävä sekoitusliuospullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetyle työkentelypinnalle.
 - iv. Aseta sekoitusliuospullo vakaalle pinnalle (esim. pöydälle). Käännä sen jälkeen kylmäkuivatua reagenssia sisältävä pullo sekoitusliuospullon päälle ja kiinnitä kaulus lujasti sekoitusliuospulloon (Kuva 4, vaihe 2).
 - v. Käännä kootut pullot hitaasti (injektiopullo kiinnitettynä liuospulloon), jotta liuos pääsee valumaan lasiseen injektiopulloon (Kuva 4, vaihe 3).
 - vi. Ota kootut pullot ja ravistele koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan (Kuva 4, vaihe 4).
 - vii. Odota vähintään 30 minuuttia, jotta kylmäkuivattu reagenssi valuu liuokseen.
 - viii. Kun kylmäkuivattu reagenssi on valunut liuokseen, sekoita koottuja pulloja vähintään 10 sekunnin ajan ja ravistele sitten liuosta kevyesti lasisessa injektiopullossa edestakaisin, jotta se sekoittuu kunnolla.
 - c. Kallista koottuja pulloja hitaasti uudelleen, jotta kaikki liuos pääsee valumaan takaisin sekoitusliuospulloon (Kuva 4, vaihe 5).
 - d. Ota sekoituskaulus ja lasinen injektiopullo varovasti pois (Kuva 4, vaihe 6).
 - e. Laita korkki takaisin pulloon. Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja sekoituspäivä etikettiin (Kuva 4, vaihe 7).
 - f. Hävitä sekoituskaulus ja lasipullo (kuva 5, vaihe 8).

Varoitus: Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä sekoittaessasi reagensseja. Vaahto estää Panther System -järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.



Kuva 4. Reagenssien sekoitusprosessi

- Ota qCMV-kohteen vahvennereagenssi pois säilytyksestä (15 °C...30 °C). Merkitse käyttäjän nimikirjaimet ja avaamispäivä tarraan. Tarkista TER-pullon eränumero ja varmista, että se vastaa pääerän viivakoodiarkin eränumeroa.

D. Reagenssin valmistelu aiemmin valmistettujen reagenssien tapauksessa

- Ota aiemmin valmistellut reagenssit pois säilytyksestä (2 °C...8 °C). Ennalta valmistettujen monistus-, entsyymi- ja promootterireagenssien ja TCR:n lämpötilan on oltava 15 °C...30 °C ennen määrittämisen aloittamista.
- Poista TER säilytyksestä (15 °C...30 °C).
- Ennalta valmistetun TCR:n tapauksessa suorita edellä kuvattu vaihe C.1 ennen järjestelmään lataamista.
- Sekoita ja käänteile monistus-, entsyymi- ja promootterireagensseja, jotta ne sekoittuvat kunnolla, ennen kuin lisäät ne järjestelmään. Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä käännellessäsi reagensseja.

Vaihtoehto: Aiemmin valmistellut reagenssit voidaan valmistella putkiravistelijassa seuraavien ohjeiden mukaisesti: Poista reagenssit säilytyksestä (2 °C...8 °C). Aseta reagenssit putkiravistelijaan ja jätä ne 15 °C:seen...30 °C:seen lämpenemään vähintään 30 minuutin ajaksi.

- Älä täytä vajaita reagenssipulloja. Panther System tunnistaa ja hylkää liian täydet pullot.

E. Plasmanäytteiden käsittely

- Varmista, että ensisijaisissa putkissa olevat käsitellyt näytteet tai toissijaisissa putkissa olevat laimentamattomat näytteet on säilytetty asianmukaisesti kohdan *Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen* ohjeiden mukaan.
- Varmista, että jäädytetyt näytteet on sulatettu kunnolla. Sekoita sulatettuja näytteitä vortex-sekoittimella 3–5 sekunnin ajan, jotta ne sekoittuvat kunnolla.
- Anna näytteiden lämpötilan nousta 15 °C:seen...30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther System -järjestelmässä säilytettävät näytteet* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.

4. Varmista, että kussakin ensisijaisessa näytteenottoputkessa on enintään 1 200 µL näytettä tai kussakin toissijaisessa putkessa on vähintään 700 µL näytettä. Kohdan *Näytteenotto* taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset.
5. Sentrifugoi jokaista näytettä 1 000–3 000 g:n kiihtyvyydellä 10 minuutin ajan juuri ennen näytteiden asettamista näytetelineeseen. Älä ota korkkeja pois tässä vaiheessa.
Katso alta vaiheesta G.2 lisätietoja telineeseen lataamisesta ja korkkien poistamisesta.

F. Kokoverinäytteiden käsittely

1. Varmista, että ensisijaisissa putkissa olevia käsittelemättömiä näytteitä säilytetään asianmukaisesti kohdan *Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen* ohjeiden mukaisesti.
2. Varmista, että jäädytetyt näytteet on sulatettu kunnolla.
3. Anna näytteiden lämpötilan nousta 15 °C:seen...30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther System -järjestelmässä säilytettävät näytteet* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
4. Käännä kokoveriputkia varovasti vähintään 3 kertaa tai sekoita niitä kevyesti ravistelijassa, kunnes veri on homogeenistä.
5. Tee seuraavat toimenpiteet kullekin näytteelle ennen näytteiden käsittelyä.
 - a. Ensisijaisissa putkissa oleva veri pitää sekoittaa perusteellisesti kääntelemällä, ja näyte pitää siirtää heti kokoveren laimenninta sisältävään putkeen.
 - b. Lisää 500 µL kokoverinäytettä esitäytettyyn Whole Blood Diluent (kokoveren laimennin) -putkeen.
 - c. Aseta korkki takaisin ja sekoita näytettä vortex-sekoittimella vähintään 5 sekunnin ajan.

Katso alta vaiheesta G.2 lisätietoja telineeseen lataamisesta ja korkkien poistamisesta.

G. Järjestelmän valmistelu

1. Valmistele järjestelmä *Panther / Panther Fusion System -järjestelmän käyttöoppaan ja Menetelmä koskevia huomautuksia* -kohdan ohjeiden mukaisesti. Varmista, että käytetyt reagenssitelineet ja TCR-sovittimet ovat sopivankokoisia.
2. Lisää näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle näyteputkelle (näyte ja tarvittaessa kalibraattori ja kontrollit):
 - a. Löysennä yhden näyteputken korkkia, mutta älä ota sitä vielä pois.
Huomautus: *Ole erityisen varovainen, jottei aerosolien leviäminen aiheuta kontaminaatiota. Löysennä näytteiden korkkeja varovasti.*
 - b. Aseta näyteputki näytetelineeseen.
 - c. Toista vaiheet 2.a ja 2.b kaikille jäljellä oleville näytteille.
 - d. Kun näytteet on asetettu näytetelineeseen, ota jokainen näyteputken korkki pois 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 System -järjestelmän pinnantason havainnoinnin toiminnan.
 - f. Kun viimeinen korkki on poistettu, aseta näyteteline näyteosastoon.

Huomautus: jos ajat samaan aikaan muita määrittämiä ja näytetyyppejä, kiinnitä näytteidike ennen näytetelineen asettamista näyteosastoon.

g. Toista vaiheet 2.a–2.f seuraavalle näytetelineelle.

H. Järjestelmän valmistelu – kokoverinäytteen muuntokertoimen käyttö

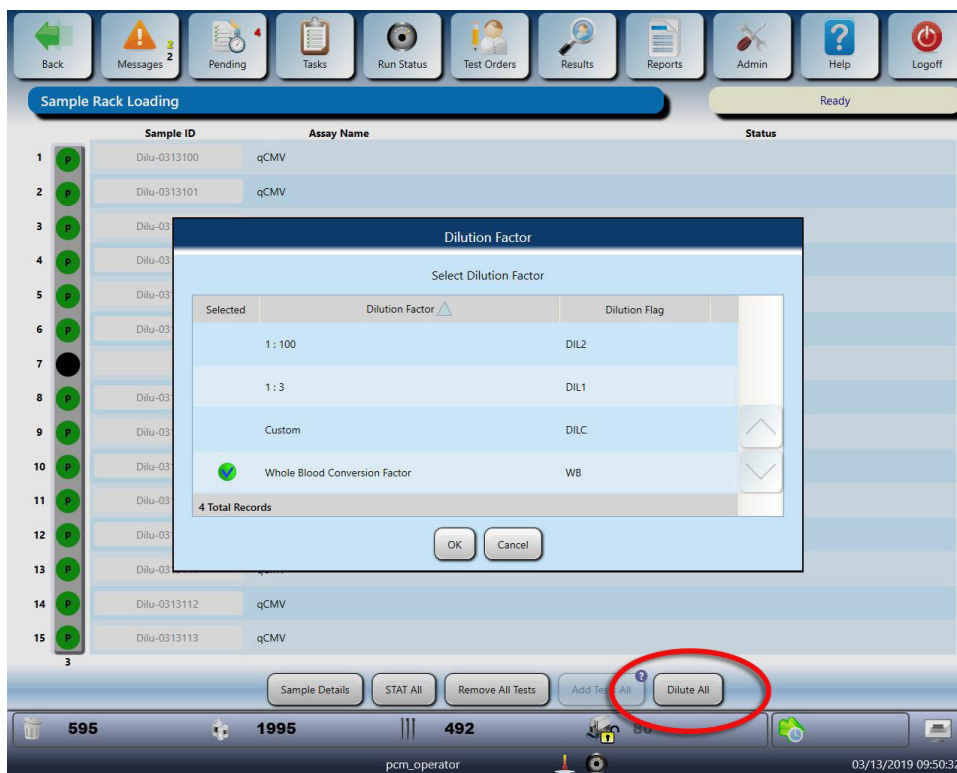
1. Valmistele järjestelmä *Panther System -järjestelmän käyttöoppaan* ohjeiden mukaisesti.
2. Lataa näyteteline järjestelmään.
3. Käytä kokoveren muuntokerrointa kokoverinäytteiden määritystestimääräyksiin.

Huomautus: kokoveren muuntokerrointa voidaan käyttää koko telineelle tai yhdelle testimääräykselle.

Kokoveren muuntokertoimen käyttäminen täydelle kokoverinäytteiden telineelle:

- a. Kaksoisnapsauta haluttua ladattua telinettä *Sample Rack Loading* (Näytetelineen lataaminen) -näytössä. *Sample Rack Loading* (Näytetelineen lataaminen) -näyttö avautuu valittua telinettä varten.
- b. Valitse **Dilute All (Laimenna kaikki)**.

Dilution Factor (Laimennuskerroin) -ikkuna avautuu.



Kuva 5. Dilution Factor (Laimennuskerroin) -ikkuna Sample Rack Loading (Näytetelineen lataus) -näytössä

- c. Valitse **Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin)**.
- d. Valitse **OK**.

Set Dilution Factor for Rack (Aseta telineelle laimennuskerroin) -ikkuna tulee esiin.

- e. Valitse **Yes** (Kyllä), jos haluat valita Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin) -lipun koko kokoverinäytteiden telineelle.

Kokoveren muuntokertoimen käyttäminen yhdelle testimääräykselle (esimerkiksi näytteen neljännelle näytteelle; katso alla oleva kuva):

- a. Kaksoisnapsauta *Sample Rack Bay* (Näytetelineosasto) -näytössä ladattua telineettä, jossa on kiinnostavat näytteet.

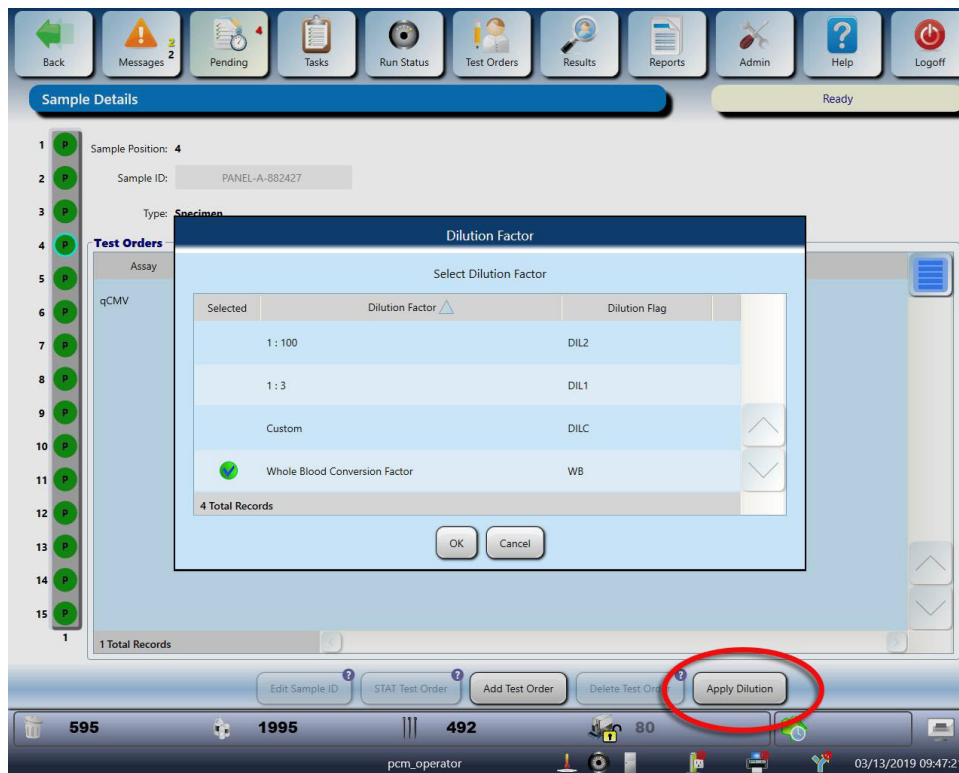
Sample Rack Loading (Näytetelineen lataaminen) -näyttö avautuu valittua näytetelinettä varten.

- b. Kaksoisnapsauta kiinnostavaa näytettä *Sample Rack Loading* (Näytetelineen lataaminen) -näytössä.

Sample Details (Näytteen tiedot) -näyttö avautuu ja näyttää valitun näytteen nykyiset testimääräykset.

- c. Valitse kiinnostava testimääräys *Test Orders* (Testimääräys) -paneelista.

- d. Valitse **Apply Dilution (Käytä laimennusta)**.



Kuva 6. *Dilution Factor (Laimennuskerroin) -ikkuna Sample Details (Näytetiedot) -näytössä*

- e. Valitse **Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin)**.
- f. Valitse **OK**, jos haluat käyttää Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin) -valintaa kaikkiin valittuihin testimääräyksiin.
4. Tarvittaessa kokoveren muuntokerroin voidaan poistaa testimääräyksistä ennen käsittelyn alkua.

Kokoveren muuntokertoimen poistaminen koko telineeltä:

1. Kaksoisnapsauta haluttua ladattua telinettä *Sample Rack Loading* (Näytetelineen lataaminen) -näytössä.
Sample Rack Loading (Näytetelineen lataaminen) -näyttö avautuu valittua telinettä varten.
2. Valitse **Dilute All (Laimenna kaikki)**.
3. Poista *Dilution Factor* (Laimennuskerroin) -ikkunasta **Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin)** -valinta.
4. Valitse **OK**.
Set Dilution Factor for Rack (Aseta telineelle laimennuskerroin) -ikkuna tulee esiin.
5. Valitse **OK**, jos haluat poistaa Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin) -valinnan koko telineeltä.

Kokoveren muuntokertoimen poistaminen määrittymestimääräyksiltä:

1. Kaksoisnapsauta *Sample Rack Bay* (näytetelineosasto) -näytössä ladattua telinettä, jossa on kiinnostavat näytteet.
Sample Rack Loading (Näytetelineen lataaminen) -näyttö avautuu valittua näytetelinettä varten.
2. Kaksoisnapsauta kiinnostavaa näytettä *Sample Rack Loading* (Näytetelineen lataaminen) -näytössä.
Sample Details (Näytteen tiedot) -näyttö avautuu ja näyttää valitun näytteen nykyiset testimääräykset.
3. Valitse kiinnostava testimääräys *Test Orders* (Testimääräys) -paneelista.
4. Valitse **Apply Dilution (Käytä laimennusta)**.
5. Poista *Dilution Factor* (Laimennuskerroin) -ikkunasta **Whole Blood Conversion Factor (Kokoveren muuntokerroin)** -valinta.
6. Valitse **OK**, kun haluat poistaa kokoveren muuntokertoimen testimääräyksestä.

Menetelmää koskevia huomautuksia

A. Kalibraattori ja kontrollit

1. Positiivisen qCMV-kalibraattorin, qCMV:n alarajan positiivisen kontrollin, qCMV:n ylärajan positiivisen kontrollin ja negatiivisten qCMV-kontrollien putket voidaan asettaa mihin tahansa paikkaan näytetelineeseen ja mille tahansa Panther System -järjestelmän näyteosaston kaistalle. Näytteiden pipetointi aloitetaan, kun toinen seuraavista kahdesta ehdosta täyttyy:
 - a. Kalibraattori ja kontrollit ovat tällä hetkellä järjestelmän käsiteltävinä.
 - b. Kalibraattorin ja kontrollien kelvolliset tulokset rekisteröidään järjestelmään.
2. Kun kalibraattori- ja kontrolliputket on pipetoitu ja niitä käsitellään Aptima CMV Quant Assay -määritysreagenssisarjan kanssa, näytteet voidaan testata asiaankuuluvien, sekoitettujen tarvikesarjojen kanssa enintään 24 tunnin kuluessa, **paitsi jos**
 - a. kalibraattorin tai kontrollin tulokset eivät ole kelvollisia
 - b. asiaankuuluvaa määritysreagenssisarjaa ei ole poistettu järjestelmästä
 - c. asiaankuuluvan määritysreagenssisarjan säilyvyysaika ei ole ylittynyt.
3. kalibraattoriputkea ja jokaista kontrolliputkea voidaan käyttää vain kerran. Jos putkea yritetään käyttää useammin kuin kerran, seurauksena voi olla käsittelyvirheitä.

B. Käsineiden jauhe

Kuten kaikkien reagenssijärjestelmien tapauksessa, tiettyjen käsineiden liian suuret jauhemäärät voivat aiheuttaa avattujen putkien kontaminoitumisen. Siksi suosittelemme jauheettomia käsineitä.

Laadunvalvonta

Käyttäjä saattaa pilata ajon tai näytteen tuloksen, jos määrittelyn suorituksen aikana ilmenee teknisiä, käyttäjään tai laitteeseen liittyviä ongelmia, jotka on dokumentoitava. Tässä tapauksessa näytteet on testattava uudelleen.

Epäkelpoja tuloksia saaneet näytteet on testattava uudelleen, jotta niille saadaan kelvollinen tulos.

Määrittelyn kalibrointi

Määrittely on kalibroitava, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Yksi positiivinen kalibraattori ajetaan kolmesti joka kerta, kun reagenssarja asetetaan Panther System -järjestelmään. Kun kalibrointi on tehty, se on voimassa enintään 24 tunnin ajan. Panther System -ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kalibrointi on tarpeen. Käyttäjä lukee jokaisen reagenssarjan mukana toimitetusta pääerän viivakoodiarkista kalibrointikertoimen.

Käsittelyn aikana Panther System -järjestelmän ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kalibraattorin hyväksyntäehdot. Jos alle kaksi kalibraattorin ajoista on kelvollisia, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

Negatiiviset ja positiiviset kontrollit

Määrittelyn kontrollisarja on testattava kelvollisten tulosten saamiseksi. Negatiivisen kontrollin, alarajan positiivisen kontrollin ja ylärajan positiivisen kontrollin yksi ajo on testattava joka kerta, kun reagenssarja asetetaan Panther System -järjestelmään. Kun testaus on tehty, kontrolleja voi käyttää enintään 24 tunnin ajan. Panther System -ohjelmisto kertoo käyttäjälle, milloin kontrolleja tarvitaan.

Käsittelyn aikana Panther System -ohjelmisto tarkistaa automaattisesti kontrollien hyväksyntäehdot. Jotta tuloksista tulee kelvollisia, negatiivisen kontrollin on annettava ”Ei havaittu” -tulos ja positiivisen kontrollin tuloksen on oltava ennalta määritettyjen parametrien rajoissa. Jos jokin kontrolleista saa epäkelvon tuloksen, ohjelmisto hylkää ajon automaattisesti. Virheelliseksi määritetyn ajon näytteet on testattava uudelleen käyttämällä juuri valmistettua kalibraattoria ja juuri valmistettuja kontrolleja.

Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli

Jokainen näyte sisältää sisäistä kalibraattoria / sisäistä kontrollia (IC). Käsittelyn aikana Panther System -ohjelmisto tarkistaa automaattisesti IC-hyväksyntäehdot. Jos IC-tulos on epäkelvo, näytteen tulos hylätään. Jokainen epäkelvon IC-tuloksen saanut näyte on testattava uudelleen, jotta sille saadaan kelvollinen tulos.

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

Tulosten tulkinta

Panther System määrittää automaattisesti CMV:n DNA-pitoisuuden näytteistä ja kontrolleista vertaamalla tuloksia kalibrointikäyrään. CMV:n DNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/mL ja \log_{10} IU/mL. Taulukko 1 ja Taulukko 2 esittävät tulosten tulkinnan.

Taulukko 1: Plasmatuloksen tulkinta

Ilmoitettu Aptima CMV Quant Assay -määrityksen tulos		Tulkinta
IU/mL	\log_{10} -arvo	
Ei havaittu	Ei havaittu	CMV:n DNA:ta ei havaittu.
< 53 havaittu	< 1,72	CMV:n DNA:ta on havaittu, mutta sen pitoisuus alittaa kvantitoinnin alarajan (LLoQ).
53–10 000 000	1,72–7,00	CMV:n DNA:n pitoisuus on kvantitatiivisella alueella arvojen LLoQ IU/mL ja ULoQ IU/mL välillä.
> 10 000 000	> 7,00	CMV:n DNA:n pitoisuus ylittää kvantitoinnin ylärajan (Upper Limit of Quantification, ULoQ).
Invalid ^a	Invalid ^a	Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen.

^aInvalid tulokset näytetään sinisellä kirjainlajilla.

Taulukko 2: Kokoveren tuloksen tulkinta

Ilmoitettu Aptima CMV Quant Assay -määrityksen tulos		Tulkinta
IU/mL	\log_{10} -arvo	
Ei havaittu	Ei havaittu	CMV:n DNA:ta ei havaittu.
< 176 havaittu	< 2,24	CMV:n DNA:ta on havaittu, mutta sen pitoisuus alittaa kvantitoinnin alarajan (LLoQ).
176–10 000 000	2,24–7,00	CMV:n DNA:n pitoisuus on kvantitatiivisella alueella arvojen LLoQ IU/mL ja ULoQ IU/mL välillä.
> 10 000 000	> 7,00	CMV:n DNA:n pitoisuus ylittää kvantitoinnin ylärajan (Upper Limit of Quantification, ULoQ).
Invalid ^a	Invalid ^a	Tuloksen muodostuksessa tapahtui virhe. Näyte on testattava uudelleen.

^aInvalid tulokset näytetään sinisellä kirjainlajilla.

Rajoitukset

- A. Tätä määritystä saavat käyttää vain toimenpiteen suorittamiseen koulutusta saaneet henkilöt. Tässä pakkausselosteessa annettujen ohjeiden noudattamatta jättäminen saattaa aiheuttaa virheellisiä tuloksia.
- B. Luotettavia tuloksia saadaan vain, jos näytteenotto, kuljetus, säilytys ja prosessointi tehdään vaaditulla tavalla.
- C. Vaikkakin se on harvinaista, mutaatiot alukkeiden ja/tai koettimien kattamilla virusgenomin erittäin hyvin konservoituneilla alueilla Aptima CMV Quant Assay -määrityksessä voivat aiheuttaa viruksen alikvantitioinnin tai havaitsemisen epäonnistumisen.

Suorituskyky

Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia

Määrityksen havaitsemisraja (LoD) määritetään siksi CMV:n DNA-pitoisuudeksi, joka havaitaan 95 %:n tai suuremmalla todennäköisyydellä CLSI EP17-A2:n mukaisesti.¹⁴

Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n plasmastandardeja

LoD määritettiin testaamalla WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 09/162) mukaiset testisarjat CMV-negatiiviseen ihmisen plasmaan laimennetun CMV:n²¹ osalta. Jokaiselle laimennokselle testattiin 60 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin yhteensä 180 replikaattia laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. Kohdassa Taulukko 3 esitetyt LoD-arvot ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Aptima CMV Quant Assay -määrityksen LoD WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 40,7 IU/mL plasman osalta.

Taulukko 3: Plasman havaitsemisraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä CMV-standardia

Ennakoitu havaitsemisraja	Pitoisuus (IU/ml)
10 %	1,9
20 %	2,9
30 %	4,0
40 %	5,3
50 %	6,9
60 %	9,1
70 %	12,2
80 %	17,1
90 %	27,5
95 %	40,7

Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n kokoveristandardeja

LoD määritettiin testaamalla WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin mukaiset testisarjat CMV-negatiiviseen kokovereen laimennetun CMV:n osalta. Jokaiselle laimennokselle testattiin 60 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin yhteensä 180 replikaattia laimennosta kohti. Probittianalyysi suoritettiin ennakoitujen havaitsemisrajojen luomiseksi. Kohdassa Taulukko 4 esitetyt LoD-arvot ovat tuloksia reagenssierästä, jolla on korkein ennakoitu havaitsemisraja. Aptima CMV Quant Assay -määrityksen LoD WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin mukaisesti määritettynä on 131,0 IU/mL kokoveren osalta.

Taulukko 4: Kokoveren havaitsemisraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä CMV-standardia

Ennakoitu havaitsemisraja	Pitoisuus (IU/ml)
10 %	8,8
20 %	13,2
30 %	17,7
40 %	22,7
50 %	28,7
60 %	36,2
70 %	46,5
80 %	62,4
90 %	93,7
95 %	131,0

CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja

CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja plasmassa

LoD vahvistettiin kolmelle eri genotyypille B-glykoproteenisekvenssin⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) perusteella ja lääkkeille vastustuskykyisille mutanteille testaamalla erilaisia CMV-pitoisuuksia plasman määritetyn LoD:n ympärillä WHO:n standardia käyttämällä (genotyyppi gB-1). Testaus suoritettiin 30 replikaatilla testisarjaa ja reagenssierää kohden käyttämällä kahta Aptima CMV Quant -reagenssierää. Korkein vahvistettu LoD jokaiselle kolmelle genotyypille ja lääkkeille vastustuskykyisille mutanteille oli 40 IU/ml kumpaakin reagenssierää käytettäessä.

Huomautus: Aptima CMV Quant -määrityksen tehoa sytomegaloviruksen lääkkeille vastustuskykyisten mutaatioiden kanssa arvioitiin vain plasmanäytteistä.

Taulukko 5: CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja plasmassa

Genotyyppi	Pitoisuus (IU/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Lääkkeille vastustuskykyinen mutantti UL54 ja UL97*	35
Lääkkeille vastustuskykyinen mutantti UL56**	35

*UL54-geenimutaatiot voivat johtaa useiden viruslääkkeiden resistenssiin CMV-infektion hoidossa, esimerkiksi gansikloviiri (GCV), sidofoviiri (CDV) ja foskarneetti (PFA). Myös UL97-geenimutaatiot johtavat gansikloviirin (GCV) resistenssiin.

**UL56-geenimutaatiot johtavat letermovirin (LET) resistenssiin.

LoD-kokonaisarvo plasmassa on 40,7 IU/mL.

Havaitsemisraja CMV-genotyyppien kesken kokoveressä

LoD vahvistettiin kolmelle eri glykoproteiini B -genotyypille (gB-2, gB-3 ja gB-4) testaamalla erilaisia CMV-pitoisuuksia, jotka olivat eri puolilla kokoverelle määritettyä LoD-arvoa, käyttäen CMV:n WHO-standardia (genotyyppi gB-1). Testaus suoritettiin 30 replikaatilla testisarjan jäsentä ja reagenssierää kohti käyttäen kahta Aptima CMV Quant -reagenssin erää. Kaikille kolmelle genotyypille vahvistettu suurin LoD oli 150 IU/mL käyttäen kumpaakin reagenssierää.

Taulukko 6: Havaitsemisraja CMV-genotyyppien kesken kokoveressä

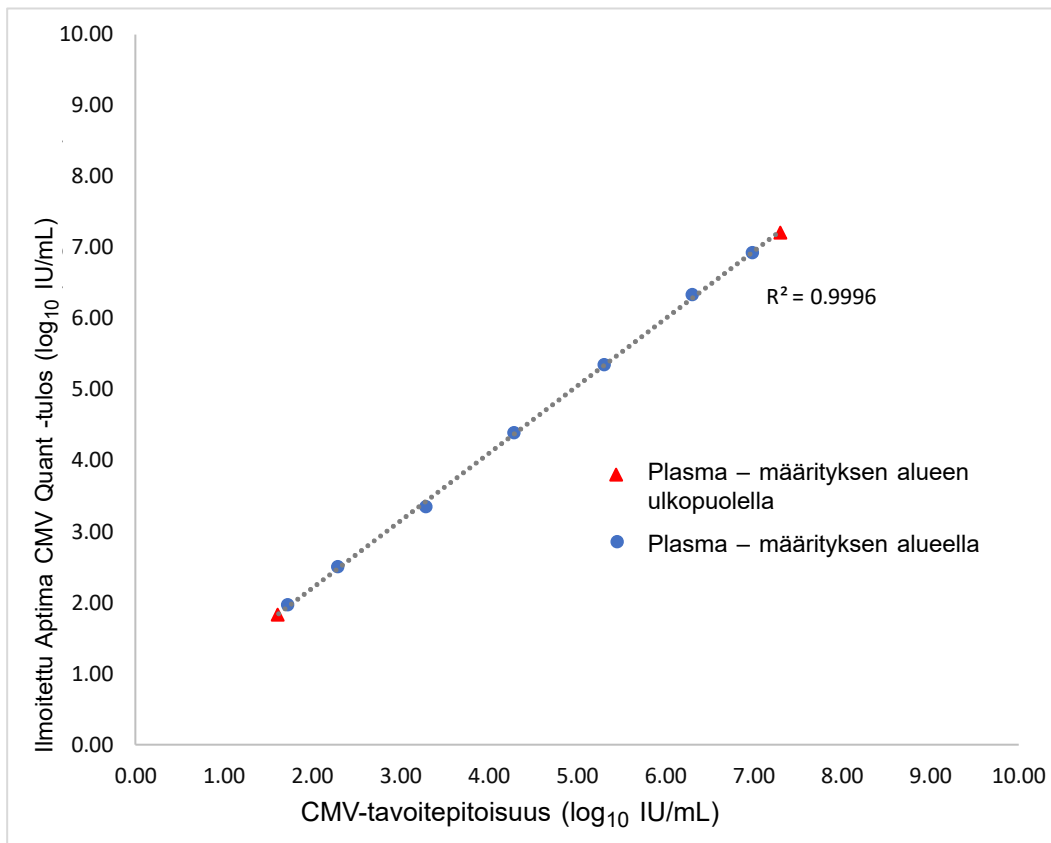
Genotyyppi	Pitoisuus (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

LoD-kokonaisarvo kokoveressä on 150 IU/mL.

Lineaarinen alue

Lineaarinen alue plasmassa

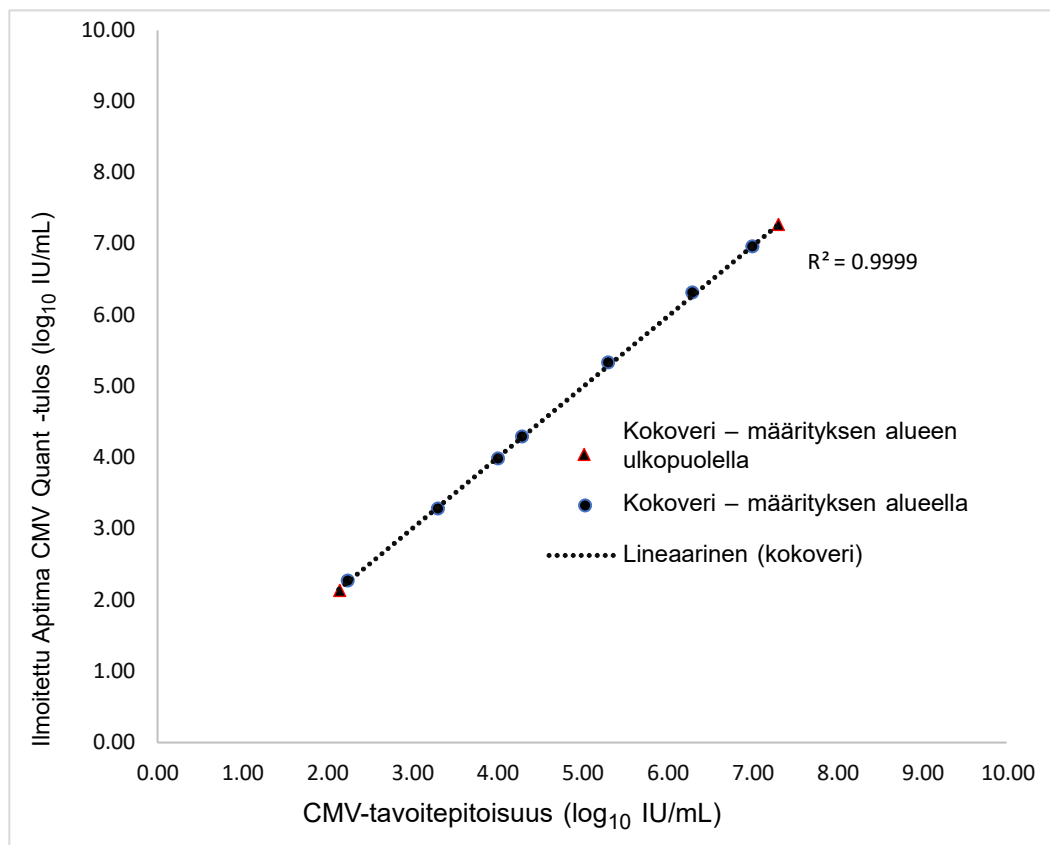
Lineaarinen alue määritettiin testaamalla CMV:n CMV-negatiiviseen ihmisen plasmaan laimennetut testisarjat CLSI EP06-A:n mukaisesti.¹⁵ Testisarjojen pitoisuusalue oli 1,62–7,30 log IU/mL. Aptima CMV Quant Assay -määritys antoi lineaarisia tuloksia koko testatulla alueella. Määrityksen kvantitoinnin yläraja (ULoQ) on 7 log IU/mL, kuten Kuva 7 osoittaa.



Kuva 7. Linearisuus plasmassa

Lineaarinen alue kokoveressä

Lineaarinen alue määritettiin testaamalla CMV:n CMV-negatiiviseen ihmisen kokovereen laimennetut testisarjat CLSI EP06-A:n mukaisesti.¹⁵ Testisarjojen pitoisuusalue oli 2,15–7,3 log IU/mL kokoveren osalta. Aptima CMV Quant Assay -määritys antoi lineaarisia tuloksia koko testatulla alueella. Määrityksen kvantitoinnin yläraja (ULoQ) on 7 log IU/mL, kuten Kuva 8 osoittaa.

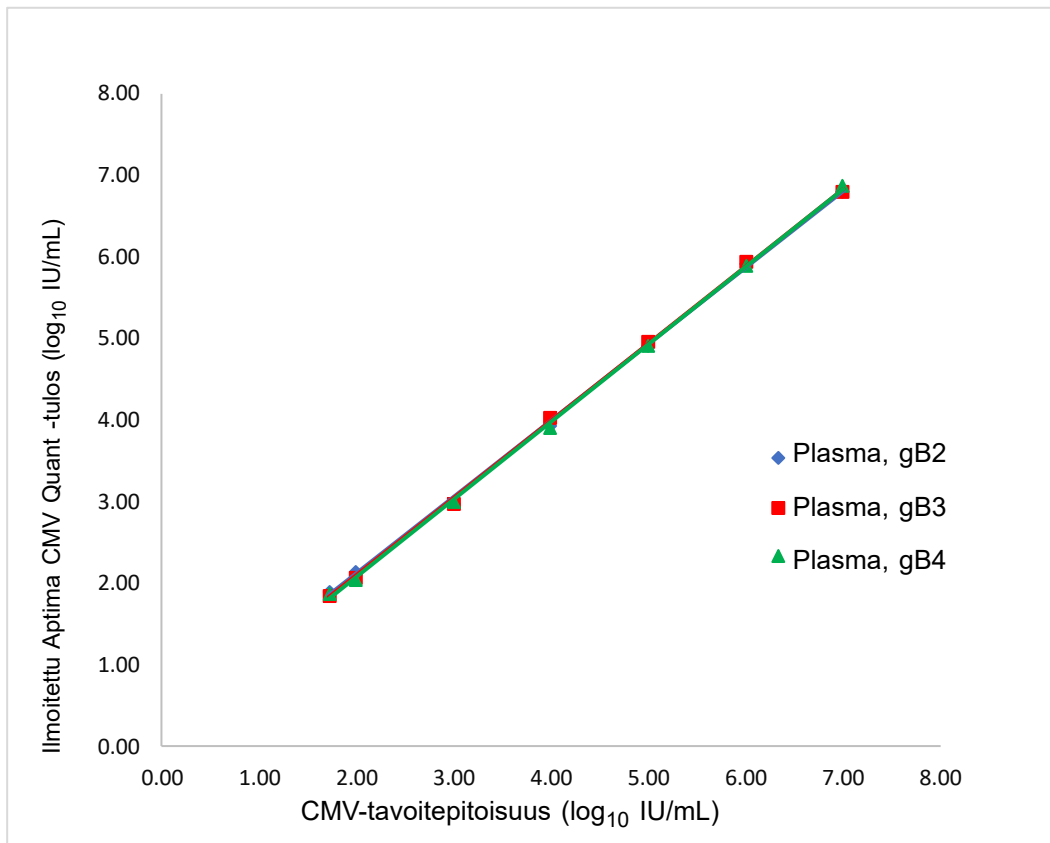


Kuva 8. Lineaarisuus kokoveressä

Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken

Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken plasmassa

Glykoproteiinin genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 lineaarisuus vahvistettiin testaamalla CMV-negatiiviseen plasmaan laimennetun CMV:n testisarjat pitoisuuksilla 1,72–7,00 log IU/mL. Lineaarisuus osoitettiin alueella kaikille testatuille genotyypeille, kuten kohdasta Kuva 9 nähdään.

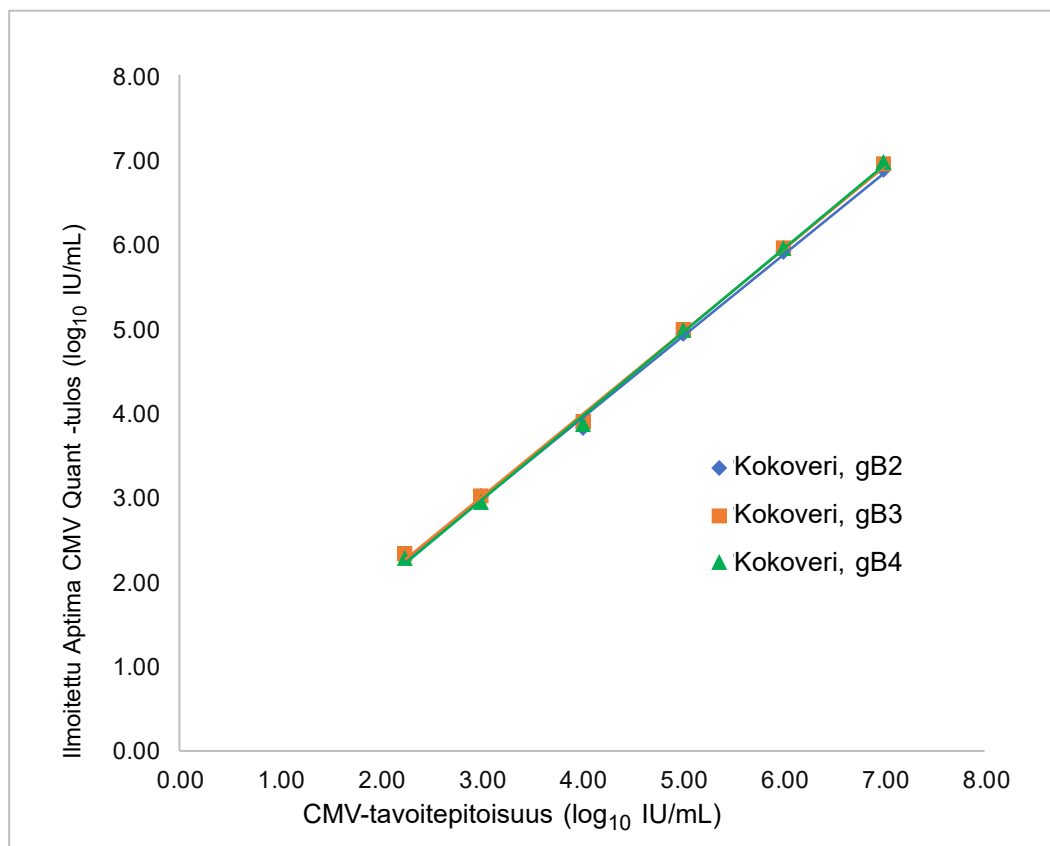


Kuva 9. Lineaarisuus CMV-genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 kesken plasmassa

Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken kokoveressä

Glykoproteiinin genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 lineaarinen vaste vahvistettiin testaamalla CMV-negatiiviseen kokovereen laimennetun CMV:n testisarjat pitoisuuksilla 2,25–7,00 log IU/mL.

Lineaarisuus osoitettiin alueella kaikille kolmelle testatulle genotyypille, kuten Kuva 10 osoittaa.



Kuva 10. Lineaarisuus CMV-genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 kesken kokoveressä

Kvantitoinnin alaraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia

Kvantitoinnin alaraja (LLoQ) määritellään alimmaksi pitoisuudeksi, jolla CMV:n DNA kvantitoidaan luotettavasti kokonaisvirheen rajoissa CLSI EP17-A2:n mukaisesti.¹⁴

Kokonaisvirhe arvioitiin käyttäen Westgardin mallia: Kokonaisvirhe (Total Error, TE) = |poikkeama| + 2 keskihajontaa. Mittausten tarkkuuden varmistamista varten Aptima CMV Quant Assay -määrityksen kokonaisvirheeksi määritettiin 1 log IU/mL (eli LLoQ-arvolla ero, joka on yli 1 log IU/mL, kahden mittauksen välillä on tilastollisesti merkitsevä).

Kvantitoinnin alaraja käytettäessä WHO-standardia plasmassa

LLoQ määritettiin testaamalla 1. WHO:n kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 09/162, genotyyppi gB-1) paneeleja CMV-negatiivisella ihmisplasmalla laimennetulle CMV:n DNA:lla. Jokaiselle laimennokselle testattiin 60 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin yhteensä 180 replikaattia laimennosta kohti. Kolmen reagenssierän LLoQ-tulokset esittää Taulukko 7. Taulukko 8 esittää tulokset TE-vaatimukset täyttävällä reagenssierällä, jolla on korkein pitoisuus ja jonka havaitsemisosuus on $\geq 95\%$. LLoQ, joka on saatu WHO:n ensimmäisellä kansainvälisellä standardilla plasmassa olevalle CMV:lle, on 53 IU/mL.

Taulukko 7: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia plasmassa laimennetulle CMV:lle

Reagenssierä	N	Havaittujen määrä	Tavoitepitoisuus	Aptima CMV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE
			(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
1	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
2	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
3	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SD = keskihajonta

Testisarjan jäsenet, jotka täyttivät tarkkuustavoitteen (TE ≤ 1) ja $\geq 95\%$ havaitsemisosuuden reagenssierien 1, 2 ja 3 osalta, ovat varjostettuja.

Taulukko 8: Yhteenveto plasman LLoQ-arvoista käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä CMV-standardia

Reagenssierä	(IU/mL)	(log IU/mL)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Kvantitoinnin alaraja käytettäessä WHO-standardia kokoveressä

Kvantitoinnin alaraja (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) määritettiin testaamalla WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin mukaiset testisarjat CMV-negatiiviseen ihmisen kokovereen laimennetun CMV:n DNA:n osalta. Jokaiselle laimennokselle testattiin 60 replikaattia jokaisella kolmesta reagenssierästä, jolloin saatiin yhteensä 180 replikaattia laimennosta kohti. Kolmen reagenssierän tulokset esittää Taulukko 9. Taulukko 10 esittää tulokset TE-vaatimukset täyttävältä reagenssierältä, jolla on korkein pitoisuus ja jonka havaitsemisosuus on $\geq 95\%$. LLoQ, joka on saatu WHO:n ensimmäisellä kansainvälisellä standardilla kokoveressä olevalle CMV:lle, on 176 IU/mL.

Taulukko 9: LLoQ:n määrittäminen käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia kokovereen laimennetussa CMV:ssä

Reagenssierä	N	Havaittujen määrä	Tavoitepitoisuus	Aptima CMV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE
			(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

SD = keskihajonta

Testisarjan jäsenet, jotka täyttivät tarkkuustavoitteen (TE ≤ 1) ja $\geq 95\%$ havaitsemisosuuden reagenssierien 1, 2 ja 3 osalta, ovat varjostettuja.

Taulukko 10: Yhteenvedo kokoveren LLoQ-arvoista käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä CMV-standardia

Reagenssierä	(IU/mL)	(log IU/mL)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien kvantitoinnin alarajan määrittäminen

Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien kvantitoinnin alaraja plasmassa

WHO:n standardia käyttämällä määritetty LLoQ tarkistettiin testaamalla CMV-genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 sekä lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien laimennoksia CMV-negatiivisessa ihmisplasmassa. Kustakin testisarjan jäsenestä testattiin 60 replikaattia yhden reagenssierän kanssa. Tulokset: katso Taulukko 11. Yhteenvedo genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 sekä lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien lasketusta LLoQ-arvosta reagenssierästä, jolla oli suurin TE-vaatimukset täyttävä pitoisuus ja $\geq 95\%$:n tunnistus: katso Taulukko 12. Tässä määrittämisessä plasman kokonais-LLoQ on 53 IU/ml.

Huomautus: Aptima CMV Quant -määrittäksen tehoa sytomegaloviruksen lääkkeille vastustuskykyisten mutaatioiden kanssa arvioitiin vain plasmanäytteistä.

Taulukko 11: Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien LLoQ:n määrittäminen plasmassa

Genotyyppi	N	Tunnistettujen %-osuus	Tavoitepitoisuus (log ₁₀ IU/ml)	Aptima CMV Quant (log ₁₀ IU/ml)	SD (log ₁₀ IU/ml)	Poikkeama (log ₁₀ IU/ml)	Laskettu TE (log ₁₀ IU/ml)
gB-2	60	93,3	1,48	1,38	0,41	0,10	0,92
	60	96,7	1,54	1,39	0,39	0,16	0,95
	60	93,3	1,60	1,49	0,38	0,11	0,87
	60	96,7	1,65	1,70	0,24	0,04	0,51
	60	95,0	1,70	1,54	0,32	0,16	0,80
gB-3	60	91,7	1,48	1,27	0,38	0,20	0,97
	60	91,7	1,54	1,27	0,40	0,27	1,07
	60	88,3	1,60	1,31	0,47	0,29	1,23
	60	93,3	1,65	1,46	0,34	0,20	0,88
	60	91,7	1,70	1,57	0,29	0,13	0,71
	60	98,3	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79

Taulukko 11: Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien LLoQ:n määrittäminen plasmassa

Genotyyppi	N	Tunnistettujen %-osuus	Tavoitepitoisuus (log ₁₀ IU/ml)	Aptima CMV Quant (log ₁₀ IU/ml)	SD (log ₁₀ IU/ml)	Poikkeama (log ₁₀ IU/ml)	Laskettu TE (log ₁₀ IU/ml)
gB-4	60	96,7	1,48	1,38	0,39	0,09	0,88
	60	98,3	1,54	1,51	0,33	0,03	0,69
	60	95,0	1,60	1,66	0,36	0,06	0,79
	60	98,3	1,65	1,66	0,29	0,01	0,59
	60	100,0	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48
Lääkkeille vastustuskykyinen mutantti (UL54 ja UL97)	60	95,0	1,48	1,57	0,32	0,10	0,74
	60	98,3	1,54	1,58	0,32	0,04	0,68
	60	98,3	1,60	1,72	0,33	0,12	0,79
	60	100,0	1,65	1,74	0,22	0,08	0,51
	60	100,0	1,70	1,83	0,24	0,14	0,61
Lääkkeille vastustuskykyinen mutantti (UL56)	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
	60	96,7	1,54	1,60	0,30	0,06	0,65
	60	100,0	1,60	1,69	0,26	0,08	0,60
	60	100,0	1,65	1,78	0,29	0,12	0,71
	60	100,0	1,70	1,74	0,27	0,05	0,58

SD = keskihajonta

Testisarjan jäsenet, jotka täyttivät tarkkuustavoitteen (TE ≤1) ja ≥95 %:n tunnistuksen reagenssierillä 1, 2 ja 3, on varjostettu.

Taulukko 12: Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien LLoQ:sta plasmassa

Genotyyppi	LLoQ	
	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Lääkkeille vastustuskykyinen mutantti UL54 ja UL97*	38	1,57
Lääkkeille vastustuskykyinen mutantti UL56**	35	1,54

*UL54-geenimutaatiot voivat johtaa useiden viruslääkkeiden ristiresistenssiin CMV-infektion hoidossa, esimerkiksi gansikloviiri (GCV), sidofoviiri (CDV) ja foskarneetti (PFA). Myös UL97-geenimutaatiot johtavat gansikloviirin (GCV) resistenssiin.

**UL56-geenimutaatiot johtavat letermovirin (LET) resistenssiin.

Kvantitoinnin alaraja genotyyppien kesken kokoveressä

WHO-standardia käyttämällä määritetty LLoQ vahvistettiin testaamalla CMV-genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 laimennokset CMV-negatiivisessa ihmisen kokoveressä. Yhdellä reagenssierällä testattiin 60 replikaattia kullakin testisarjan jäsenellä. Taulukko 13 esittää tulokset. Taulukko 14 esittää tulokset genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 LLoQ-arvot TE-vaatimukset täyttävällä reagenssierällä, jolla on korkein pitoisuus ja jonka havaitsemisosuus on ≥ 95 %. Tässä määrittäksessä kokoveren LLoQ-kokonaisarvo on 176 IU/mL.

Taulukko 13: LLoQ:n määrittäminen genotyyppien kesken kokoveressä

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

SD = keskihajonta

Taulukko 14: Yhteenveto LLoQ-arvoista genotyyppien kesken kokoveressä

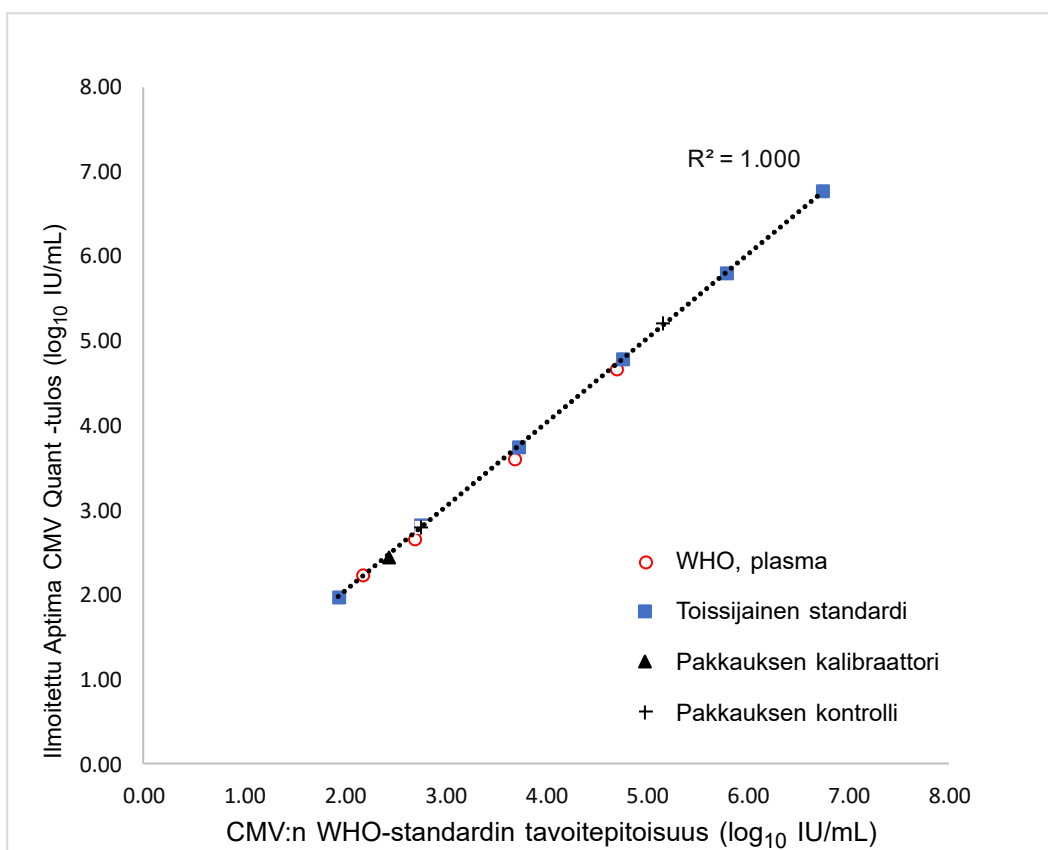
Genotyyppi	LLoQ	
	(IU/mL)	(log IU/mL)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Jäljitettävyys käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia

Sarjaa toissijaisia standardeja, joilla on tunnetut pitoisuudet, käytettiin koko tuotekehityksessä ja tuotteen valmistuksessa, jotta voitiin määrittää jäljitettävyys WHO-standardin mukaan. CMV:n WHO-standardi laimennettiin ja testattiin yhdessä toissijaisten standardien sekä määrittämisen kontrollien ja Aptima CMV Quant Assay -määrittämisen käytettyjen kalibraattorien kanssa, jotta voitiin arvioida CLSI EP32-R:n mukainen jäljitettävyys.¹⁶ Toissijaisten standardien pitoisuus oli 1,80–6,60 log₁₀ IU/mL.

WHO-standardin mukainen jäljitettävyys plasmaa käytettäessä

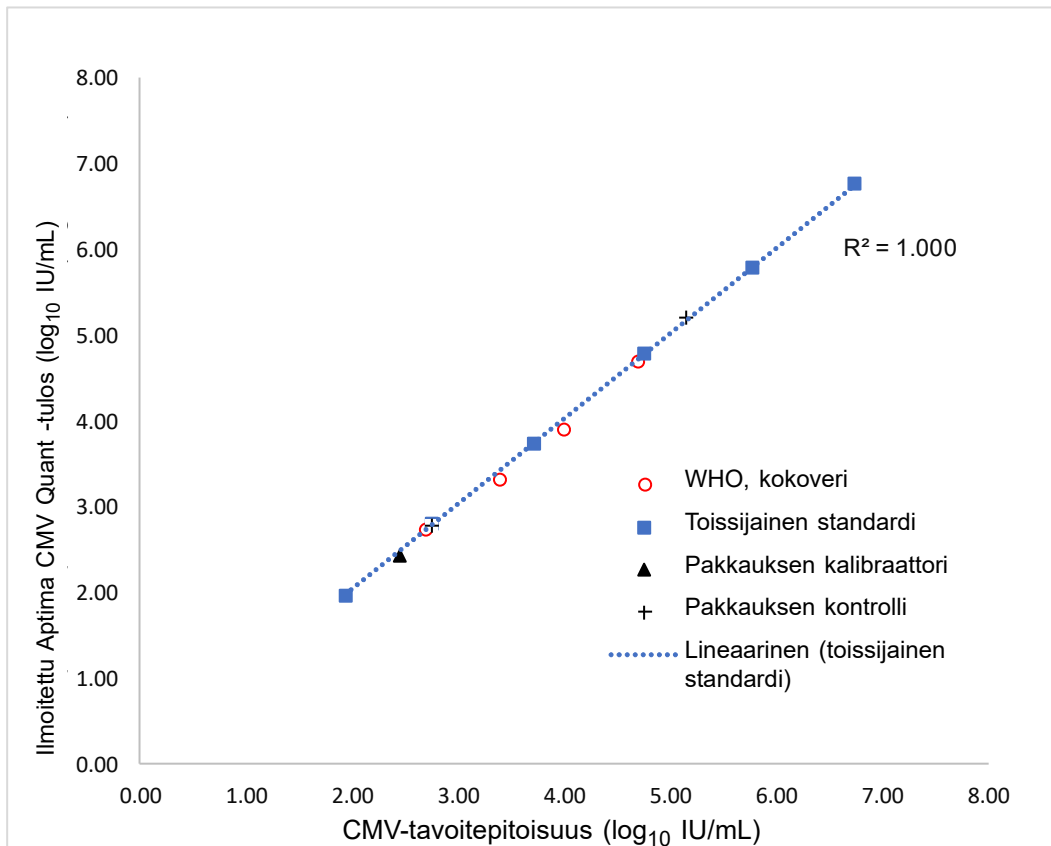
CMV:n WHO-standardin testatut pitoisuudet olivat 2,18–4,70 log₁₀ IU/mL. WHO:n plasmatestisarjat, toissijaiset standardit, määrittämisen kontrollit ja määrittämisen kalibraattorit antoivat odotetut tulokset määrittämisen lineaarisella alueella, kuten Kuva 11 osoittaa.



Kuva 11. CMV:n ensimmäisen WHO-standardin tavoitepitoisuuksien ja ilmoitettujen pitoisuuksien välinen jäljitettävyys Aptima CMV Quant Assay -määrittämässä (plasmaan laimennettu WHO-standardiPlasma)

WHO-standardin mukainen jäljitettävyys kokoverta käytettäessä

CMV:n WHO-standardin testatut pitoisuudet kokoveressä olivat 2,70–4,70 log₁₀ IU/mL. Kokoveritestisarjat WHO:n standardeilla, toissijaisilla standardeilla, määrittämisen kontroleilla ja määrittämisen kalibraattoreilla antoivat odotetut tulokset määrittämisen lineaarisella alueella, kuten Kuva 12 osoittaa.



Kuva 12. CMV:n ensimmäisen WHO-standardin tavoitepitoisuuksien ja ilmoitettujen pitoisuuksien välinen jäljitettävyys Aptima CMV Quant Assay -määrittämissä (kokovereen laimennettu WHO-standardi)

Toistotarkkuus

Plasma

Tarkkuuden määrittämistä varten valmistettiin 6-jäseninen testisarja laimentamalla CMV-positiiviset kliiniset näytteet tai viljelty CMV CMV-negatiiviseen plasmaan. Testisarjan testasi kolme käyttäjää, jotka käyttivät kolmea reagenssierää kolmella Panther System -järjestelmällä vähintään 20 päivän aikana. Jokainen käyttäjä suoritti kaksi erää päivässä, ja jokainen testisarjan jäsen testattiin kahdesti jokaisessa suorituskerässä. Tutkimus suunniteltiin ja analysoitiin CLSI EP-05-A3:n suositusten mukaisesti.¹⁷

Taulukko 15 esittää analyysin tulosten tarkkuuden (yksiköissä log IU/ml) laitteiden, käyttäjien ja reagenssierien välillä, suorituskerien ja päivien sisällä, suorituskerien sisällä ja kokonaisuudessaan. Kokonaisvaihtelu johtui pääasiassa suorituskerän sisäisestä vaihtelusta (eli satunnaisvirheestä).

Taulukko 15: Aptima CMV Quant -määrityksen tarkkuus plasmassa

N	Keskipitoisuus (log IU/mL)	Erien välillä SD	Laitteiden välillä SD	Käyttäjien välillä SD	Päivien välillä SD	Ajojen välillä SD	Ajon sisällä SD	Yhteensä SD
108	2,28	0,02	0,04	0,00	0,00	0,06	0,16	0,18
108	2,82	0,06	0,00	0,00	0,04	0,07	0,11	0,14
108	3,49	0,07	0,00	0,01	0,06	0,06	0,11	0,15
108	4,53	0,04	0,02	0,04	0,00	0,07	0,07	0,11
108	5,57	0,06	0,00	< 0,001	0,04	0,02	0,09	0,12
108	6,67	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,10	0,12

SD = keskihajonta

Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi tapahtua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, keskihajontana näkyy 0.

Kokoveri

Tarkkuuden määrittämistä varten valmistettiin 6-jäseninen testisarja laimentamalla CMV-positiiviset kliiniset näytteet tai lisäämällä viljeltyä CMV:tä CMV-negatiiviseen kokovereen. Testisarjan testasi kolme käyttäjää, jotka käyttivät kolmea reagenssierää kolmella Panther System -järjestelmällä vähintään 20 päivän aikana. Jokainen käyttäjä suoritti kaksi erää päivässä, ja jokainen testisarjan jäsen testattiin kahdesti jokaisessa suorituskerässä.

Taulukko 16 esittää analyysin tulosten tarkkuuden (yksiköissä log IU/ml) laitteiden, käyttäjien, erien, suorituskerien ja päivien välillä, suorituskerien sisällä ja kokonaisuudessaan. Kokonaisvaihtelu johtui pääasiassa suorituskerän sisäisestä vaihtelusta (eli satunnaisvirheestä).

Taulukko 16: Aptima CMV Quant -määrityksen tarkkuus kokoveressä

N	Keskipitoisuus (log IU/mL)	Erien välillä SD	Laitteiden välillä SD	Käyttäjien välillä SD	Päivien välillä SD	Ajojen välillä SD	Ajon sisällä SD	Yhteensä SD
108	2,78	0,00	0,01	0,05	0,00	0,08	0,14	0,17
108	3,38	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,13	0,14
108	3,95	0,06	0,00	0,07	0,05	0,05	0,13	0,18
108	4,76	0,03	0,01	0,08	0,00	0,07	0,12	0,16
108	5,64	0,01	0,00	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13
108	6,74	0,03	0,00	0,05	0,00	0,04	0,09	0,12

SD = keskihajonta

Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi olla numeerisesti negatiivista, mikä voi tapahtua, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Kun näin tapahtuu, keskihajontana näkyy 0.

Mahdollisesti häiritsevät aineet

Aptima CMV Quant Assay -määrityksen herkkyys endogeenisten aineiden, antikoagulanttien ja siirteiden saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin. Kunkin häiritsevän aineen testipitoisuudet valittiin saatavissa olevien kirjallisuusviitteiden ja CLSI EP07:n¹⁸ ja EP37:n¹⁹ määrittelemien ohjeiden mukaan. Testauksessa testattiin CMV-negatiiviset plasmanäytteet ja näytteet, joihin oli lisätty CMV:tä pitoisuudella 2,22 log IU/mL ja pitoisuudella 3,30 log IU/mL. CMV-negatiiviset kokoverinäytteet ja näytteet, joihin oli lisätty CMV:tä pitoisuudella 2,72 ja 4,00 log IU/mL CMV:n DNA:ta, testattiin hemoglobiinin osalta.

Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä plasmanäytteissä albumiinin (60 mg/mL), hemoglobiinin (10 mg/mL), triglyseridien (15 mg/mL), konjugoitumattoman bilirubiinin (0,4 mg/mL) tai ihmisen genomin DNA:n (2 µg/mL) läsnä ollessa. Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä kokoverinäytteissä, kun kokoverinäytteisiin oli lisätty 100 mg/mL hemoglobiinia.

Sellaisten potilaiden, joilla tiettyjen aineiden pitoisuudet olivat koholla, tai sellaisten potilaiden, joilla on kohdassa Taulukko 17 mainittu sairaus, kliiniset plasmanäytteet testattiin Aptima CMV Quant Assay -määrityksellä. Määrityksen toiminnassa ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 17: Testattujen kliinisten näytteiden tyypit

	Kliinisten näytteiden tyypit	Testattujen kliinisten näytteiden määrä
1	Tumavasta-aine (ANA)	10
2	Systeeminen lupus erythematosus (SLE)	10
3	Nivelreuma (RA)	10

Määrityksen suorittamisessa ei havaittu mitään häiriöitä, kun kohdassa Taulukko 18 mainittuja eksogeenisiä aineita oli pitoisuuksilla, jotka olivat vähintään kolme kertaa lääkkeiden C_{max} ihmisen plasmassa.

Taulukko 18: Eksogeeniset aineet

Eksogeeniset aineet yhdistettyinä	Testatut eksogeeniset aineet
1	Kefotetaani, klavulanaattikalium, tiarsilliinidinium, vankomysiini
2	Piperasilliini
3	Sulfametoksatsoli
4	Tatobaktaaninatrium, trimetopriimi, flukonatsoli
5	Gansikloviiri, valgansikloviiri, sidofoviiri, foskarneetti, valasykloviiri, asykloviiri, letermoviiri
6	Atatiopriini, syklosporiini, mykofenolaattimofetiili, mykofenolihappo
7	Sirolimuusi, takrolimuusi, prednisoni, everolimuusi
8	Natriumsitraatti, EDTA, hepariini

Spesifisyys

Spesifisyys määritettiin käyttämällä 780 jäädytettyä CMV-negatiivista kliinistä näytettä. Spesifisyys laskettiin ”Not Detected” (Ei havaittu) -tuloksen antaneiden CMV-negatiivisten näytteiden prosenttiosuutena kullakin näytetyypillä testattujen näytteiden kokonaismäärästä.

CMV:n DNA:ta ei havaittu 389 plasmanäytteestä ja 390 kokoverinäytteestä. Spesifisyys oli 99,7 % (389/390, 95 %:n luottamusväli: 98,6–100 %) plasman osalta ja 100 % (390/390, 95 %:n luottamusväli: 99,3–100 %). Aptima CMV Quant Assay -määrityksen yhdistetty spesifisyys plasman ja kokoveren osalta oli 99,9 % (779/780, 95 %:n luottamusväli: 99,3–100 %).

Taulukko 19: Spesifisyys plasma- ja kokoverinäytteissä

	Plasma	Kokoveri	Plasma ja kokoveri
Kelvolliset replikaatit (n)	390	390	780
Ei havaittu	389	390	779
Spesifisyys	99,7 %	100 %	99,9 %
(95 %:n luottamusväli)	(98,6–100)	(99,3–100)	(99,3–100)

CI = luottamusväli

Analyttinen spesifisyys

Mahdollinen ristireaktiivisuus kohdassa Taulukko 20 mainittujen patogeenien kanssa arvioitiin CMV-negatiivisella ihmisen plasmalla yhdessä CMV:n, jota oli 2,2 log IU/mL ja 3,3 log IU/mL, kanssa tai ilman CMV:tä. Kolme uutta kokoverinäytteistä havaittua loista arvioitiin myös CMV-negatiivisella kokoverellä yhdessä CMV:n, jota oli 2,7 log IU/mL ja 4,0 log IU/mL, kanssa tai ilman CMV:tä. Patogeenit testattiin suurimmalla saatavissa olevalla pitoisuudella.

Ristireaktiivisuutta tai häiriöitä ei havaittu.

Taulukko 20: Analyttisen spesifisyyden suhteen testatut patogeenit

Mikro-organismi/patogeeni	Pitoisuus	Mikro-organismi/patogeeni	Pitoisuus		
Adenovirus, tyyppi 4	1 886	TCID50/mL ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1 000 000	CFU/mL
BK-polyoomavirus	1 000 000	cp/mL ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 000 000	CFU/mL
Epstein-Barr-virus	1 000 000	cp/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL
Hepatiitti B -virus	1 000 000	IU/mL ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/mL
Hepatiitti C -virus	1 000 000	cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/mL
Herpes Simplex -virus, tyyppi 1	1 428 571	TCID50/mL	<i>Salmonella enterica</i> -serovariantti Typhimurium	1 000 000	CFU/mL
Herpes Simplex -virus, tyyppi 2	147 143	TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/mL
HIV-1-aratyyppi B	1 000 000	cp/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/mL
Ihmisen herpesvirus 6A	1 000 000	cp/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 000 000	CFU/mL
Ihmisen herpesvirus 7	1 428 571	TCID50/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL
Ihmisen herpesvirus 8	1 000 000	cp/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 000 000	CFU/mL
Ihmisen metapneumovirus	192 857	TCID50/mL	<i>Aspergillus niger</i>	485 000	CFU/mL
Ihmisen papilloomavirus, tyyppi 18	1 000 000	cp/mL	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/mL
Ihmisen parainfluenssavirus	944	TCID50/mL	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 000 000	CFU/mL
Influenssavirus	3 857	TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	solua/mL
Rhinovirus	7 257	TCID50/mL	<i>Leishmania major</i> *	1 000 000	solua/mL
Varicella Zoster -virus	1 000 000	cp/mL	<i>Babesia microti</i> *	1 000 000	solua/mL
Zikavirus	29 286	TCID50/mL	<i>Plasmodium falciparum</i> *	1 000 000	solua/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	CFU/mL ^d	^a TCID50/mL = kudosviljelmän infektiiviset annosyksiköt millilitrassa		
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	CFU/mL	^b cp/mL = viruksen kopiot millilitrassa		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/mL	^c IU/mL = kansainväliset yksiköt millilitrassa		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	CFU/mL	^d CFU/mL = pesäkkeen muodostavat yksiköt millilitrassa		
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	CFU/mL	*testattu kokoverinäytetyypillä		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	CFU/mL			

Näytteiden välinen kontaminaatio

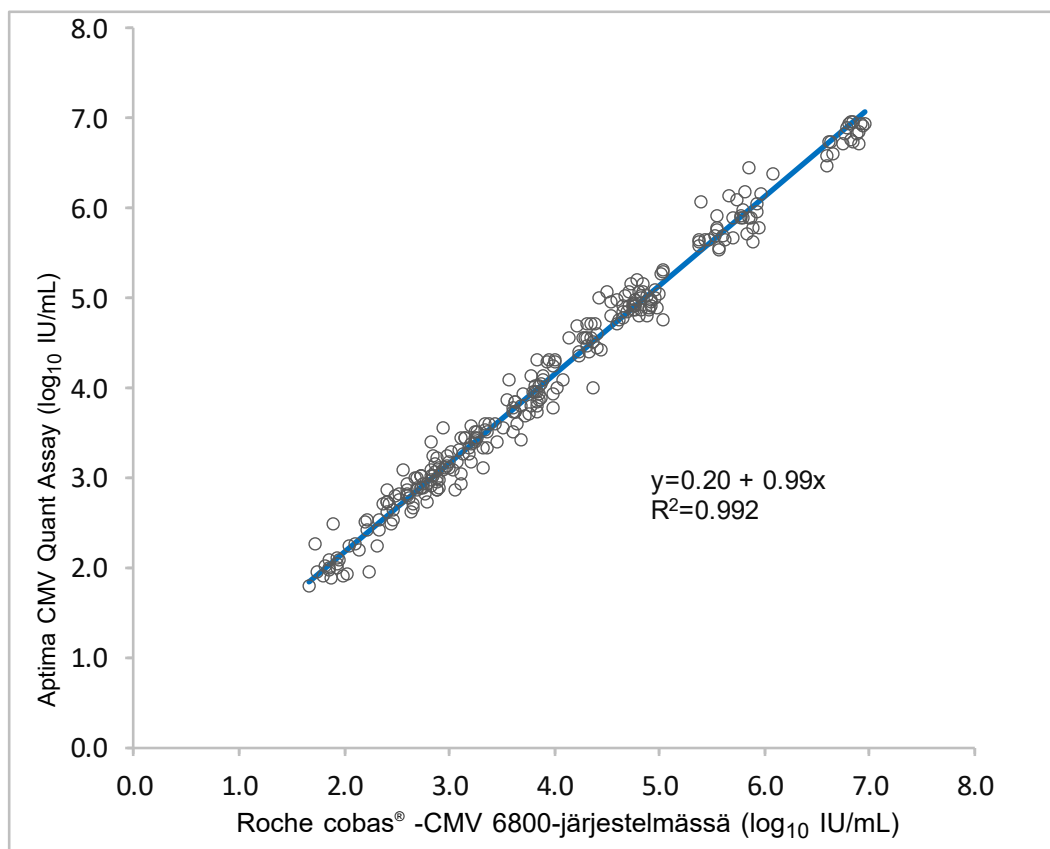
Näytteiden välinen kontaminaatio on arvioitu Panther System -järjestelmässä käyttäen plasmaa näytetyypinä ja testaamalla muilla viruskuormitusmäärityksillä (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay). Näytteiden välistä kontaminaatiota ei havaittu aiemmassa testauksessa. Jotta voitiin määrittää, että Panther System vähentää kontaminaation aiheuttamien epäkelvojen positiivisten tulosten riskiä kokoverinäytetyypissä, suoritettiin tutkimus käyttämällä kolmea CMV-lisäyksen sisältävää testisarjaa kolmessa Panther System -järjestelmässä. Näytteiden välinen kontaminaatio arvioitiin käyttämällä korkean pitoisuuden CMV:n DNA-lisää sisältäviä kokoverinäytteitä (6 log IU/mL), jotka oli siroteltu CMV-negatiivisten näytteiden joukkoon shakkilautakuvion tapaan. Testaus suoritettiin kahdellatoista ajolla. Näytteiden välisen kontaminaation kokonaisosuus oli 0,24 % (1/423).

Menetelmän korrelaatio

Tämä tutkimus suunniteltiin CLSI EP09c:n mukaisesti.¹⁹

Plasmamenetelmän korrelaatio

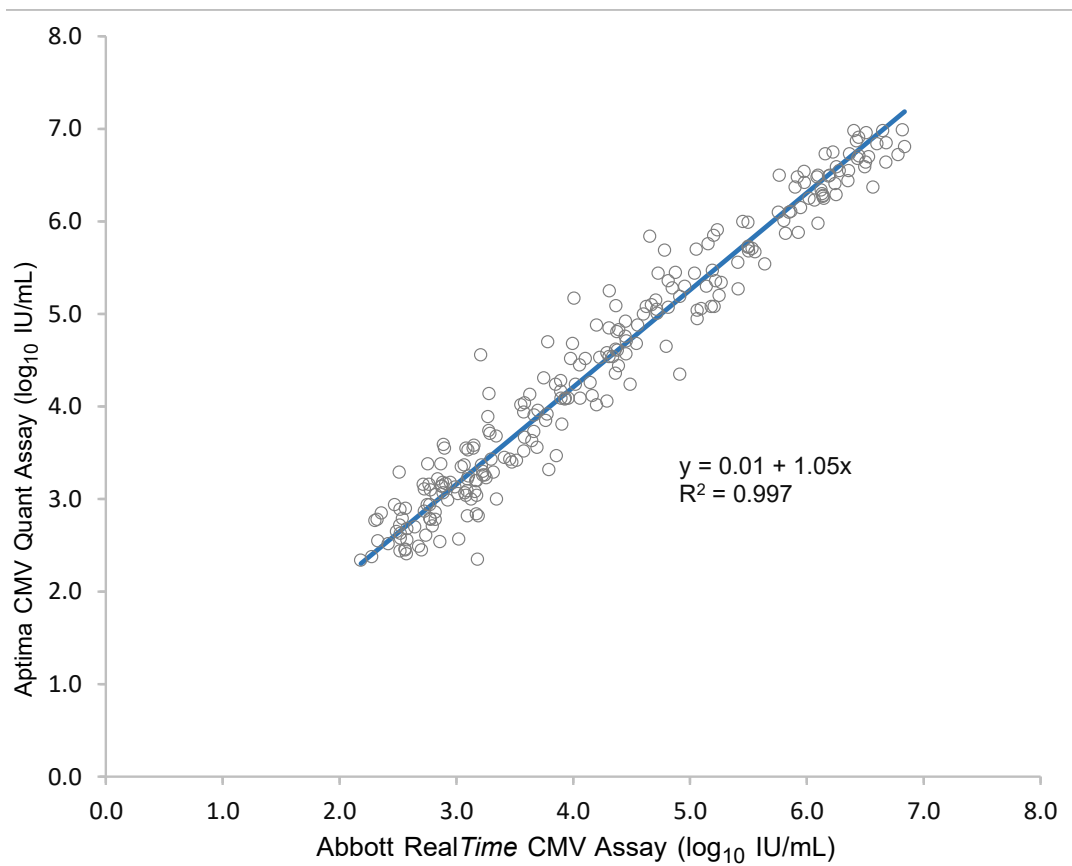
Aptima CMV Quant Assay -määrityksen suorituskyky arvioitiin Roche cobas® -CMV:hen verrattuna cobas® 6800 -järjestelmässä testaamalla CMV-positiivisilta potilailta saatuja laimentamattomia kliinisiä näytteitä ja keinotekoisia näytteitä, jotka oli valmistettu erilaisista viljellyistä viruskannoista, jotka kuuluivat kaikkiin neljään genotyyppiin ja joita oli lisätty yksittäisen luovuttajan negatiiviseen EDTA-plasmaan. Yhteensä 160 kliinistä näytettä ja 115 keinotekoisia näytettä kummallekin määrittelylle yhteisellä lineaarisella alueella käytettiin Deming-regressiossa, jonka Kuva 13 esittää.



Kuva 13. CMV-viruskuormituksen korrelaatio Aptima CMV Quant Assay -määrityksen ja Roche cobas® CMV Assay -määrityksen välillä testattaessa plasmanäytteitä

Kokoverimenetelmän korrelaatio

Aptima CMV Quant Assay -määrityksen suorituskyky arvioitiin Abbott CMV RealTime Assay -määritykseen verrattuna m2000-alustalla testaamalla CMV-positiivisilta potilailta saatuja laimentamattomia kliinisiä näytteitä ja keinotekoisia näytteitä, jotka oli valmistettu viljellystä viruksesta, jota oli lisätty yksittäisen luovuttajan negatiiviseen EDTA-kokovereen. Yhteensä 159 kliinistä näytettä ja 83 keinotekoisia näytettä kummallekin määrittelylle yhteisellä lineaarisella alueella käytettiin Deming-regressiossa, jonka Kuva 14 esittää.



Kuva 14. Aptima CMV Quant -määrityksen CMV-viruskuorman ja Abbott RealTime CMV -määrityksen välinen korrelaatio testattaessa kokovärinäytteitä

Toistettavuus

Toistettavuus plasmanäytteissä

Aptima CMV Quant -määrityksen toistettavuus plasmassa arvioitiin kolmessa ulkoisessa tutkimuspaikassa. Kussakin tutkimuspaikassa testauksen suoritti kaksi käyttäjää. Jokainen käyttäjä suoritti yhden suorituserän päivässä 5 päivän aikana käyttäen yhtä reagenssierää testauksen aikana. Jokaisessa suorituserässä oli kolme replikaattia kustakin paneelin jäsenestä.

Toistettavuus testattiin käyttämällä testisarjan jäseniä, jotka oli valmisteltu laimentamalla CMV-positiiviset kliiniset näytteet tai viljelty CMV-negatiiviseen EDTA-plasmaan. CMV:n DNA-pitoisuudet kattoivat määrityksen lineaarisen alueen.

Taulukko 21 esittää kunkin positiivisen testin jäsenen analyysin tulosten toistettavuuden ja tarkkuuden tutkimuspaikkojen, käyttäjien, päivien ja ajojen välillä, ajojen sisällä ja kokonaisuudessaan. Variaatiokerroin laskettiin käyttämällä seuraavaa kaavaa, jossa σ^2 on datan näytteen varianssi \log_{10} -muunnoksen jälkeen.

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

Taulukko 21: Aptima CMV Quant -määrityksen CMV:n DNA-tasojen toistettavuus Panther System -järjestelmässä plasman positiivisissa testisarjan jäsenissä

N	Havaittu keskimääräinen		osuus kokonaisvariانسista SD (%CV ²)					Kokonaisvariانسsi SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Välillä tutkimuspaikat	Välillä käyttäjät	Välillä päivät	Ajojen välillä	Sisällä suorituserät	
90	198,33	2,26	0,05 (11,19)	0,00 (0)	0,06 (12,94)	0,00 (0)	0,17 (39,59)	0,18 (43,68)
90	603,27	2,76	0,02 (3,99)	< 0,01 (2,22)	0,07 (15,68)	0,04 (10,25)	0,12 (27,04)	0,14 (33,67)
90	2428,54	3,36	0,06 (12,83)	0,00 (0)	0,09 (21,42)	0,06 (12,83)	0,11 (24,69)	0,16 (38,27)
90	27623,02	4,42	0,07 (15,98)	0,00 (0)	0,04 (9,29)	0,06 (13,85)	0,08 (19,38)	0,13 (30,63)
90	284107,74	5,44	0,07 (15,58)	0,00 (0)	0,04 (10,22)	0,00 (0)	0,09 (21,66)	0,12 (28,90)
90	3821364,62	6,57	0,08 (19,12)	0,00 (0)	0,06 (14,22)	0,02 (4,02)	0,08 (17,45)	0,13 (30,25)

%CV = lognormaalinen variaatiokerroin, SD = keskihajonta (log₁₀ IU/ml)

Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi saada negatiivisen numeroarvon. Näin voi käydä, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonnan ja variaatiokertoimen arvoina esitetään 0.

Toistettavuus kokoverinäytteissä

Aptima CMV Quant -määrityksen toistettavuus kokoveressä arvioitiin kolmessa ulkoisessa tutkimuspaikassa. Kussakin tutkimuspaikassa testauksen suoritti kaksi käyttäjää. Jokainen käyttäjä suoritti yhden suorituserän päivässä 5 päivän aikana käyttäen yhtä reagenssierää testauksen aikana. Jokaisessa suorituserässä oli kolme replikaattia kustakin paneelin jäsenestä.

Toistettavuus testattiin käyttämällä testisarjan jäseniä, jotka oli valmisteltu laimentamalla CMV-positiiviset kliiniset näytteet tai viljelty CMV CMV-negatiiviseen EDTA-kokovereen. CMV:n DNA-pitoisuudet kattoivat määrityksen lineaarisen alueen.

Taulukko 22 esittää kunkin positiivisen testin jäsenen analyysin tulosten toistettavuuden ja tarkkuuden tutkimuspaikkojen, käyttäjien, päivien ja ajojen välillä, ajojen sisällä ja kokonaisuudessaan lukuun ottamatta yhtä poikkeamaa (0,2 %, 1/533). Variaatiokerroin laskettiin käyttämällä seuraavaa kaavaa, jossa σ^2 on datan näytteen varianssi \log_{10} -muunnoksen jälkeen.

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

Kaikkien testisarjan CMV-positiivisten ja CMV-negatiivisten jäsenten yhdenmukaisuusarvot olivat 100 %.

Taulukko 22: Aptima CMV Quant -määrityksen CMV:n DNA-tasojen toistettavuus Panther System -järjestelmässä kokoveren positiivisissa testisarjan jäsenissä

N	Havaittu keskimääräinen		osuus kokonaisvariانسista					Kokonaisvariانسsi SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Välillä tutkimuspaikat	Välillä käyttäjät	Välillä päivät	Ajojen välillä	Sisällä suorituserät	
89	604,32	2,73	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,11 (25,39)	0,18 (43,23)	0,21 (51,32)
89	2188,59	3,32	< 0,01 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,07 (15,25)	0,11 (25,34)	0,13 (29,83) ^a
89	7830,84	3,87	0,04 (8,75)	0,04 (8,16)	0,00 (0)	0,08 (17,71)	0,13 (30,28)	0,16 (37,70)
88	48897,12	4,66	0,03 (7,11)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,10 (22,47)	0,11 (24,99)	0,15 (34,89)
88	375626,91	5,56	0,04 (9,59)	0,04 (9,96)	0,00 (0)	0,05 (12,04)	0,09 (21,18)	0,12 (28,34)
89	4609046,44	6,64	0,08 (18,15)	0,00 (0)	0,05 (11,42)	0,03 (6,32)	0,10 (22,74)	0,14 (32,39)

%CV = lognormaalinen variaatiokerroin, SD = keskihajonta (log₁₀ IU/ml)

Huomautus: Joidenkin tekijöiden aiheuttama vaihtelu voi saada negatiivisen numeroarvon. Näin voi käydä, jos näiden tekijöiden aiheuttama vaihtelu on erittäin pientä. Näissä tapauksissa keskihajonnan ja variaatiokerroimen arvoina esitetään 0.

^aKokonaisvariانسsitulos ilman poikkeavaa havaintoa, joka saattaa olla seurausta näytteen valmisteluongelmasta.

Lähdeluettelo

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

Yhteystiedot

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



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

Saat maakohtaisen teknisen tuen ja asiakaspalvelun sähköpostiosoitteen ja puhelinnumeron sivustosta www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima ja Panther ovat Hologic, Inc. -yhtiön ja/tai sen tytäryhtiöiden tavaramerkkejä ja/tai rekisteröityjä tavaramerkkejä Yhdysvalloissa ja/tai muissa maissa.

Kaikki muut tässä pakkausselosteessa olevat tavaramerkit ovat omistajiensa omaisuutta.

Yksi tai useampi sivustossa www.hologic.com/patents mainituista US-patenteista voi kattaa tämän tuotteen.

© 2022 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-25509-1701, versio 002

2022-01