

Aptima® CMV Quant Assay

Käyttöohjeet

Tarkoitettu *in vitro* -diagnostiikkakäyttöön
Vain Yhdysvalloista vientiin

Yleisiä tietoja	2
Käyttötarkoitus	2
Testin yhteenveto ja kuvaus	2
Menetelmän toimintaperiaate	2
Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä	3
Varoitukset ja varotoimet	3
Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset	8
Näytteiden kerääminen ja säilyttäminen	9
Panther System -järjestelmässä säilytettävät näytteet	12
Näytteen siirto	12
Panther System -järjestelmä	13
Toimitetut reagenssit ja materiaalit	13
Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen	15
Valinnaiset materiaalit	16
Panther System -järjestelmän testausmenetelmä	16
Menetelmää koskevia huomautuksia	23
Laadunvalvonta	24
Määrittämisen kalibrointi	24
Negatiiviset ja positiiviset kontrollit	24
Sisäinen kalibraattori / sisäinen kontrolli	24
Tulosten tulkinta	25
Rajoitukset	27
Analyttinen suorituskyky	28
Havaitsemisraja käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia	28
CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja	29
Lineaarinen alue	31
Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken	33
Kvantifioinnin alaraja käytettäessä WHO:n 1. kansainvälistä standardia	35
CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien kvantitoinnin alarajan määrittäminen	37
Toistotarkkuus	42
Mahdollisesti häiritsevät aineet	43
Spesifisyys	44
Analyttinen spesifisyys	45
Plasmanäytteen laimentaminen negatiivisella Aptima CMV -kontrollilla (1:3)	46
LoD:n ja LLoQ:n vahvistus käyttämällä CMV:n 1. WHO:n kansainvälisiä standardeja laimennettuna negatiivisessa Aptima CMV -kontrollissa	47
Näytteiden välinen kontaminaatio	47
Menetelmän korrelaatio	48
Toistettavuus	50
Kliininen suorituskyky	52
Kliininen yhdenmukaisuus	52
Menetelmien vertailu	58
Parien keskimääräinen ero	63
Harha valituilla viruskuormatasoilla	64
Sallittu kokonaisero (ATD)	65
Lähdeluettelo	70
Yhteystiedot ja versiohistoria	71

Yleisiä tietoja

Käyttötarkoitus

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

Aptima CMV Quant -määritys on tarkoitettu auttamaan elinsiirtopotilaiden ja hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaiden diagnosoissa ja hoidossa.

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

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 nukleiinihappojen monistukseen perustuva testaus on ensisijainen CMV-infektion ja -sairauden tarkkailumenetelmällä siirteen saaneilla potilailla, koska se on sekä nopea että herkkä testi.⁴ Viimeaikaiset ohjeet suosittavat CMV-viruskuormituksen tarkastamista vähintään viikoittain, jotta osataan tehdä CMV:tä estävää hoitoa koskevat päätökset ja voidaan tarkkailla hoitovastetta.^{5,6,7,8} Yleensä suurempiin viruskuormituksen arvoihin liittyy kasvanut CMV-sairauden riski.^{4,9} Näin ollen CMV:n DNA:n kvantitatiivinen määrittäminen 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 nukleiinihappojen 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 määrittämisen. Määritys on standardoitu WHO:n ensimmäisen kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi: 09/162) mukaisesti ihmisen sytomegaloviruksen määrittämistä varten.²¹

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

*Mukaan lukien Panther System -järjestelmän muunnelmat.

Kohteen eristyksen aikana virus-DNA eristetään näytteistä. Näytettä käsitellään puhdistusaineella, jotta viruksen kuori liukenee, proteiinit denaturoituvat ja viruksen genomien 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 reaktiopotkusta.

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 kynnyksarvon 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-viruskuormatuloksiin, kun Panther-järjestelmässä on valittu kokoveren muuntokerroin.

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP) on saatavissa eurooppalaisesta lääkinnällisten laitteiden tietokannasta (Eudamed), jossa se on yhdistetty laitetunnisteisiin (UDI-DI-perustunniste). Voit etsiä SSP:n Aptima CMV Quant -määritykselle yksilöllisen peruslaitetunnisteen (Basic Unique Device Identifier, BUDI) perusteella: **54200455DIAGAPTCMVAP**.

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 plasmata. 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 nukleinihappotesteillä 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 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. Jos tulos on epäkelpo ML2-virheen takia, älä testaa sekoittamatonta plasmanäytettä uudelleen. Katso plasmanäytteen laimennusohjeet tämän pakkausselosteen kohdan *Panther System -järjestelmän testausmenetelmä* vaiheesta E.5.
- Huomautus:** Jos kyseessä on ML2-virhe, katso magneettipesulaitteen puhdistusohjeet asianmukaisesta Panther-/Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta.
- P. Älä käytä reagenssitarvikesarjaa, kalibraattoria tai kontrolleja niiden viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Q. Älä vaihda, sekoita tai yhdistä määritysreagensseja tarvikesarjoista, joiden pääeränumerot eivät ole samoja. Määrittämisen nesteillä voi olla eri eränumerot. Kontrolleilla ja kalibraattorilla voi olla eri eränumerot.
- R. Vältä mikrobien ja nukleaasien aiheuttamaa reagenssien kontaminaatiota.
- S. Sulje kaikki määritysreagenssit korkeilla ja säilytä niitä määrittämissä lämpötiloissa. Väärin säilytettyjen määritysreagenssien käyttö voi vaikuttaa määrittämisen suorittamiseen. Jos haluat lisätietoja, katso *Reagenssien säilytys- ja käsittelyvaatimukset* ja *Panther System -järjestelmän testausmenetelmä*.
- T. Älä yhdistä mitään määritysreagensseja tai nesteitä ilman erillistä ohjetta. Älä täytä vajaita reagenssi- tai nestepulloja. Panther System -järjestelmää varmistaa reagenssien määrät.
- U. Varo kohteen vahvennereagenssin (Target Enhancer Reagent, TER) joutumista iholle, silmiin ja limakalvoille. Pese vedellä alue, jolle tätä reagenssia on joutunut. Jos reagenssia läikkyy, laimenna vedellä ja noudata asianmukaisia tutkimuspaikan menettelyohjeita.
- V. Jotkin tämän tarvikesarjan reagenssit on merkitty vaara- ja turvallisuussymbolein.

Huomautus: Vaarailmoitustiedot vastaavat EU:n käyttöturvallisuustiedotteiden (SDS) luokituksia. Katso omaa aluettasi koskevia vaarailmoitustietoja käyttöturvallisuustiedotekirjaston aluekohtaisesta tiedotteesta osoitteessa www.hologicsds.com. Lisätietoja merkinnöistä on merkkien selitteessä osoitteessa <http://www.hologic.com/package-inserts>

EU:n vaaratiedot	
Amplification Reagent Magnesiumkloridi 65–70 %	
–	–
	H412 – Haitallista vesieläimille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.
	P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön.
	P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.

<p>–</p> <p>–</p>	<p>Enzyme Reagent <i>Triton X-100 1–5 %</i> <i>HEPES 1–5 %</i></p> <p>H402 – Haitallista vesieliöille. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.</p>
<p>–</p> <p>–</p>	<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glyseroli 20–25 %</i> <i>Triton X-100 5–10 %</i> <i>HEPES 1–5 %</i></p> <p>H402 – Haitallista vesieliöille. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.</p>
<p>–</p> <p>–</p>	<p>Promoter Reagent <i>Magnesiumkloridi 55–60 %</i></p> <p>H412 – Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.</p>
<p>–</p> <p>–</p>	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15–20 %</i> <i>Lauryylisulfaatin litiumsuola 5–10 %</i> <i>Meripihkahappo 1–5 %</i> <i>Litiumhydroksidimonohydraatti 1–5 %</i></p> <p>H402 – Haitallista vesieliöille. P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.</p>
<p></p> <p></p>	<p>Target Enhancer Reagent (TER) <i>Litiumhydroksidimonohydraatti 5–10 %</i></p> <p>VAARA H302 – Haitallista nieltynä H314 – Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa P264 – Pese kasvot, kädet ja altistunut iho huolellisesti käsittelyn jälkeen. P270 – Syöminen, juominen ja tupakointi kielletty kemikaalia käytettäessä. P301 + P312 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Ota yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin, jos ilmenee pahoinvointia. P330 – Huuho suu. P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa. P260 – Älä hengitä pölyä/savua/kaasua/sumua/höyryä/suihketta. P280 – Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvonsuojainta. P301+P330+P331 – JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Huuho suu. Ei saa oksennuttaa. P303 + P361 + P353 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuho/suihkuta iho vedellä. P304 + P340 – JOS KEMIKAALIA ON HENGITETTY: Siirrä henkilö raittiiseen ilmaan ja varmista vaivaton hengitys. P305 + P351 + P338 – JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuho huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, jos sen voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. P310 – Ota välittömästi yhteys MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkäriin. P321 – Erityishoitoa tarvitaan (katso ensiapuohjeet pakkauksen merkinnöissä). P363 – Pese saastunut vaatetus ennen uudelleenkäyttöä. P405 – Varastoi lukitussa tilassa.</p>

**CMV-pakkauksen kontrollit***Ihmisen seerumi /ihmisen plasma 95–100 %**Natriumatsidi < 1 %*

–

H412 – Haitallista vesielioille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia

P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa

P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön

Kit Calibrator*Lauryylisulfaatin litiumsuola 0–10 %**Meripihkahappo 0–10 %*

–

H402 – Haitallista vesielioille

–

P273 – Vältettävä päästämistä ympäristöön

P501 – Hävitä sisältö/pakkaus hyväksytyssä jätteidenkäsittelylaitoksessa.

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-promoottireagenssi)	2 °C...8 °C		
qCMV Promoter Reconstitution Solution (qCMV-promoottin 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 promoottireagenssi ja sekoitettu promoottireagenssi 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.

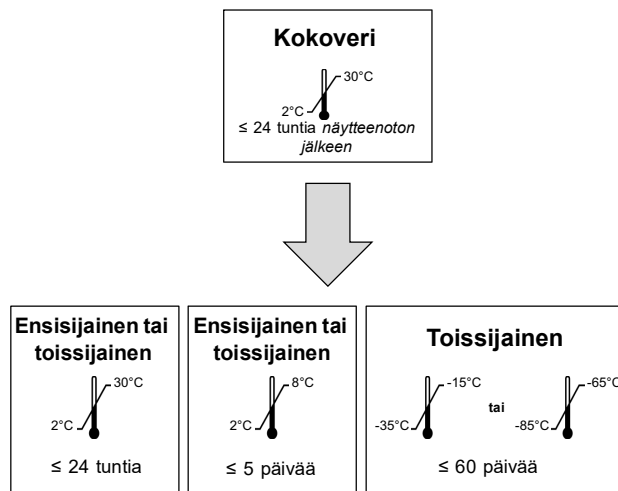
2. Kokoveri pitää käsitellä käyttäen ennalta täytettyjä kokoveren laimennusputkia ennen kuin se testataan Panther System -järjestelmässä. Älä tee useampaa kuin kolmea jäädytys-sulatuskäsittelyä käsittelemättömille kokoverinäytteille.

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.

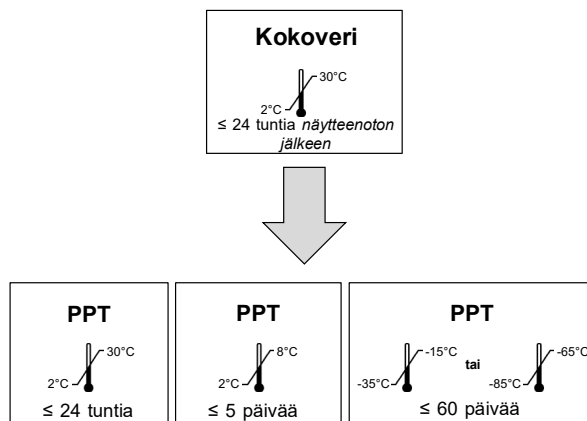


Kuva 1. EDTA-putkien säilytysolosuhteet

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. Plasmanäytteiden laimentaminen

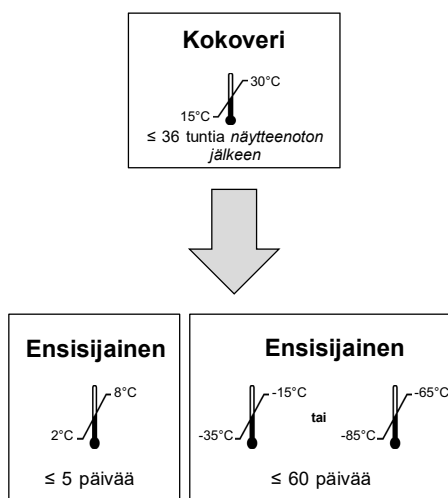
Plasmanäytteet voidaan laimentaa SAT:hen tai toissijaiseen putkeen Panther-järjestelmässä testausta varten. Katso lisätietoja kohdan *Panther-järjestelmän testausmenetelmä* vaiheesta E.5 jäljempää.

Huomautus: Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen. Älä pakasta laimennettua näytettä.

4. 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 tarkoitettut 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 määrityslaatikko, 1 kohteen vahvennereagenssilaatikko, 1 kalibraattoripakkaus ja 1 kontrollipakkaus)

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-infektiivat 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-promootterireagenssi) <i>Ei-infektiivat 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-infektiivia nukleiinihappoja ja sisäistä kalibraattoria.</i>	1 x 72,0 mL
	Sekoituskaulukset	3
	Pääerän viivakoodiarkki	1 arkki

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

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	—

Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen

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

Materiaali	Tuotenumero
Panther®-järjestelmä	303095
Panther Fusion® -järjestelmä	PRD-04172
Panther-järjestelmä, jatkuva neste ja jäte (Panther Plus)	PRD-06067
Panther Run Kit for Real Time Assays (Panther-ajosarja reaaliaikaista määrittämiä varten – vain reaaliaikaisia määrittämiä varten)	PRD-03455 (5 000 testiä)
<i>Aptima®-määrittämisen nestepakkaus (tunnetaan myös nimellä Universal Fluids Kit, yleisnestesarja) sisältää Aptima-pesuliuoksen, Aptima-deaktivoitineen puskurin ja Aptima-öljyreagenssin</i>	303014 (1 000 testiä)
<i>Moniputkikieliköt (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 moniputkikieliköitä, jätepusseja, jäteastian kansiä ja määrittämisnesteitä</i>	303096 (5 000 testiä)
Kokoveren laimennusaineen putket (vain kokoverinäytteiden käsittelyyn)	PRD-06783 (100 esitäytettyä putkea yhdessä pussissa)
Kärjet, 1000 µL, suodattavia, johtavia, nesteen tunnistavia ja kertakäyttöisiä <i>Kaikkia tuotteita ei ole saatavilla kaikilla alueilla. Pyydä oman alueesi tiedot paikalliselta edustajalta.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Valkaisuaine, 5 % – 8.25 % (0,7–1,16 M) natriumhypokloriittiliuos	—
Kertakäyttöiset, jauheettomat käsin	—
Vaihdettavat korkit, joita ei voi läpäistä	103036A
Hologicin umpinaiset vaihtokorkit (kertakäyttöinen putken korkki kokoveren käsittelyyn)	PRD-06720
Reagenssin vaihtokorkit <i>Monistus-, entsyymi-, promootterireagenssin 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	—

Materiaali	Tuotenro
Ensisijaiset näytteenottoputket (EDTA ja PTT), vaihtoehdot: 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	—
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) -näytealikoittiputket (100 kpl)</i>	FAB-18184
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-03478
Siirtopipetit	—
Vanukärkiset puikot	—
Putkiravistelijä	—

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 työpöytäpeitteillä.
- 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 putkiravistelijaan, jossa ne sekoitetaan kunnolla. Varmista, että putken sisältö sulaa kokonaan ennen käyttöä.

Huomautus: Vältä liian voimakasta vaahdonkehitystä kääntäessäsi kalibraattoria ja kontrolleja. Vahto estää Panther System -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. Reagenssin sekoitus / uuden pakkauksen valmistelu

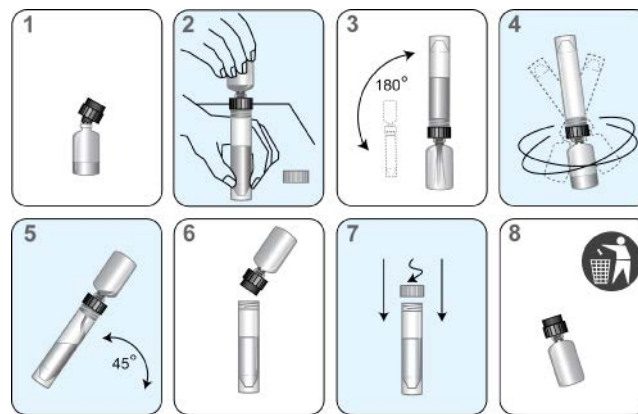
Huomautus: reagenssien sekoitus on tehtävä ennen minkään töiden aloittamista Panther System -järjestelmällä.

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 täsmäivät tarran värit. Tarkista pääerän viivakoodiarkin eränumerot ja varmista, että käytät yhdessä asianmukaisia reagensseja.
 - i. Avaa kylmäkuivatettu reagenssipullo poistamalla metallitiiviste ja kumitulppa.
 - ii. Aseta sekoituskauluksen (musta) urallinen pää injektiopullon päälle (Kuva 4, vaihe 1).
 - iii. Avaa täsmävä sekoitusliuospullo ja aseta korkki puhtaalle, peitetulle työskentelypinnalle.
 - 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, jota kylmäkuivatettu 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 4, vaihe 8).

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



Kuva 4. Reagenssien sekoitusprosessi

3. 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.
- Vaihtoehdo:** 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.
5. 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.

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 °C:seen...30 °C:seen ennen käsittelyä. Katso kohdasta *Panther System -järjestelmässä säilytettävät näytteet* lisätietoja järjestelmässä säilytyksestä.
4. Varmista, että kussakin ensisijaisessa keräysputkessa on enintään 1 200 µL näytettä tai kussakin toissijaisessa putkessa vähintään 700 µL näytettä. Kohdan *Näytteenotto* taulukossa on eritelty kunkin ensisijaisen ja toissijaisen putkityypin kuolleen tilavuuden vaatimukset. Jos plasmanäyte täytyy laimentaa, mikäli näytetilavuus on pieni ja/tai jos tarvitaan toistotestausta, katso lisätietoja alta vaiheesta E.5.

5. Plasmanäytteiden laimentaminen

Plasmanäyte voidaan laimentaa 1:3 SAT:hen tai toissijaiseen putkeen Panther-järjestelmässä testausta varten.

a. Sulata Aptima CMV:n negatiivinen kontrolli

- i. Poista yksi negatiivisen kontrollin putki säilytyksestä (–15 °C...–35 °C) ja tuo se 15–30 °C:n lämpötilaan. Kääntelee putkea koko sulamisprosessin ajan, jotta se sekoittuu kunnolla. Varmista ennen käyttöä, että putken sisältö on sulanut kokonaan.

Vaihtoehto: Kontrolliputki voidaan asettaa putkiravistelijaan, jossa se sekoitetaan kunnolla. Varmista ennen käyttöä, että putken sisältö on sulanut kokonaan.

- ii. Kun putken sisältö on sulanut, kuivaa putken ulkopinta puhtaalla ja kuivalla kertakäyttöisellä pyyhkeellä.
- iii. Älä avaa putkea tässä vaiheessa, jottei se kontaminoidu.

b. Plasmanäytteiden laimentaminen

Huomautus: Jos näyte laimennetaan, se on testattava heti laimentamisen jälkeen.

- i. Laita 240 µL näytettä SAT:hen.
- ii. Lisää 480 µL negatiivista kontrollia.
- iii. Sulje putki korkilla.
- iv. Kääntelee putkea kevyesti viisi kertaa, jotta se sekoittuu.

Suhteessa 1:3 laimennetut näytteet voidaan testata käyttämällä Panther-järjestelmän 1:3-asetusta (katso tarkempia tietoja *Panther- / Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta*). Ohjelmisto ilmoittaa automaattisesti laimentamattoman tuloksen käyttämällä laimennuskerrointa. Nämä näytteet merkitään laimennetuiksi näytteiksi.

6. 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

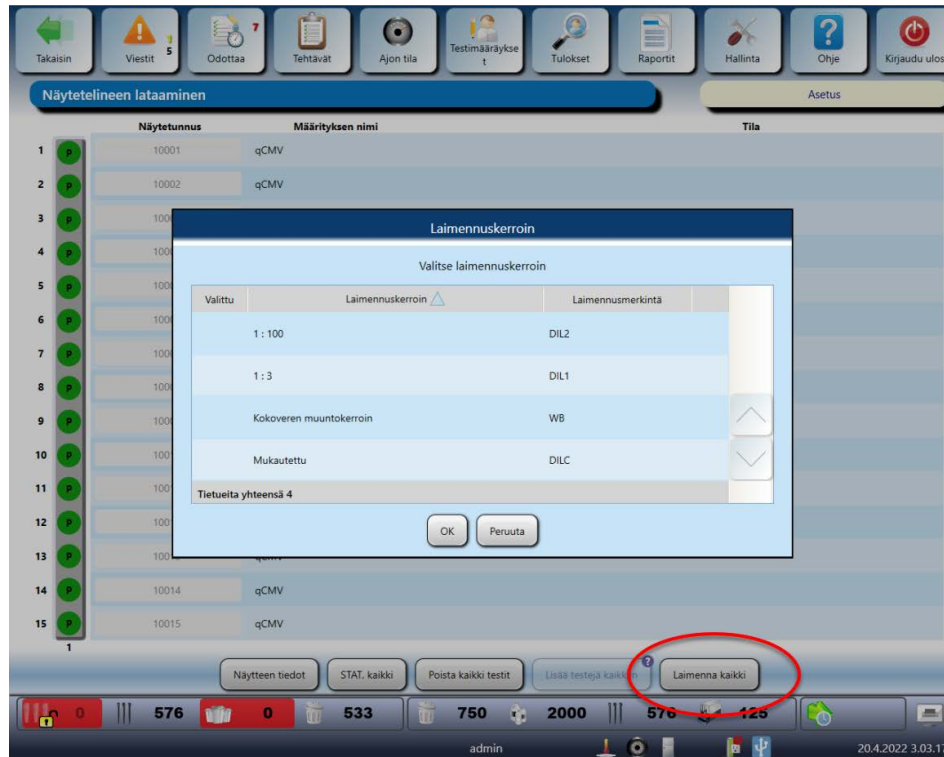
1. Valmistele järjestelmä *Panther / Panther Fusion System -järjestelmän käyttöoppaan ja Menetelmää koskevia huomautuksia* -kohdan ohjeiden mukaisesti. Varmista, että käytetyt reagenssitelineet ja TCR-sovittimet ovat sopivankokoisia.
2. Lisää näytteet näytetelineeseen. Suorita seuraavat vaiheet jokaiselle 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 näytepidike ennen näytetelineen asettamista näyteosastoon.*
 - g. Toista vaiheet 2.a–2.f seuraavalle näytetelineelle.

H. Järjestelmän valmistelu – kokoverinäytteen muuntokertoimen käyttö

1. Valmistele järjestelmä *Panther/Panther Fusion System -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.

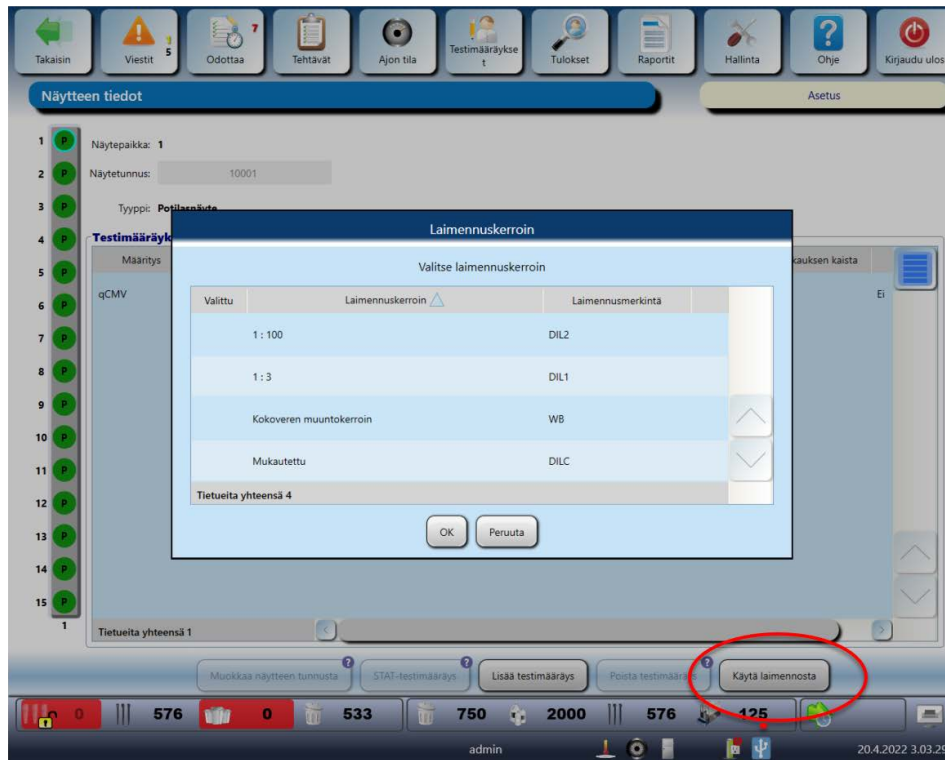


Kuva 5. Dilution Factor (Laimennuskerroin) -ikkuna Sample Rack Loading (Näytetelineen lataus) -näytössä (Esimerkki)

- 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 yhteen testimääräykseen (katso alla oleva kuva):

- a. Kaksoisnapsauta *Sample Rack Bay* (Näytetelineosasto) -näytössä ladattua telinettä, 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) -paneelistä.

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

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

- 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 määrittymestestimääräyksiltä:

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 määrittämisen 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.

Jos tulos on epäkelpo ML2-virheen takia, älä testaa sekoittamatonta plasmanäytettä uudelleen. Katso näytteen laimennusohjeet tämän pakkausselosteen kohdan *Panther System -järjestelmän testausmenetelmä* vaiheesta E.5.

Huomautus: Jos kyseessä on ML2-virhe, katso magneettipesulaitteen puhdistusohjeet asianmukaisesta Panther-/Panther Fusion -järjestelmän käyttöoppaasta.

Määrittämisen kalibrointi

Määrittäminen on kalibrointia, jotta voidaan saada kelvollisia tuloksia. Yksi positiivinen kalibraattori ajetaan kolmesti joka kerta, kun reagenssisarja 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 reagenssisarjan 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

Määrittämisen kontrollisarja on testattava kelvollisten tulosten saamiseksi. Negatiivisen kontrollin, alarajan positiivisen kontrollin ja ylärajan positiivisen kontrollin yksi ajo on testattava joka kerta, kun reagenssisarja 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 epäkelpo 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 epäkelpo, näytteen tulos hylätään. Jokainen epäkelpo 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-järjestelmä määrittää automaattisesti CMV-DNA-pitoisuuden näytteistä ja kontroleista vertaamalla tuloksia kalibrointikäyrään. CMV:n DNA-pitoisuudet ilmoitetaan yksiköissä IU/mL ja log₁₀ IU/mL. Tulosten tulkinta esitetään kohdissa Taulukko 1 ja Taulukko 2. Jos kokoveren tai plasman laimennosvaihtoehtoa käytetään Panther-järjestelmässä, ohjelmisto laskee automaattisesti CMV:n DNA:n pitoisuuden sekoittamattomalle näytteelle kertomalla pitoisuustulokset laimennuskertoimella, ja näytetulokset merkitään vastaavasti.

Huomautus: Laimennettujen plasmanäytteiden tapauksessa ”Ei havaittu”- tai ”< 53 havaittu” -ilmoitus voi aiheutua laimennettaessa näyte, jonka pitoisuus on suurempi kuin LoD (havaitsemisraja)- tai LLoQ (kvantitoinnin alaraja) -raja-arvo mutta silti lähellä sitä. On suositeltavaa ottaa ja testata toinen sekoittamaton näyte, jos kvantitatiivista tulosta ei saada.

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.

Taulukko 2: Kokoveren tuloksen tulkinta

> 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 kirjasinlajilla.

Huomautus: Laimennettujen plasmanäytteiden osalta Panther-järjestelmä ilmoittaa tuloksia, jotka ovat suurempia kuin ULoQ (kvantitoinnin yläraja), käyttämällä kymmenpotenssimuotoa, jos laimennetun näytteen tulos on määrittämisalueelle ennen laimennuskertoimen käyttämistä.

Taulukko 3 esittää hyväksymisperusteet kullekin Aptima CMV Quant -määrityksen kontrolleista.

Huomautus: Alla oleva talteensaantialue siirtyy kunkin tietyn erän määritetyn arvon perusteella. Katso kunkin kontrollilaatikon Kontrolliviivakoodiarkki-selosteessa mainittu määritetty pitoisuus.

Taulukko 3: Aptima CMV Quant -määrityksen hyväksymisperusteet

Komponentti	Kelvollisten ajojen talteensaantialue
Negatiivinen kontrolli	–
Alarajan positiivinen kontrolli	+/- 0,6 log ₁₀ kopiota/mL
Ylärajan positiivinen kontrolli	+/- 0,5 log ₁₀ kopiota/mL

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.

Analyyttinen 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 1. WHO:n kansainvälisten standardien mukaan plasmassa

Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) määritettiin testaamalla 1. WHO:n kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 09/162)²¹ testisarjoja CMV-negatiivisella ihmisen plasmalla laimennetulla CMV:llä. 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 40,7 IU/mL plasman osalta.

Taulukko 4: 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 1. WHO:n kansainvälisiä standardeja kokoveressä

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 5 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 5: Havaitsemisraja kokoveren osalta käytettäessä WHO:n 1. 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 rinnakkaisnäytteellä 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 CMV:n lääkkeille vastustuskykyisten mutaatioiden kanssa arvioitiin vain plasmanäytteistä.

Taulukko 6: CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja plasmassa

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

Taulukko 6: CMV-genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien havaitsemisraja plasmassa (jatkuu)

Genotyyppit/mutantit	Pitoisuus (IU/ml)
<p>*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.</p> <p>**UL56-geenimutaatiot johtavat letermovirin (LET) resistenssiin.</p>	

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

Havaitsemisraja CMV-genotyyppien kesken kokoveressä

LoD vahvistettiin kolmelle eri B-glykoproteenigenotyypille (gB-2, gB-3 ja gB-4) testaamalla erilaisia CMV-pitoisuuksia kokoveren määritetyn LoD:n ympärillä CMV:n 1. WHO:n kansainvälistä standardia käyttämällä (genotyyppi gB-1). Testaus suoritettiin 30 rinnakkaisnäytteellä testisarjaa ja reagenssierää kohden käyttämällä kahta Aptima CMV Quant -reagenssierää. Korkein vahvistettu LoD jokaiselle kolmelle genotyypille oli 150 IU/mL kumpaakin reagenssierää käytettäessä.

Taulukko 7: Havaitsemisraja CMV-genotyyppien kesken kokoveressä

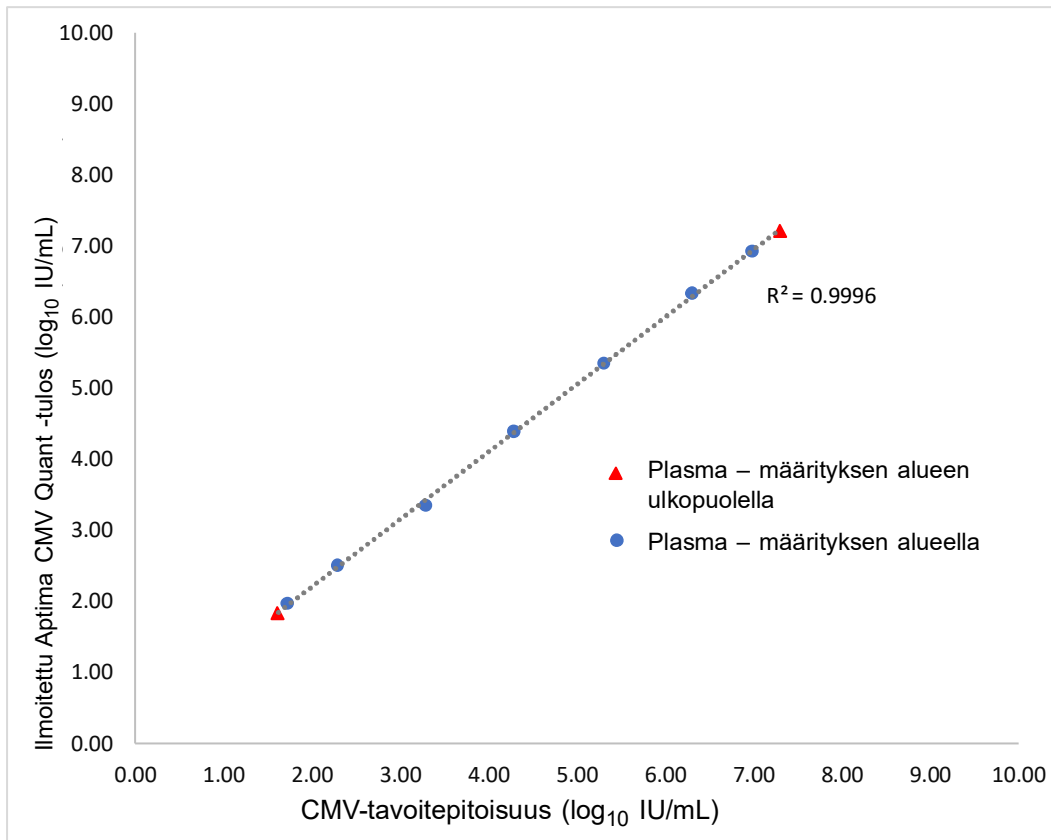
Genotyyppi	Pitoisuus (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

LoD-kokonaisarvo kokoveressä on 150 IU/mL.

Lineaarinen alue

Lineaarinen alue plasmassa

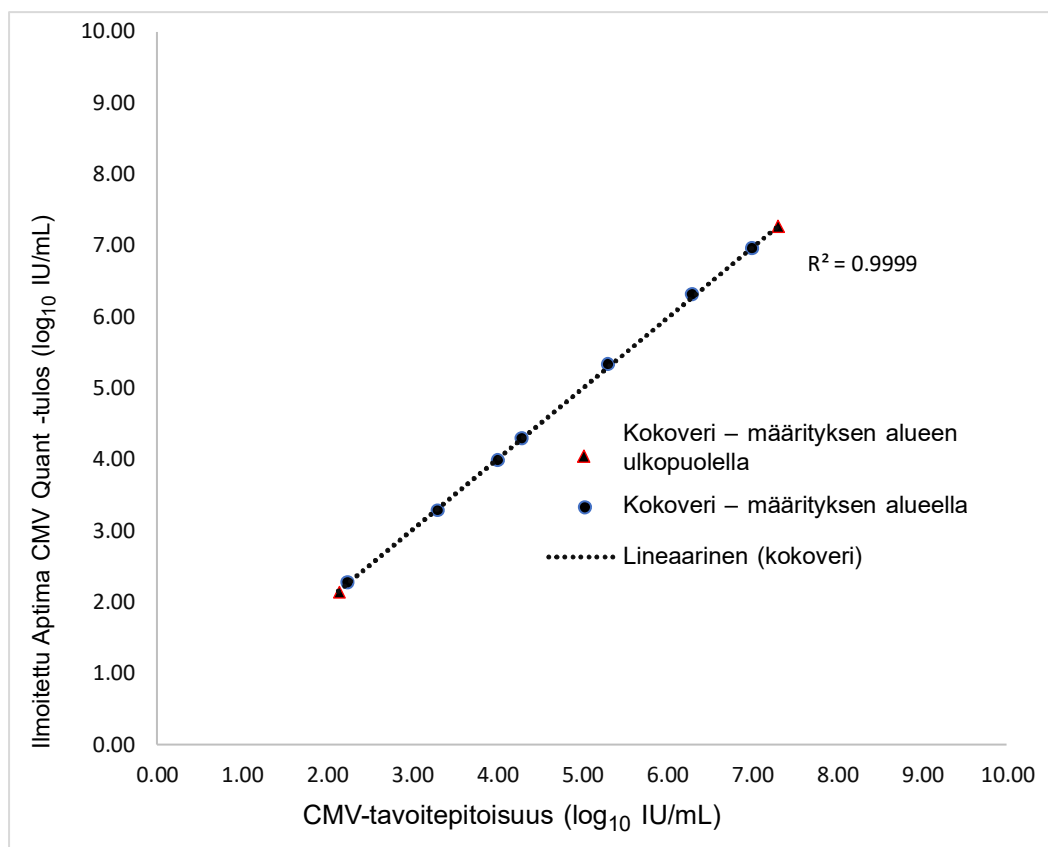
Lineaarinen alue määritettiin testaamalla CMV:n CMV-negatiiviseen ihmisen plasmaan laimennetut testisarjat CLSI EP06-A:n mukaisesti.¹⁵ Testisarjojen pitoisuusalue oli 1,62–7,30 log₁₀ IU/mL. Aptima CMV Quant Assay -määritys antoi lineaarisia tuloksia koko testatulla alueella. Määrityksen kvantitoinnin yläraja (ULoQ) on 7 log₁₀ 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 log₁₀ IU/mL kokoveren osalta. Aptima CMV Quant Assay -määritys antoi lineaarisia tuloksia koko testatulla alueella. Määrityksen kvantitoinnin yläraja (ULoQ) on 7 log₁₀ IU/mL, kuten Kuva 8 osoittaa.

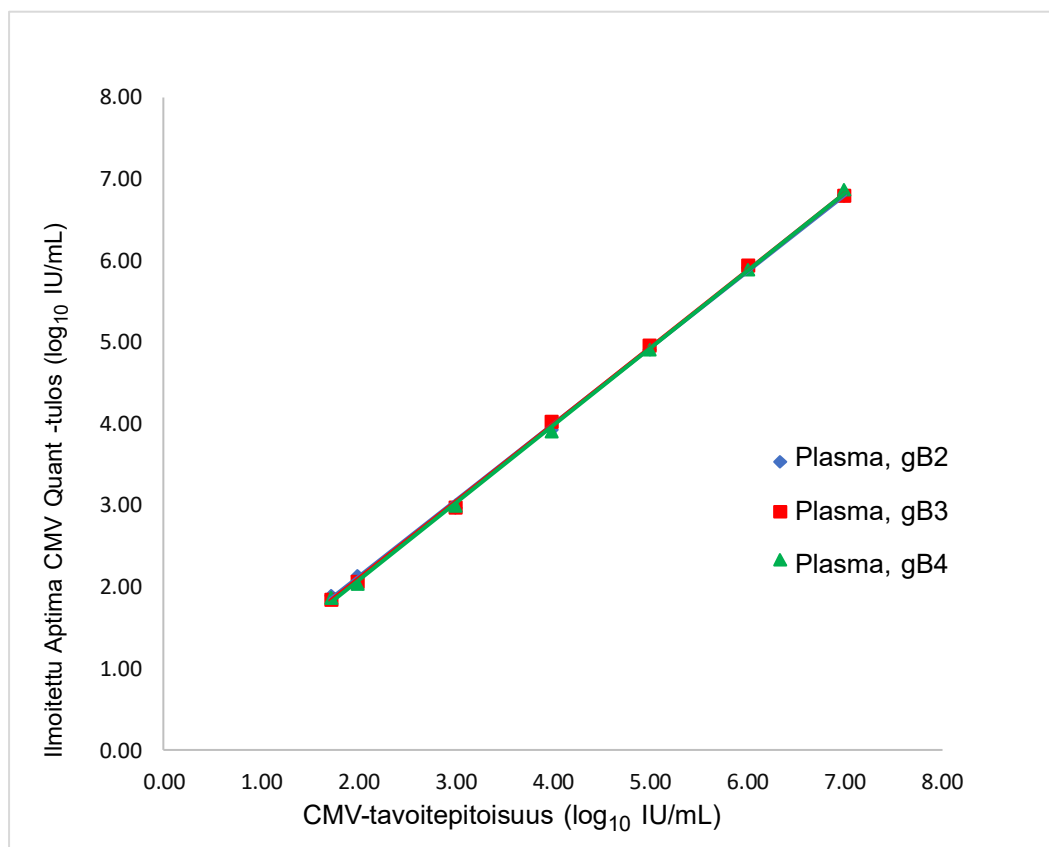


Kuva 8. Lineaarisuus kokoveressä

Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken

Lineaarisuus CMV-genotyyppien kesken plasmassa

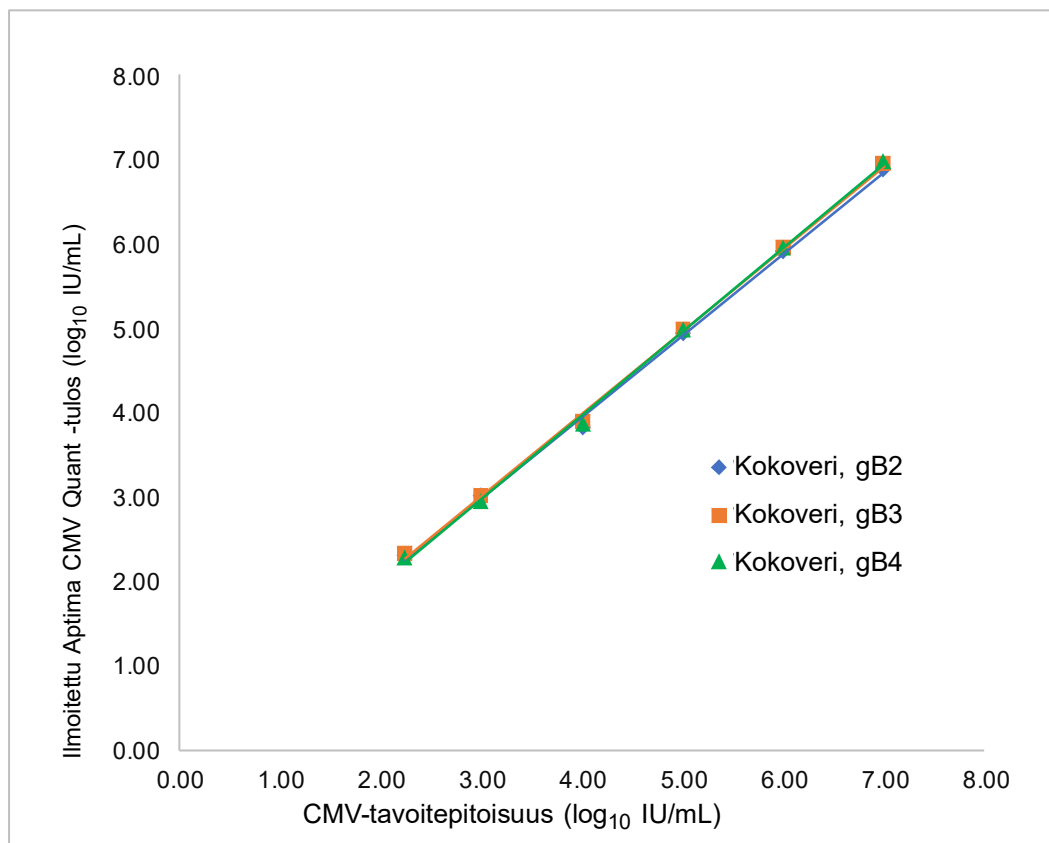
Glykoproteiinin genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4 lineaarisuus vahvistettiin testaamalla CMV-negatiiviseen plasmaan laimennetun CMV:n testisarjat pitoisuuksilla 1,72–7,00 \log_{10} IU/mL. Lineaarisuus osoitettiin alueella kaikille testatuille genotyypeille, kuten kohdasta Kuva 9 nähdään.



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 log₁₀ 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

Kvantifioinnin alaraja käytettäessä WHO:n 1. 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 log₁₀ IU/mL (eli LLoQ-arvolla ero, joka on yli 1 log₁₀ IU/mL, kahden mittauksen välillä on tilastollisesti merkitsevä).

Kvantifioinnin alaraja käytettäessä 1. WHO:n kansainvälistä standardia mukaan plasmassa

LLoQ määritettiin testaamalla WHO:n 1. kansainvälisen standardin (NIBSC-koodi 09/162, genotyyppi gB-1)²¹ testisarjoja CMV-negatiivisella ihmisplasmalla laimennetulla 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 8. Taulukko 9 esittää tulokset TE-vaatimukset täyttävällä reagenssierällä, jolla on korkein pitoisuus ja jonka havaitsemisosuus on ≥ 95 %. LLoQ, joka on saatu WHO:n ensimmäisellä kansainvälisellä standardilla plasmassa olevalle CMV:lle, on 53 IU/mL.

Taulukko 8: 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 ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
1	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
2	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
3	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SD = keskihajonta

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

Taulukko 9: Yhteenveto plasman LLoQ-arvoista käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä CMV-standardia

Reagenssierä	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Kvantitoinnin alaraja käytettäessä 1. WHO:n kansainvälistä 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 10. Taulukko 11 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 10: 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 ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ 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 11: Yhteenveto kokoveren LLoQ-arvoista käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä CMV-standardia

Reagenssierä	(IU/mL)	(log ₁₀ 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

1. WHO:n kansainvälistä 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 rinnakkaisnäytettä yhden reagenssierän kanssa. Tulokset: katso Table 12. Yhteenveto 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 Table 12. Tässä määrittämisessä plasman kokonais-LLoQ on 53 IU/ml.

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

Taulukko 12: Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien LLoQ:n määrittäminen plasmassa

Genotyyppi/ mutantit	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 12: Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien LLoQ:n määrittäminen plasmassa (jatkuu)

Genotyyppi/ mutantit	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 vastustuskyky inen 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 vastustuskyky inen 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 13: Genotyyppien ja lääkkeille vastustuskykyisten mutanttien LLoQ:sta plasmassa

Genotyyppi/mutantit	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:n 1. kansainvälistä standardia käyttämällä määritetty LLoQ tarkistettiin testaamalla CMV-genotyyppien gB-2, gB-3 ja gB-4-laimennoksia CMV-negatiivisessa ihmisen kokoveressä. Yhdellä reagenssierällä testattiin 60 replikaattia kullakin testisarjan jäsenellä. Taulukko 14 esittää tulokset. Taulukko 15 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 14: LLoQ:n määrittäminen genotyyppien kesken kokoveressä

Genotyyppi	N	Havaittujen määrä	Tavoitepitoisuus	Aptima CMV Quant	SD	Poikkeama	Laskettu TE
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ 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 15: Yhteenveto LLoQ-arvoista genotyyppien kesken kokoveressä

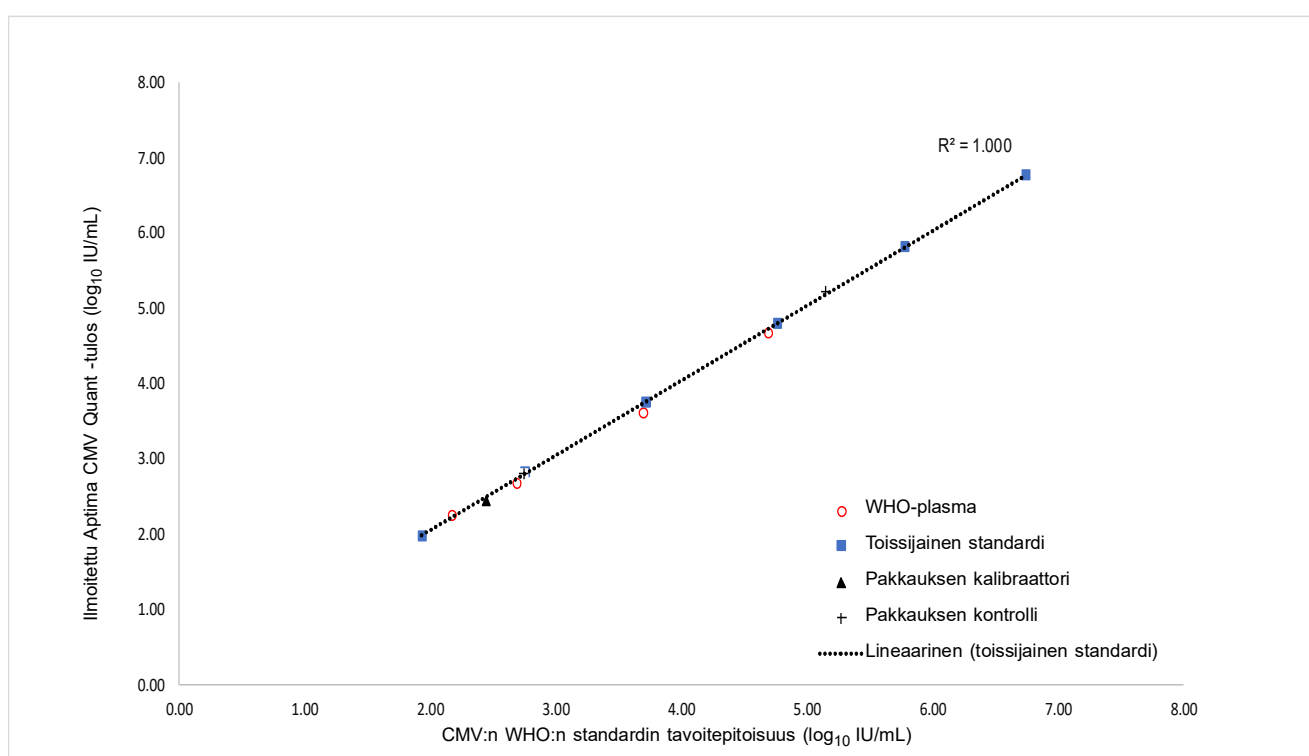
Genotyyppi	LLoQ	
	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Jäljitettävyys käytettäessä WHO:n ensimmäistä kansainvälistä standardia

Tuotteen kehityksen ja valmistuksen aikana käytettiin sarjaa pitoisuudeltaan tunnettuja toissijaisia standardeja jäljitettävyyden määrittämiseksi 1. WHO:n kansainvälisen standardin mukaan. CMV:n 1. WHO:n kansainvälinen standardi laimennettiin ja se testattiin yhdessä toissijaisten standardien sekä määrittämisen kontrollien ja Aptima CMV Quant -määrittämissä käytettyjen kalibraattorien kanssa, jotta voitiin arvioida CLSI EP32-R:n¹⁶ mukainen jäljitettävyys. Toissijaisten standardien pitoisuus oli 1,80–6,60 log₁₀ IU/mL.

Jäljitettävyys 1. WHO:n kansainväliseen standardiin plasmassa käytettäessä

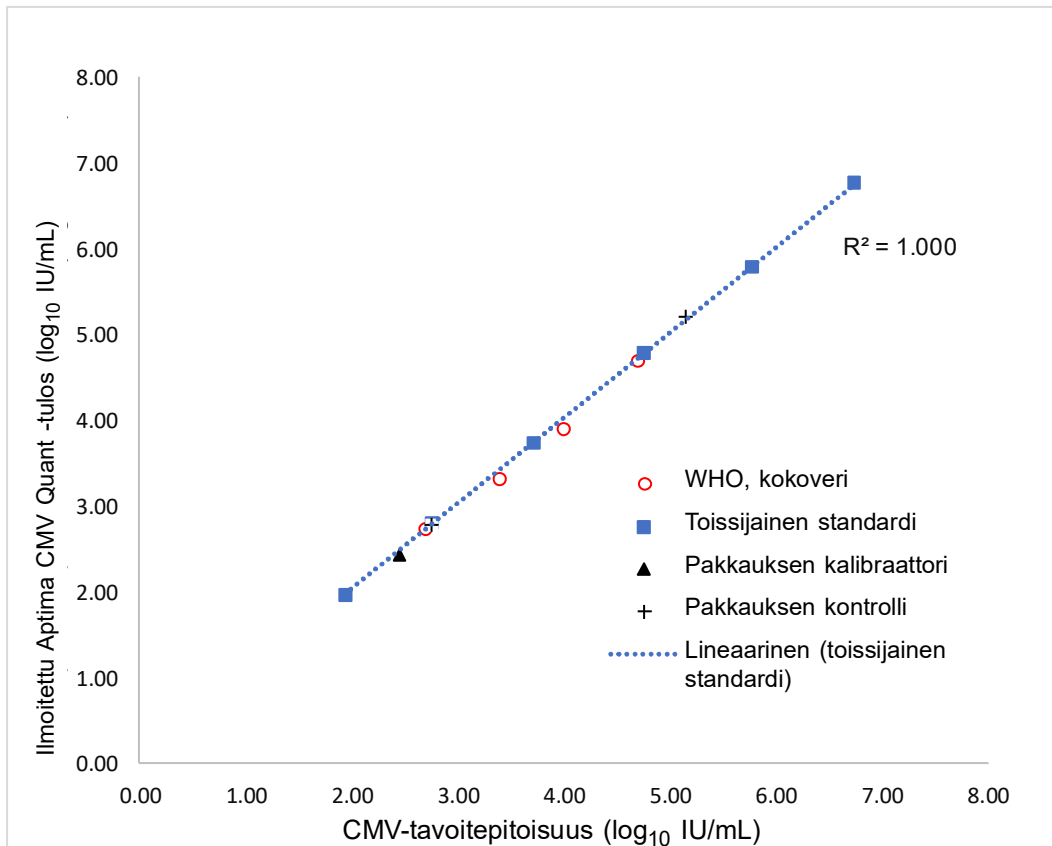
CMV:n 1. WHO:n kansainvälistä standardia varten testatut pitoisuudet olivat 2,18–4,70 log₁₀ IU/mL. WHO:n plasmatestisarjat, toissijaiset standardit, määrittämisen kontrollit ja määrittämisen kalibraattorit antoivat odotetut tulokset määrittämisen lineaarisella alueella, kuten Kuva 11 osoittaa.



Kuva 11. Jäljitettävyys CMV:n 1. WHO:n kansainvälisen standardin tavoitepitoisuuksien ja ilmoitettujen pitoisuuksien välillä Aptima CMV Quant -määrittämissä (WHO:n standardi laimennettu plasmassa)

Jäljitettävyys 1. WHO:n kansainväliseen standardiin kokoverta käytettäessä

CMV:n 1. WHO:n kansainvälistä standardia varten 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. Jäljitettävyys CMV:n 1. WHO:n kansainvälisen standardin tavoitepitoisuuksien ja ilmoitettujen pitoisuuksien välillä Aptima CMV Quant -määrittämissä (WHO:n standardi laimennettu kokoveressä)

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 suorituserässä. Tutkimus suunniteltiin ja analysoitiin CLSI EP-05-A3:n suositusten mukaisesti.¹⁷

Taulukko 16 esittää analyysin tulosten tarkkuuden (yksiköissä log₁₀IU/ml) laitteiden, käyttäjien ja reagenssierien välillä, suorituserien ja päivien sisällä, suorituserien sisällä ja kokonaisuudessaan. Kokonaisvaihtelu johtui pääasiassa suorituserien sisäisestä vaihtelusta (eli satunnaisvirheestä).

Taulukko 16: Aptima CMV Quant -määrityksen tarkkuus plasmassa

N	Keskipitoisuus (log ₁₀ 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

Huomaus: 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 suorituserässä.

Taulukko 17 esittää analyysin tulosten tarkkuuden (yksiköissä log₁₀ IU/ml) laitteiden, käyttäjien, erien, suorituserien ja päivien välillä, suorituserien sisällä ja kokonaisuudessaan. Kokonaisvaihtelu johtui pääasiassa suorituserien sisäisestä vaihtelusta (eli satunnaisvirheestä).

Taulukko 17: Aptima CMV Quant -määrityksen tarkkuus kokoveressä

N	Keskipitoisuus (log ₁₀ 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 -määrityksen herkkyys endogeenisten aineiden, antikoagulanttien ja siirteiden saaneille potilaille yleisesti määrättyjen lääkkeiden pitoisuuden kohoamisen aiheuttamille häiriöille arvioitiin. Kunkin häiritsevän aineen testipitoisuudet valittiin käytettävissä olevien kirjallisuusviitteiden ja CLSI EP07:n¹⁸ ja EP37:n¹⁹ ohjeiden mukaan. Testauksessa testattiin CMV-negatiiviset plasmanäytteet ja näytteet, joihin oli lisätty CMV:tä pitoisuudella 2,22 log₁₀ IU/mL ja pitoisuudella 3,30 log₁₀ IU/mL. CMV-negatiiviset kokoverinäytteet ja näytteet, joihin oli lisätty CMV:tä pitoisuudella 2,72 ja 4,00 log₁₀ 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 genomien 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 18 mainittu sairaus, kliiniset plasmanäytteet testattiin Aptima CMV Quant Assay -määrityksellä. Määrityksen toiminnassa ei havaittu mitään häiriöitä.

Taulukko 18: 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 häiriötä, kun kohdassa Taulukko 19 mainittuja eksogeenisiä aineita oli pitoisuuksilla, jotka olivat vähintään kolme kertaa lääkkeiden C_{max} ihmisen plasmassa.

Taulukko 19: 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 -määrityksen plasman ja kokoveren yhdistetty spesifisyys oli 99,9 % (779/780, 95 %:n LV: 99,3–100%).

Taulukko 20: 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 21 mainittujen patogeenien kanssa arvioitiin CMV-negatiivisella ihmisen plasmalla yhdessä CMV:n, jota oli 2,2 log₁₀ IU/mL ja 3,3 log₁₀ IU/mL, kanssa tai ilman CMV:tä. Kolme uutta kokoverinäytteistä havaittua loista arvioitiin myös CMV-negatiivisella kokoverellä yhdessä CMV:n, jota oli 2,7 log₁₀ IU/mL ja 4,0 log₁₀ IU/mL, kanssa tai ilman CMV:tä. Patogeenit testattiin suurimmalla saatavissa olevalla pitoisuudella. Ristireaktiivisuutta tai häiriöitä ei havaittu.

Taulukko 21: 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-alatyypin 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			
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	CFU/mL			

^a TCID50/mL = kudosviljelmän tartuttavat annosyksiköt millilitrassa

^b cp/mL = viruksen kopioita / mL

^c IU/mL = kansainvälistä yksikköä / mL

^d CFU/mL = pesäkkeitä muodostavaa yksikköä / mL

*testattu kokoverinäytetyypillä

Plasmanäytteen laimentaminen negatiivisella Aptima CMV -kontrollilla (1:3)

Jotta voitiin arvioida CMV:n DNA:n kvantitointitarkkuus plasmanäytteissä, joita oli laimennettu negatiivisella Aptima CMV -kontrollilla, näytteitä, joiden pitoisuuksien jakauma oli lineaarisella pitoisuusalueella, laimennettiin 1:3 negatiivisella Aptima CMV -kontrollilla (240 µL näytettä ja 480 µL negatiivista Aptima CMV -kontrollia). Laimentamattomat ja laimennetut näytteet testattiin kolmena kappaleena. Testaus suoritettiin käyttämällä yhtä reagenssierää yhdessä Panther-järjestelmässä kahdella negatiivisella Aptima CMV -kontrollierällä. Taulukko 22 esittää laimentamattomien ja laimennettujen näytteiden testitulosten välisen eron kullekin näytejoukolle. Näytepitoisuudet saatiin tarkasti talteen laimennetuista näytteistä laimennuskertoimen käyttämisen jälkeen.

Taulukko 22: Negatiivisessa kontrollissa laimennettujen plasman kliinisten näytteiden toistettavuus

Laimentamaton plasmanäyte Keskimääräinen ilmoitettu pitoisuus (log ₁₀ IU/mL) n = 3	Laimennettu plasmanäyte Keskimääräinen ilmoitettu pitoisuus (log ₁₀ IU/mL) n = 6	Ero (log ₁₀ IU/mL)
2,30	2,42 ^a	0,12
2,50	2,60	0,11
3,03	3,02	-0,01
3,46	3,45	-0,01
3,29	3,29	0,00
4,64	4,43	-0,21
5,32	5,31	-0,01
6,43	6,44	0,01
6,91 ^b	6,95	0,05
> ULoQ ^c	7,41 ^d	-

^aTulos kahdesta rinnakkaisnäytteestä. Neljä tulosta oli "Havaittu" mutta kvantifioimatta.

^bTulos kahdesta rinnakkaisnäytteestä. Yksi tulos oli "Havaittu" mutta kvantifioimatta, koska se oli > ULoQ.

^cKolme tulosta oli "Havaittu" mutta kvantifioimatta, koska ne olivat > ULoQ.

^dTulos neljästä rinnakkaisnäytteestä. Kaksi tulosta oli "Havaittu" mutta kvantifioimatta, koska ne olivat > ULoQ.

LoD:n ja LLoQ:n vahvistus käyttämällä CMV:n 1. WHO:n kansainvälisiä standardeja laimennettuna negatiivisessa Aptima CMV -kontrollissa

Aptima CMV Quant -määrityksen LoD ja LLoQ vahvistettiin CMV:n 1. WHO:n kansainvälisellä standardilla (NIBSC-koodi 09/162) plasmalla laimennettuna 1:3 käyttämällä negatiivista Aptima CMV -kontrollia. Näytteet valmistettiin CMV-negatiiviseen ihmisen plasmaan CMV-pitoisuuksilla 90, 105, 120, 135, 150 ja 165 IU/mL. Jokainen testisarja laimennettiin 1:3 negatiivisella Aptima CMV -kontrollilla juuri ennen testausta siten, että loppupitoisuudeksi saatiin noin 30, 35, 40, 45, 50 ja 55 IU/mL. Yhdellä reagenssierällä testattiin yhteensä 60 kunkin testisarjan jäsenen rinnakkaisnäytettä kolmen päivän aikana. Kokonaisvirhe arvioitiin käyttämällä Westgard-mallia: Kokonaisvirhe (TE) = |poikkeama| + 2 keskihajontaa. Taulukko 23 osoittaa, että kaikilla näytteillä, joiden pitoisuus oli ≥ 45 IU/mL, oli ≥ 95 %:n tunnistus ja kokonaisvirhe (TE) $\leq 1 \log_{10}$ IU/mL. Tämä vahvistaa CMV:n LLoQ:n negatiivisella kontrollilla laimennettujen näytteiden kanssa.

Taulukko 23: Negatiivista kontrollia käyttämällä 1:3 laimennettujen plasmanäytteiden LoD ja LLoQ

N	Havaittu %	Tavoitepitoisuus 1:3 laimennuksen jälkeen (IU/mL)	Tavoitepitoisuus 1:3 laimennuksen jälkeen (\log_{10} IU/mL)	Aptima CMV Quant laimennetulle näytteelle (\log_{10} IU/mL)	Keskihajonta (\log_{10} IU/mL)	Poikkeama (\log_{10} IU/mL)	Laskettu TE (\log_{10} IU/mL)
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

Näytteiden välinen kontaminaatio

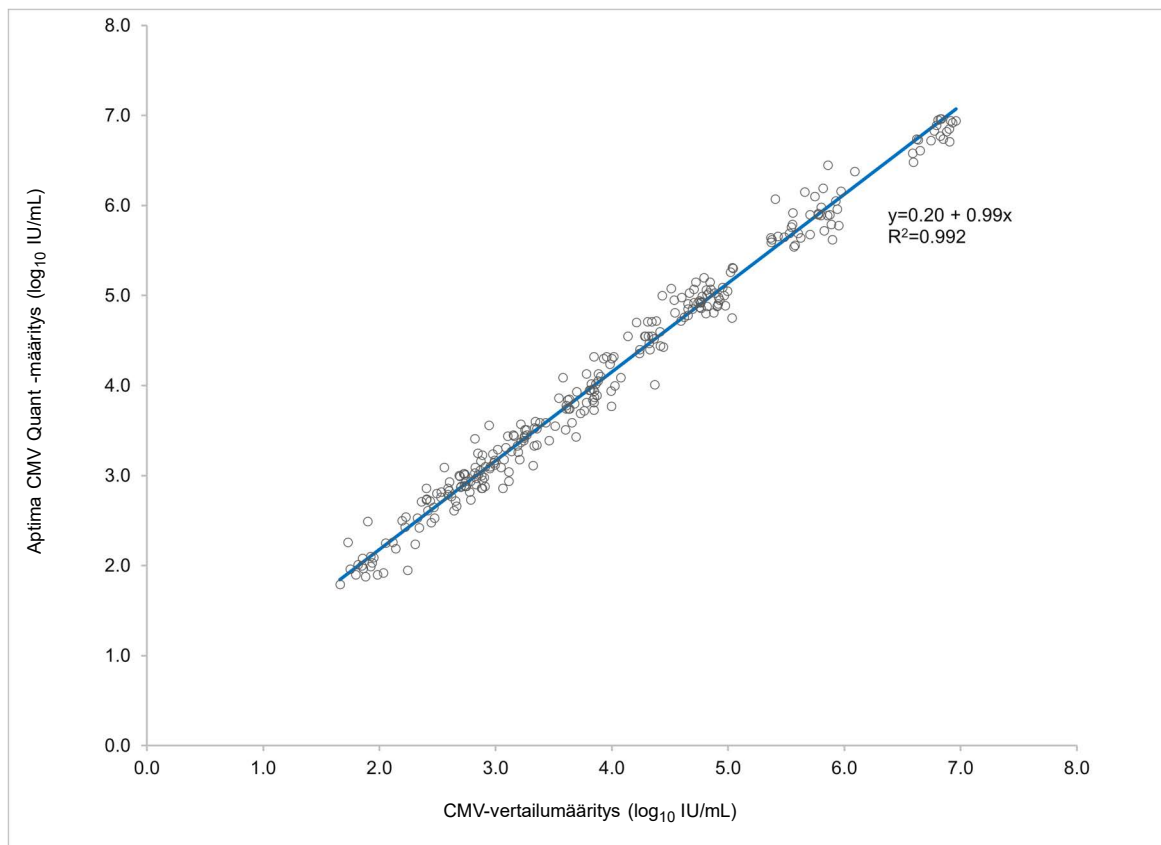
Panther System -järjestelmän näytteiden välinen kontaminaatio on arvioitu käyttämällä näytetyyppinä plasmaa käyttämällä muita viruskuormamäärityksiä (Aptima HIV-1 Quant Dx -määritys, Aptima HCV Quant -määritys, Aptima HBV Quant -määritys). Näytteiden välistä kontaminaatiota ei havaittu aiemmassa testauksessa. 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 ($6 \log_{10}$ 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

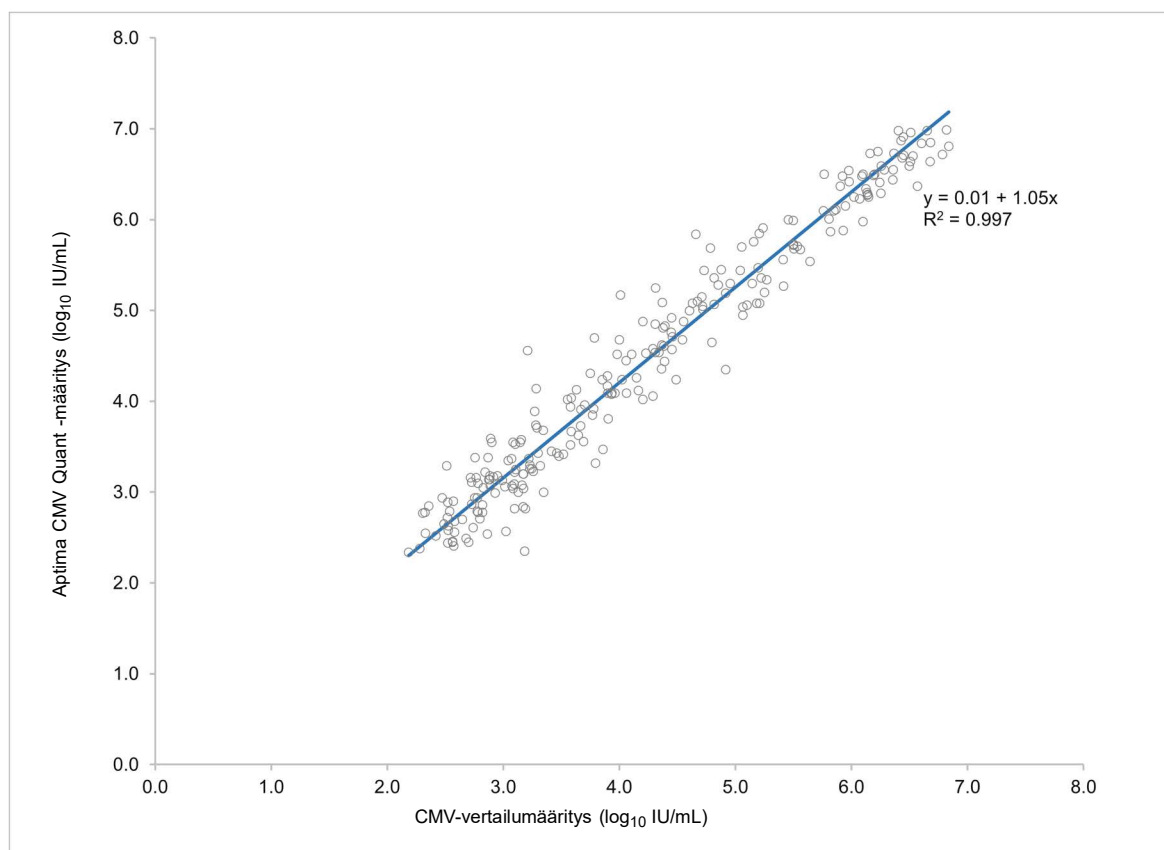
Aptima CMV Quant -määrityksen tehoa arvioitiin suhteessa CMV-vertailumääritykseen testaamalla laimentamattomia kliinisiä näytteitä CMV-positiivisilta potilailta ja keinotekoisilla näytteillä, jotka oli tehty viljellyn viruksen eri kannoista, jotka kuuluivat jokaiseen neljään genotyyppiin ja joita oli väkevöity yksittäisen luovuttajan negatiivisella EDTA-plasmalla. Demingin regressioon käytettiin yhteensä 160 kliinistä näytettä ja 115 keinotekoisia näytettä kummallekin määrittelylle yhteiseltä lineaariselta alueelta kohdan Kuva 13 mukaisesti.



Kuva 13. Aptima CMV Quant -määrityksen CMV-viruskuorman ja CMV-vertailumäärityksen välinen korrelaatio testattaessa plasmanäytteitä

Kokoverimenetelmän korrelaatio

Aptima CMV Quant -määrityksen tehoa arvioitiin suhteessa CMV-vertailumääritykseen testaamalla laimentamattomia kliinisiä näytteitä CMV-positiivisilta potilailta ja keinotekoisilla näytteillä, jotka oli tehty viljelystä viruksesta, joita oli väkevöity yksittäisen luovuttajan negatiivisella EDTA-kokoverellä. Demingin regressioon käytettiin yhteensä 159 kliinistä näytettä ja 83 keinotekoisia näytettä kummallekin määrittelylle yhteiseltä lineaariselta alueelta kohdan Kuva 14 mukaisesti.



Kuva 14. Aptima CMV Quant -määrityksen ja CMV-vertailumäärityksen CMV-viruskuorman välinen korrelaatio testattaessa kokoverinäytteitä

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 24 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 24: Aptima CMV Quant -määrityksen CMV:n DNA-tasojen toistettavuus Panther System -järjestelmässä plasman positiivisissa testisarjan jäsenissä

N	Havaittu keskimääräinen		osuus kokonaisvarianssista SD (%CV ²)					Kokonaisv arianssi 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 suoritusserän päivässä 5 päivän aikana käyttäen yhtä reagenssierää testauksen aikana. Jokaisessa suoritusserässä 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 25 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 25: Aptima CMV Quant -määrityksen CMV:n DNA-tasojen toistettavuus Panther System -järjestelmässä plasman positiivisissa testisarjan jäsenissä

N	Havaittu keskimääräinen		osuus kokonaisvarianssista SD (%CV ²)					Kokonaisvari- anssi SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Välillä tutkimuspaikat	Välillä käyttäjät	Välillä päivät	Ajojen välillä	Sisällä suoritusserät	
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.

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

Kliininen suorituskyky

Kliininen yhdenmukaisuus

Kliininen suorituskykytutkimus suunniteltiin Aptima CMV Quant -määrityksen ja hyväksytyn vertailumäärityksen välisen kliininen yhdenmukaisuuden arvioimiseksi. Prospektiivisen monikeskustutkimuksen aikana kahdeksassa kliinisessä tutkimuksessa kerättiin plasmanäytteitä CMV-seurannassa olevilta elinsiirtopotilailta (SOTR:t) ja hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilailta (HSCTR:t) rutiinomaisessa kliinisessä käytännössä. Lisäksi kliinisten näytteiden toimittajilta hankittiin tällaisten potilaiden pakastettuja jäännösnäytteitä.

88 prospektiiviseen tutkimukseen otetuista tutkittavasta kuutta tutkittavaa ei voitu arvioida vetäytymisen johdosta (n = 5) tai koska hyväksyttäviä näytetuloksia ei saatu Aptima CMV Quant -määrityksellä ja hyväksytyllä testillä (n = 1). Taulukko 26 esittää arvioitavissa olevien 82 tutkittavan väestötiedot ja lähtötilanteen kliiniset ominaisuudet.

Taulukko 26: Tutkittavien väestötiedot ja lähtötilanteen kliiniset ominaisuudet kokonaisuutena ja siirteen tyyppin mukaan

Ominaisuudet		SOTR:t	HSCTR:t	Kaikki
Yhteensä, N		62	20	82
Sukupuoli, n (%)	Mies	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Nainen	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Ikä (vuotta)	Keskiarvo ± (SD)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Mediaani	53,0	54,5	54,0
	Minimi	20	22	20
	Maksimi	81	69	81
Etninen tausta, n (%)	Hispaani tai latino	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Ei hispaani tai latino	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Tuntematon	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Rotu, n (%)	Amerikan intiaani tai Alaskan alkuperäiskansaa	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Aasialainen	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Tummaihoisen	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Havaijin tai Tyynenmeren saarten alkuperäiskansaa	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Valkoinen	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Muu	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Tuntematon	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Elimen tyyppi, n (%)	Munuainen	25 (40,3)	--	--
	Maksa	15 (24,2)	--	--
	Keuhko	10 (16,1)	--	--
	Sydän	12 (19,4)	--	--

Taulukko 26: Tutkittavien väestötiedot ja lähtötilanteen kliiniset ominaisuudet kokonaisuutena ja siirteen tyyppin mukaan (*jatkuu*)

Ominaisuudet		SOTR:t	HSCTR:t	Kaikki
Kantasolun tyyppi, n (%)	Allogeeninen	--	18 (90,0)	--
	Autologinen	--	2 (10,0)	--
CMV-serologian tila, n (%)	Luovuttaja positiivinen / saaja negatiivinen	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Luovuttaja negatiivinen / saaja positiivinen	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Luovuttaja positiivinen / saaja positiivinen	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
CMV-virushoidossa, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Päivää CMV-virushoidossa ennen rekisteröitymistä				
n		41	12	53
Keskiarvo		13,6	13,3	13,5
Mediaani		11	9,5	11
Minimi		1	1	1
Maksimi		47	45	47

HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, SD = keskihajonta, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

Prospektiivisessä tutkimuksessa kerättiin 365 plasmanäytettä 82 tutkittavalta. Lisäksi 261 pakastettua jäännösnäytettä hankittiin kliinisten näytteiden toimittajilta. 626 kliinisestä plasmanäytteestä (ts. prospektiivisessä tutkimuksessa kerätyt näytteet ja pakastetut jäännösnäytteet yhdessä) 597 parillista (ts. hyväksyttävä tulos sekä Aptima CMV Quant -määrityksestä että hyväksytystä testistä) kliinistä plasmanäytettä otettiin mukaan yhdenmukaisuusanalyysiin. 597 parillisesta kliinisestä näytteestä 339 näytettä kerättiin prospektiivisessä tutkimuksessa ja 258 oli pakastettuja jäännösnäytteitä. Yhdenmukaisuusanalyysiä tehtiin erikseen 181 parilliselle tutkittavilta kerätyille näytteille sen jälkeen, kun he olivat aloittaneet CMV-virushoidon osana rutiinihoitoa prospektiivisen tutkimuksen aikana.

Taulukko 27 näyttää yhdenmukaisuusanalyysin ja prosentuaalisen yhdenmukaisuuden Aptima CMV Quant -määrityksen ja hyväksytyt testin välillä eri kynnysarvoilla (yhteensä ja siirteryhmän mukaan). Yhdenmukaisuusanalyysi erilaisilla viruskuormaväleillä (yhteensä ja siirteryhmän mukaan) esitetään kohdassa Taulukko 28. 597 kokonaistuloksesta neljän havaittiin olevan poikkeavia enemmän kuin vain välittömästi vieressä olevan kategorian yli, ja niistä 3 oli HSCTR:istä.

Taulukko 27: Yhdenmukaisuusanalyysi ja prosentuaalinen yhdenmukaisuus eri kynnysarvoilla (yhteensä ja siirryhmän mukaan)

Siirre- ryhmän kynnysarvo	N ^a	Vertailumäärittelyn ^b ja Aptima CMV Quantin tulokset				PPA % (n/N) [95 %-n LV] ^c	NPA % (n/N) [95 %-n LV] ^c
		Comp ≥ ACMV ≥	Comp < ACMV ≥	Comp < ACMV <	Comp ≥ ACMV <		
Yhteensä							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2, 99,8]	86,0 (295/343) [81,9, 89,3]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	597	158	37	397	5	96,9 (158/163) [93,0, 98,7]	91,5 (397/434) [88,5, 93,8]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1 800 IU/mL)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2, 99,8]	96,0 (483/503) [93,9, 97,4]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7 943,3 IU/mL)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTR:t							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4, 99,7]	87,3 (178/204) [82,0, 91,2]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	403	129	25	245	4	97,0 (129/133) [92,5, 98,8]	90,7 (245/270) [86,7, 93,6]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1 800 IU/mL)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2, 99,8]	95,1 (308/324) [92,1, 96,9]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7 943,3 IU/mL)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTR:t							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5, 100]	84,2 (117/139) [77,2, 89,3]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	194	29	12	152	1	96,7 (29/30) [83,3, 99,4]	92,7 (152/164) [87,6, 95,8]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1 800 IU/mL)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7 943,3 IU/mL)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV = Aptima CMV Quant -määrittely, LV = luottamusväli, Comp = vertailumäärittely, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, NPA = negatiivinen prosentuaalinen yhdenmukaisuus, PPA = positiivinen prosentuaalinen yhdenmukaisuus, SOTR:t = elinsiirtopotilaat, TND = kohdetta ei havaittu

Huomautukset:

≥ : tulos on yhtä suuri tai suurempi kuin annettu kynnysarvo

< : tulos on pienempi kuin annettu kynnysarvo

PPA kokoaa yhteen tulokset, jotka ovat suurempia tai yhtä suuria kuin annettu kynnysarvo. NPA kokoaa yhteen tulokset, jotka ovat pienempiä kuin annettu kynnysarvo.

^a Parillisten kliinisten näytteiden määrä (prospektiivisessä tutkimuksessa kerätyt näyttään ja kliinisten näytteiden toimittajilta hankitut pakastetut jäännösnäytteet yhdessä).

^b Hyväksytty testi

^c Pistemäärän luottamusväli

^d Vaihtoehtoisen hyväksytyt testin LLoQ

Taulukko 28: Yhdenmukaisuusanalyysi erilaisilla viruskuormaväleillä (yhteensä ja siirreryhmän mukaan)

Siirreryhmän Aptima CMV -määrityksen tulos	Vertailumäärityksen ^b tulos (log ₁₀ IU/mL)						
	Yhteensä ^a , N	TND	Havaittu, < 2,1	≥ 2,1 – < 2,7	≥ 2,7 – < 3,3	≥ 3,3 – < 3,9	≥ 3,9
Yhteensä							
Parillisten näytteiden kokonaismäärä, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥ 2,1 – < 2,7 log ₁₀ IU/mL	105	0	46	54	5	0	0
≥ 2,7 – < 3,3 log ₁₀ IU/mL	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥ 3,3 – < 3,9 log ₁₀ IU/mL	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥ 3,9 log ₁₀ IU/mL	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTR:t							
Parillisten näytteiden kokonaismäärä, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥ 2,1 – < 2,7 log ₁₀ IU/mL	69	0	26	39	4	0	0
≥ 2,7 – < 3,3 log ₁₀ IU/mL	60	0	0	25	34	1	0
≥ 3,3 – < 3,9 log ₁₀ IU/mL	43	0	0	0	15	28	0
≥ 3,9 log ₁₀ IU/mL	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTR:t							
Parillisten näytteiden kokonaismäärä, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥ 2,1 – < 2,7 log ₁₀ IU/mL	36	0	20	15	1	0	0
≥ 2,7 – < 3,3 log ₁₀ IU/mL	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥ 3,3 – < 3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥ 3,9 log ₁₀ IU/mL	6	0	0	0	0	2	4

HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, SOTR:t = elinsiirtopotilaat, TND = kohdetta ei havaittu

^a Parillisten kliinisten näytteiden määrä (prospektiivisessa tutkimuksessa kerätyt näyttään ja kliinisten näytteiden toimittajilta hankitut pakastetut jäännösnäytteet yhdessä).

^b hyväksytty testi

^c Vaihtoehtoisen hyväksytyt testin LLoQ

^d 597 kokonaistuloksesta neljän havaittiin olevan poikkeavia enemmän kuin vain välittömästi vieressä olevan kategorian yli. Yksi neljästä oli SOTR:istä ja kolme neljästä oli HSCTR:istä. Kahdesta HSCTR:stä, jotka testattiin vaihtoehtoisella NAAT:illä, yhden todettiin olevan yhdenmukainen Aptima CMV Quant -määrityksen tulosten kanssa.

Taulukko 29 esittää yhdenmukaisuusanalyysin ja prosentuaalisen yhdenmukaisuuden eri kynnysarvoilla (yhteensä ja siirryhmän mukaan) näytteillä, jotka kerättiin tutkittavilta sen jälkeen, kun he olivat aloittaneet CMV-virushoidon osana rutiinihoitoa prospektiivisessä tutkimuksessa. Yhdenmukaisuusanalyysi eri viruskuormaväleillä käyttäen kaikkia aikapisteitä hoidon aloittamisen jälkeen yhdistettynä (yhteensä ja siirryhmän mukaan) esitetään kohdassa Taulukko 30. 181 kokonaistuloksesta yhden havaittiin olevan poikkeava enemmän kuin vain välittömästi vieressä olevan kategorian yli, ja se havaittiin SOTR:ssä.

Taulukko 29: Yhdenmukaisuusanalyysi ja prosentuaalinen yhdenmukaisuus eri kynnysarvoilla käytettäessä kaikkia aikapisteitä hoidon aloittamisen jälkeen yhdistettynä (yhteensä ja siirryhmän mukaan)

Siirre- ryhmän kynnysarvo	N ^a	Vertailumäärittelyn ^b ja Aptima CMV Quantin tulokset				PPA % (n/N) [95 %-n LV] ^c	NPA % (n/N) [95 %-n LV] ^c
		Comp ≥ ACMV ≥	Comp < ACMV ≥	Comp < ACMV <	Comp ≥ ACMV <		
Yhteensä							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	181	42	9	129	1	97,7 (42/43) [87,9, 99,6]	93,5 (129/138) [88,1, 96,5]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1 800 IU/mL)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7 943,3 IU/mL)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTR:t							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	136	34	8	93	1	97,1 (34/35) [85,5, 99,5]	92,1 (93/101) [85,1, 95,9]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1 800 IU/mL)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7 943,3 IU/mL)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTR:t							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1 800 IU/mL)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7 943,3 IU/mL)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

ACMV = Aptima CMV Quant -määrittely, LV = luottamusväli, Comp = vertailumäärittely, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, NPA = negatiivinen prosentuaalinen yhdenmukaisuus, PPA = positiivinen prosentuaalinen yhdenmukaisuus, SOTR:t = elinsiirtopotilaat, TND = kohdetta ei havaittu

Huomautukset:

- ≥ : tulos on yhtä suuri tai suurempi kuin annettu kynnysarvo
- < : tulos on pienempi kuin annettu kynnysarvo
- PPA kokoaa yhteen tulokset, jotka ovat suurempia tai yhtä suuria kuin annettu kynnysarvo. NPA kokoaa yhteen tulokset, jotka ovat pienempiä kuin annettu kynnysarvo.

^a CMV-virushoidon aikana mukaan otetuista tai CMV-virushoidon prospektiivisen tutkimuksen aikana aloittaneista tutkittavista kerättyjen parillisten näytteiden määrä.

^b Hyväksytty testi

^c Pistemäärän luottamusväli

^d Vaihtoehdoisen hyväksytyin testin LLoQ

Taulukko 30: Yhdenmukaisuusanalyysi eri viruskuormaväleillä käytettäessä kaikkia aikapisteitä hoidon aloittamisen jälkeen yhdistettynä (yhteensä ja siirryhmän mukaan)

Siirryhmän Aptima CMV Quant -tulos	Vertailumäärittelyn ^b tulos (log ₁₀ IU/mL)						
	Yhteensä ^a , N	TND	Havaittu, < 2,1	≥ 2,1 – < 2,7	≥ 2,7 – < 3,3	≥ 3,3 – < 3,9	≥ 3,9
Yhteensä							
Parillisten näytteiden kokonaismäärä, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥ 2,1 – < 2,7 log ₁₀ IU/mL	33	0	15	17	1	0	0
≥ 2,7 – < 3,3 log ₁₀ IU/mL	23	0	0	9	14	0	0
≥ 3,3 – < 3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	0	4	9	0
≥ 3,9 log ₁₀ IU/mL	15	0	0	0	1 ^d	2	12
SOTR:t							
Parillisten näytteiden kokonaismäärä, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥ 2,1 – < 2,7 log ₁₀ IU/mL	30	0	15	14	1	0	0
≥ 2,7 – < 3,3 log ₁₀ IU/mL	19	0	0	8	11	0	0
≥ 3,3 – < 3,9 log ₁₀ IU/mL	10	0	0	0	4	6	0
≥ 3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	0	1 ^d	2	10
HSCTR:t							
Parillisten näytteiden kokonaismäärä, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Havaittu, < 2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥ 2,1 – < 2,7 log ₁₀ IU/mL	3	0	0	3	0	0	0
≥ 2,7 – < 3,3 log ₁₀ IU/mL	4	0	0	1	3	0	0
≥ 3,3 – < 3,9 log ₁₀ IU/mL	3	0	0	0	0	3	0
≥ 3,9 log ₁₀ IU/mL	2	0	0	0	0	0	2

HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, SOTR:t = elinsiirtopotilaat, TND = kohdetta ei havaittu

^a CMV-virushoidon aikana mukaan otetuista tai CMV-virushoidon prospektiivisen tutkimuksen aikana aloittaneista tutkittavista kerättyjen parillisten näytteiden määrä.

^b Hyväksytty määrittely

^c Vaihtoehtoisen hyväksytyyn testin LLoQ

^d 181 kokonaistuloksesta yhden havaittiin olevan poikkeava enemmän kuin vain välittömästi vieressä olevan kategorian yli.

Menetelmien vertailu

Menetelmien vertailututkimus suoritettiin Aptima CMV Quant -määrityksen suorituskyvyn arvioimiseksi hyväksytyyn testiin verrattuna. Menetelmien vertailuanalyysiin otettiin mukaan yhteensä 309 parillista CMV-positiivista kliinistä näytettä, joista 165 näytettä kerättiin prospektiivisessä tutkimuksessa ja 144 oli pakastettuja jäännösnäytteitä. Kummankin määrityksen tulokset olivat yhteisellä lineaarisella alueella. Lisäksi valmisteltiin yhteensä 105 keinotekoista näytettä lisäämällä viljeltyä CMV-virusta CMV-negatiiviseen EDTA-plasmaan; näistä 103 oli kummankin määrityksen yhteisellä lineaarisella alueella. Keinotekoiset näytteet analysoitiin erikseen.

Taulukko 31 esittää Demingin regression parametrien arviot (\log_{10} IU/mL). Kuva 15 – Kuva 18 esittävät Aptima CMV Quant -määrityksen ja hyväksytyyn testin viruskuormatulojen Demingin regression (\log_{10} IU/mL).

Taulukko 31: Demingin regression parametrien arviot näytetyypin ja siirryhmän mukaan

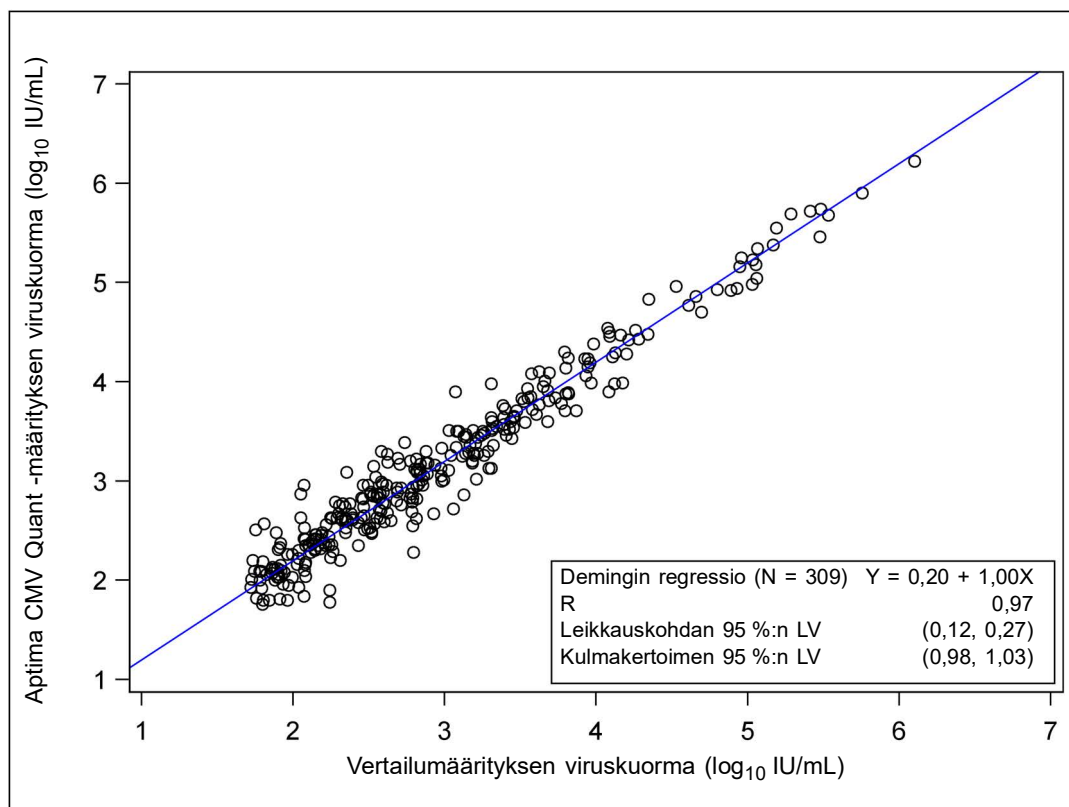
Näytetyyppi	Siirryhmä	Viruskuormayksikkö	Parametri	N ^a	Arvio	Jackknife-menetelmä ^b		Bootstrap-menetelmä ^c		r
						SE	95 %:n LV	SE	95 %:n LV	
Kliininen	Yhteensä	\log_{10} IU/mL	Leikkauskohta	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Kulmakerroin		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTR:t	\log_{10} IU/mL	Leikkauskohta	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Kulmakerroin		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	
	HSCTR:t	\log_{10} IU/mL	Leikkauskohta	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Kulmakerroin		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	
Keinotekoinen	–	\log_{10} IU/mL	Leikkauskohta	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Kulmakerroin		1,01	0,011	(0,98, 1,03)	0,012	(0,98, 1,03)	

LV = luottamusväli, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, r = korrelaatiokerroin, SE = keskihajonta, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

^aNiiden parillisten näytteiden määrä, joiden tulokset olivat kummankin määrityksen yhteisellä lineaarisella alueella.

^bRiippumattomuus oletettu kaikkien näytteiden välillä; jackknife-menetelmää käytetty SE:n ja LV:n arvioimiseen.

^cKliinisiä näytteitä säädettiin kohteen sisäistä korrelaatiota varten käyttämällä bootstrap-uudelleenotantamenetelmää 500 iteroinnilla. Tätä menetelmää käytettiin myös keinotekoisille näytteillä mutta ilman kerrostamista kohteen mukaan.

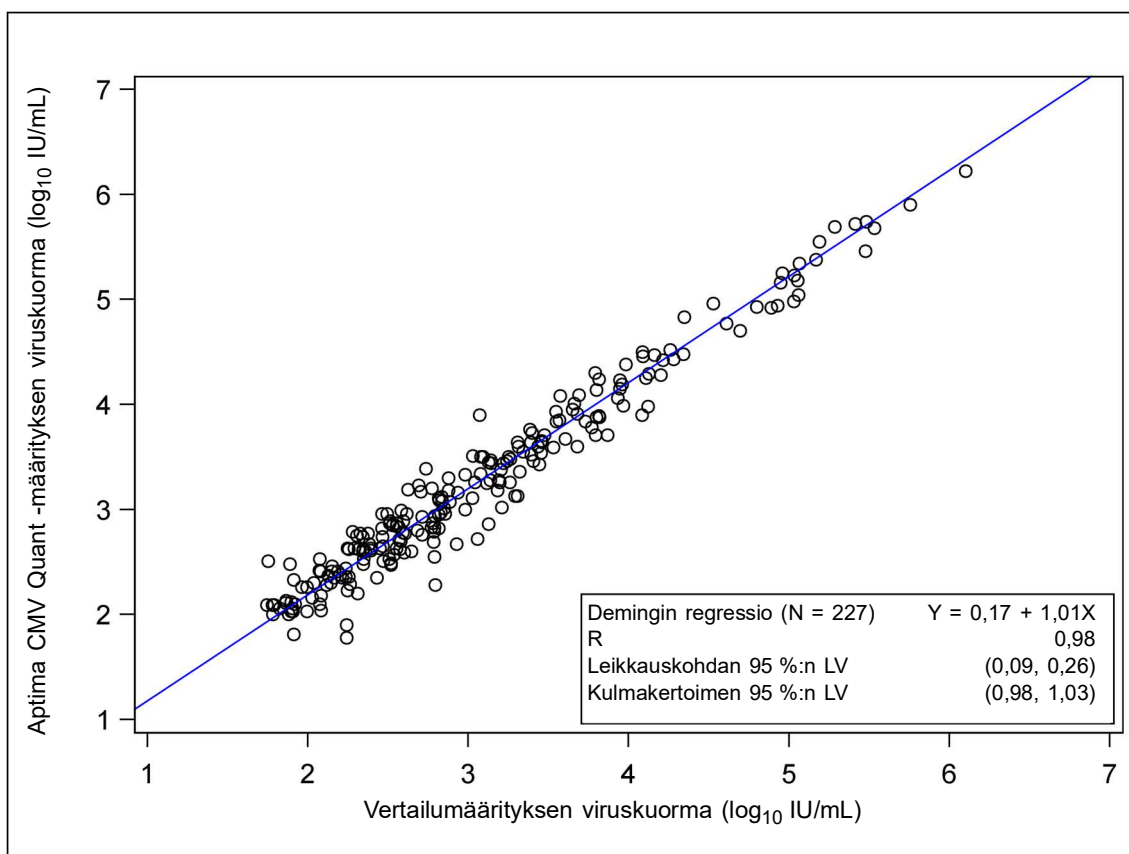


Kuva 15. Demingin lineaarisen regression kuvaaja (kliiniset näytteet: SOTR:t ja HSCTR:t yhdessä)

LV = luottamusväli, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, R = korrelaatiokerroin, SOTR:t = elinsiirteen saaneet potilaat

Huomautukset:

- Sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.
- Demingin regressiomalli olettaa kaikkien näytteiden olevan riippumattomia; luottamusvälien arviointiin käytettiin jackknife-menetelmää.

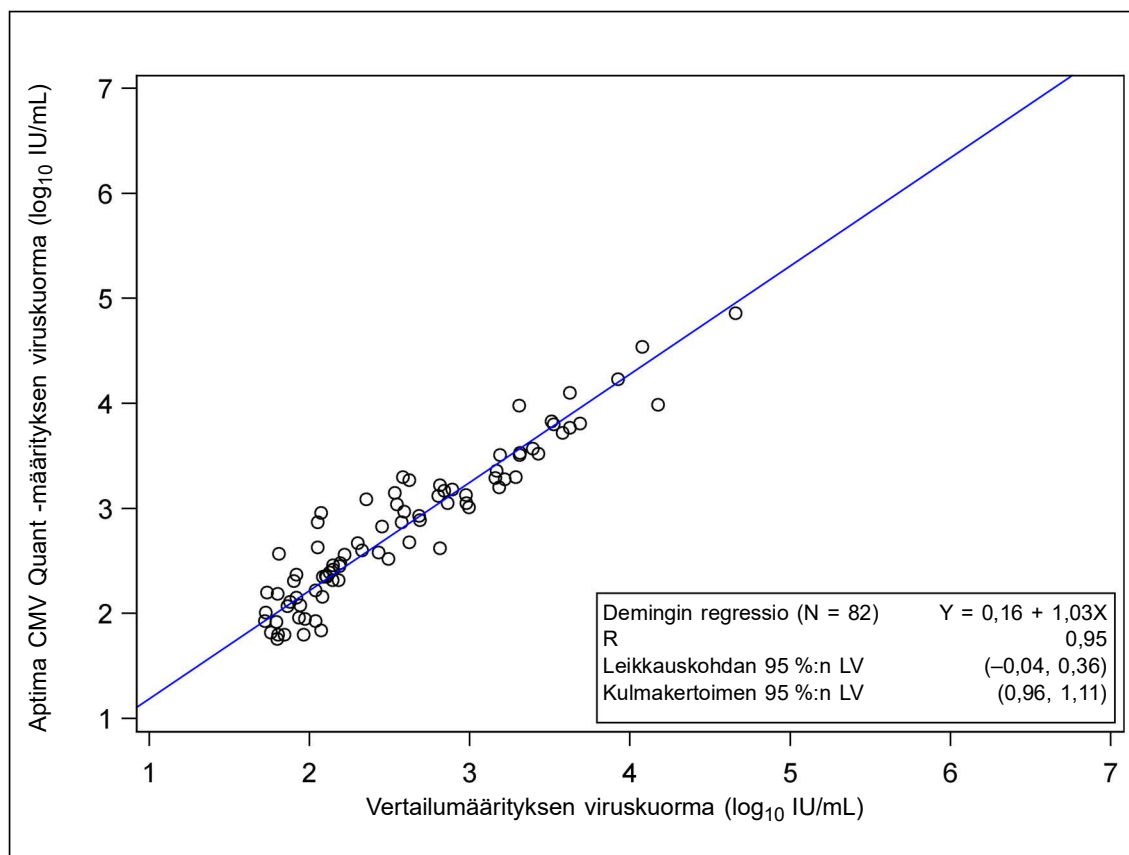


Kuva 16. Viruskuormien Demingin lineaarisen regression kuvaaja (kliiniset näytteet: vain SOTR:t)

LV = luottamusväli, SOTR:t = elinsiirtopotilaat R = korrelaatiokerroin

Huomautukset:

- Sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.
- Demingin regressiomalli olettaa kaikkien näytteiden olevan riippumattomia; luottamusvälien arviointiin käytettiin jackknife-menetelmää.

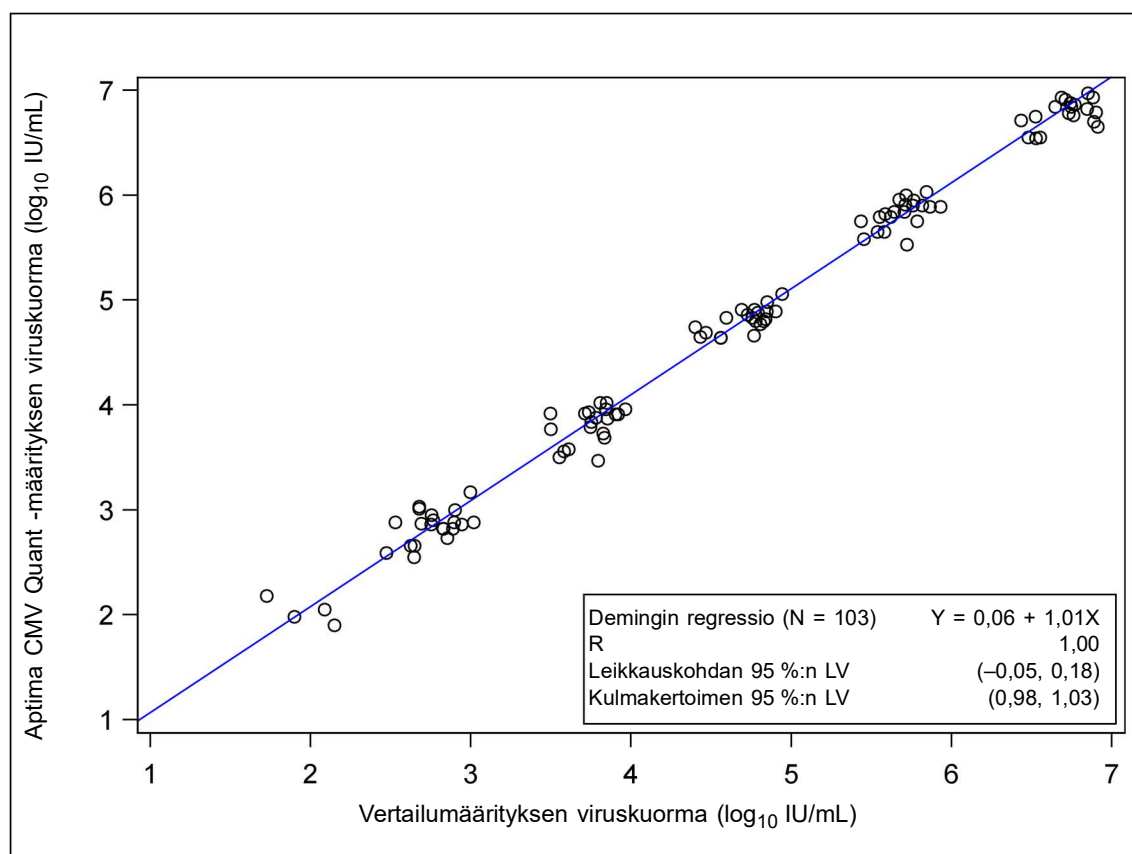


Kuva 17. Viruskuormien Demingin lineaarisen regression kuvaaja (kliiniset näytteet: vain HSCTR:t)

LV = luottamusväli, HSCTR:t = hematopoettisten kantasolujen siirtopotilaat, R = korrelaatiokerroin

Huomautukset:

- Sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.
- Demingin regressiomalli olettaa kaikkien näytteiden olevan riippumattomia; luottamusvälien arviointiin käytettiin jackknife-menetelmää.



Kuva 18. Viruskuormien Demingin lineaarisen regression kuvaaja (keinotekoiset näytteet)

LV = luottamusväli, R = korrelaatiokerroin

Huomautukset:

- Sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.
- Demingin regressiomalli olettaa kaikkien näytteiden olevan riippumattomia; luottamusvälien arviointiin käytettiin jackknife-menetelmää.

Parien keskimääräinen ero

Taulukko 32 alla esittää parien keskimääräisen eron Aptima CMV Quant -määrityksen ja hyväksytyt testin välillä edustavilla päätösväleillä.

Taulukko 32: Parillisten viruskuormaerojen keskiarvo edustavilla päätösväleillä näytetyypin ja siirryhmän mukaan

Näytetyyppi	Siirryhmä	Edustavat päätösvälit ^a (log ₁₀ IU/mL)	Parillisten näytteiden kokonaismäärä ^b (N)	Keskiarvo (SE)	95 %:n LV	
Kliininen	Yhteensä	Kaikki	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)	
		≥ 2,1 – < 3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)	
		≥ 3,0 – <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)	
		≥ 4,0 – <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)	
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)	
	SOTR:t	Kaikki	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)	
		≥ 2,1 – < 3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)	
		≥ 3,0 – <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)	
		≥ 4,0 – <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)	
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)	
	HSCTR:t	Kaikki	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)	
		≥ 2,1 – < 3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)	
		≥ 3,0 – <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)	
		≥ 4,0 – <5,0	3	0,16 (0,188)	(–0,65, 0,97)	
		≥ 5,0	0	NC (NC)	NC	
	Keinotekoinen	–	Kaikki	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
			≥ 2,1 – < 3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
			≥ 3,0 – <4,0	21	0,05 (0,036)	(–0,03, 0,12)
			≥ 4,0 – <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
			≥ 5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

LV = luottamusväli, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, NC = ei laskettavissa, SE = keskiahajonta, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

^a Parilliset näytteet kohdennetaan päätösväleihin hyväksytyt testituloksen perusteella.

^b Niiden parillisten näytteiden määrä, joiden tulokset olivat kummankin määrityksen yhteisellä lineaarisella alueella.

Harha valituilla viruskuormatasoilla

Alla oleva Taulukko 33 esittää harhan Aptima CMV Quant -määrityksen ja hyväksytyin testin välillä viidellä viruskuormatasolla 2,1 log₁₀ IU/mL – 7,0 log₁₀ IU/mL liittyvien muuntamattomien vastaineiden kanssa.

Taulukko 33: Harha / systemaattinen ero valituilla viruskuormatasoilla näytetyypin ja siirteryhmän mukaan

Näytetyyppi	Siirteryhmä	Valitut viruskuormatasot log ₁₀ IU/mL (IU/mL)	Systemaattinen ero ^a log ₁₀ IU/mL (IU/mL)
Kliininen	Yhteensä	2,1 (137)	0,20 (1797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1948,2)
		3,3 (1800)	0,21 (2489,1)
		3,9 (7943,3)	0,21 (5045,3)
		7,0 (10000000)	0,22 (4162789,2)
	SOTR:t	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2402,4)
		3,3 (1800)	0,19 (2941,7)
		3,9 (7943,3)	0,19 (5490,5)
		7,0 (10000000)	0,21 (4151107,2)
	HSCTR:t	2,1 (137)	0,23 (180,1)
		2,7 (500)	0,25 (430,5)
		3,3 (1800)	0,27 (1327,2)
		3,9 (7943,3)	0,29 (5564,7)
		7,0 (10000000)	0,40 (6897935,4)
Keinotekoinen	–	2,1 (137)	0,07 (33420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33467,9)
		3,3 (1800)	0,08 (33638,0)
		3,9 (7943,3)	0,08 (34442,0)
		7,0 (10000000)	0,10 (1342167,4)

HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

^aSystemaattinen ero on tulosmuuttujan (Y) ja viruskuorman (X) välinen erotus, joka johdetaan kullakin valituilla viruskuormatasoilla käyttämällä Demingin regression arvioita kulmakertoimelle ja leikkauskohdalle.

Sallittu kokonaisero (ATD)

Taulukko 34 sekä Kuva 19 – Kuva 22 alla esittävät ATD-tulokset käyttämällä parillisia eroja Aptima CMV Quant -määrityksen ja hyväksytyn testin välillä verrattuna niiden keskiarvoon edustavilla kynnysarvoilla ja parillisten tulosten prosenttiosuuden ATD-vyöhykkeellä.

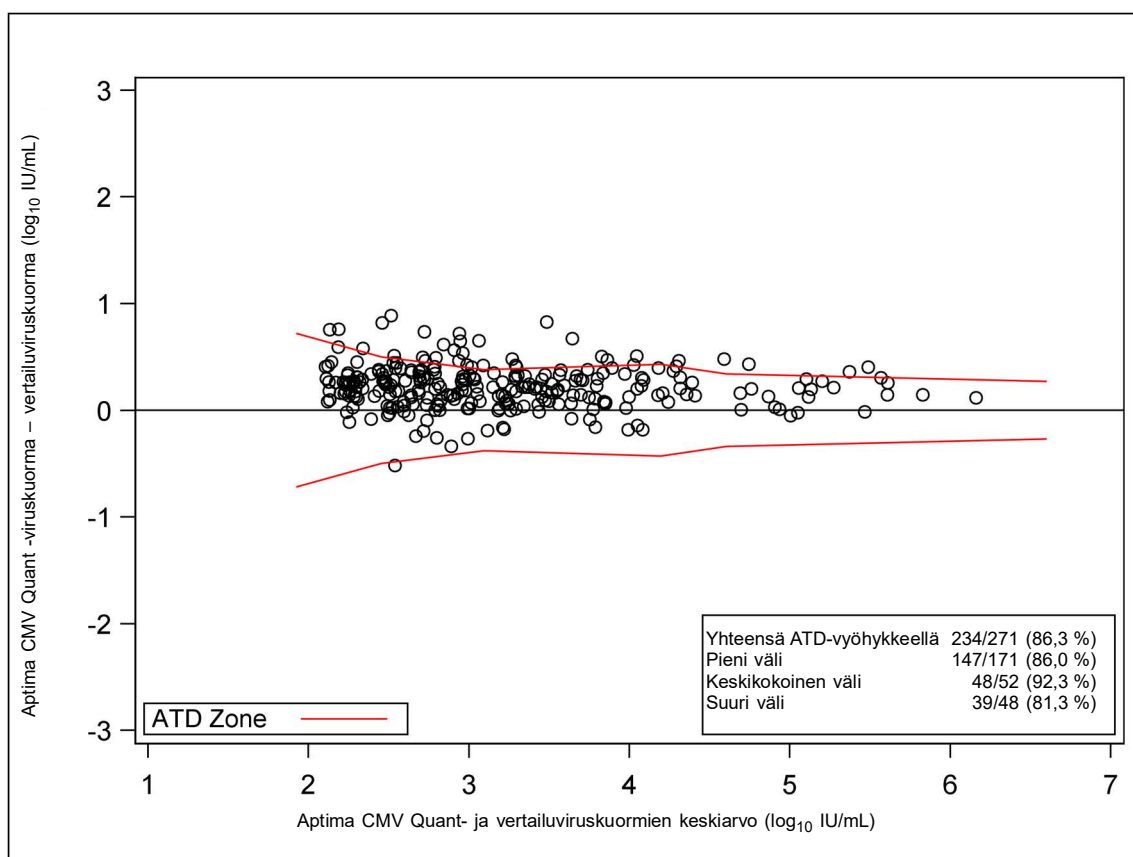
Taulukko 34: Parillisten näytteiden erojen prosenttiosuus sallitun kokonaiseron (ATD) vyöhykkeellä eri viruskuormaväleillä näytetyypin ja siirryhmän mukaan

Näytetyyppi	Siirryhmä	Viruskuormaväli ^a (log ₁₀ IU/mL)	N ^b	Parillisten näytteiden erot ATD-vyöhykkeellä				
				n (%)	Prosenttipisteet			
					2,5 %	5 %	95 %	97,5 %
Kliininen	Yhteensä	Kaikki	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Matala (≥ 2,1 – < 3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Keskitaso (≥ 3,3 – < 3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Korkea (≥ 3,9 – <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
	SOTR:t	Kaikki	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Matala (≥ 2,1 – < 3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Keskitaso (≥ 3,3 – < 3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Korkea (≥ 3,9 – <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
	HSCTR:t	Kaikki	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Matala (≥ 2,1 – < 3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Keskitaso (≥ 3,3 – < 3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Korkea (≥ 3,9 – <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Keinotekoinen	–	Kaikki	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Matala (≥ 2,1 – < 3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Keskitaso (≥ 3,3 – < 3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Korkea (≥ 3,9 – <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

^a Parilliset näytteet kohdennetaan päätösväleihin hyväksytyn testituloksen perusteella.

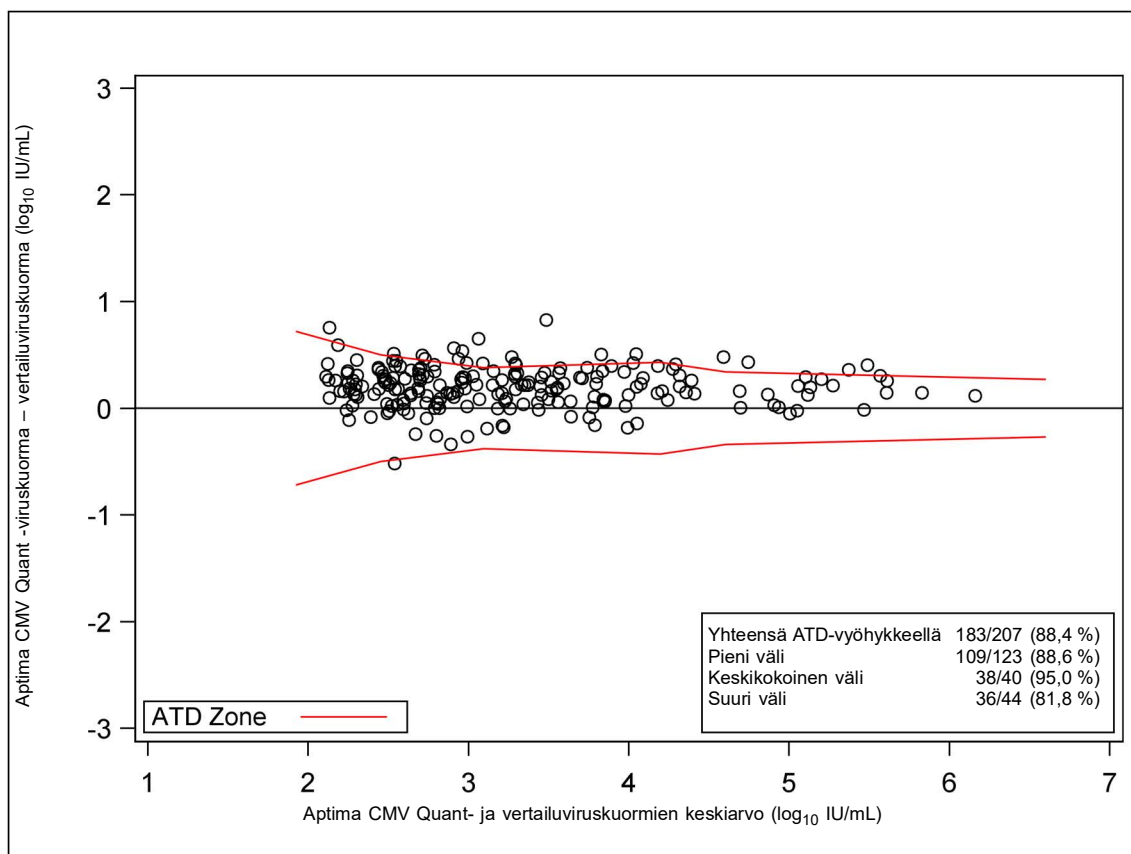
^b Niiden parillisten näytteiden määrä, joiden tulokset olivat kummankin määrityksen yhteisellä lineaarisella alueella.



Kuva 19. Parillisten näytteiden ja ATD-vyöhykkeen erokuvaaja (kliiniset näytteet: SOTR:t ja HSCTR:t yhdessä)

ATD = sallittu kokonaisero, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

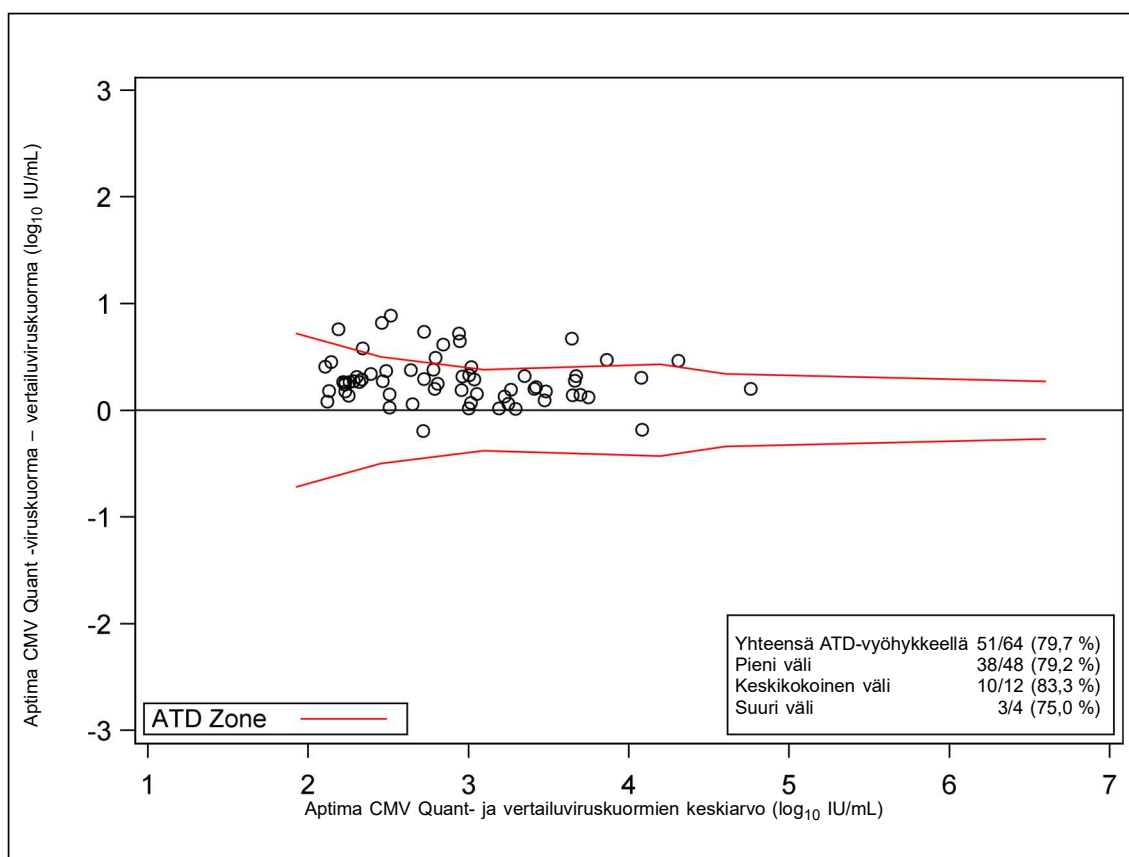
Huomautus: Sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.



Kuva 20. Parillisten näytteiden ja ATD-vyöhykkeen erokuvaaja (kliiniset näytteet: vain SOTR:t)

ATD = sallittu kokonaisero, SOTR:t = elinsiirtopotilaat

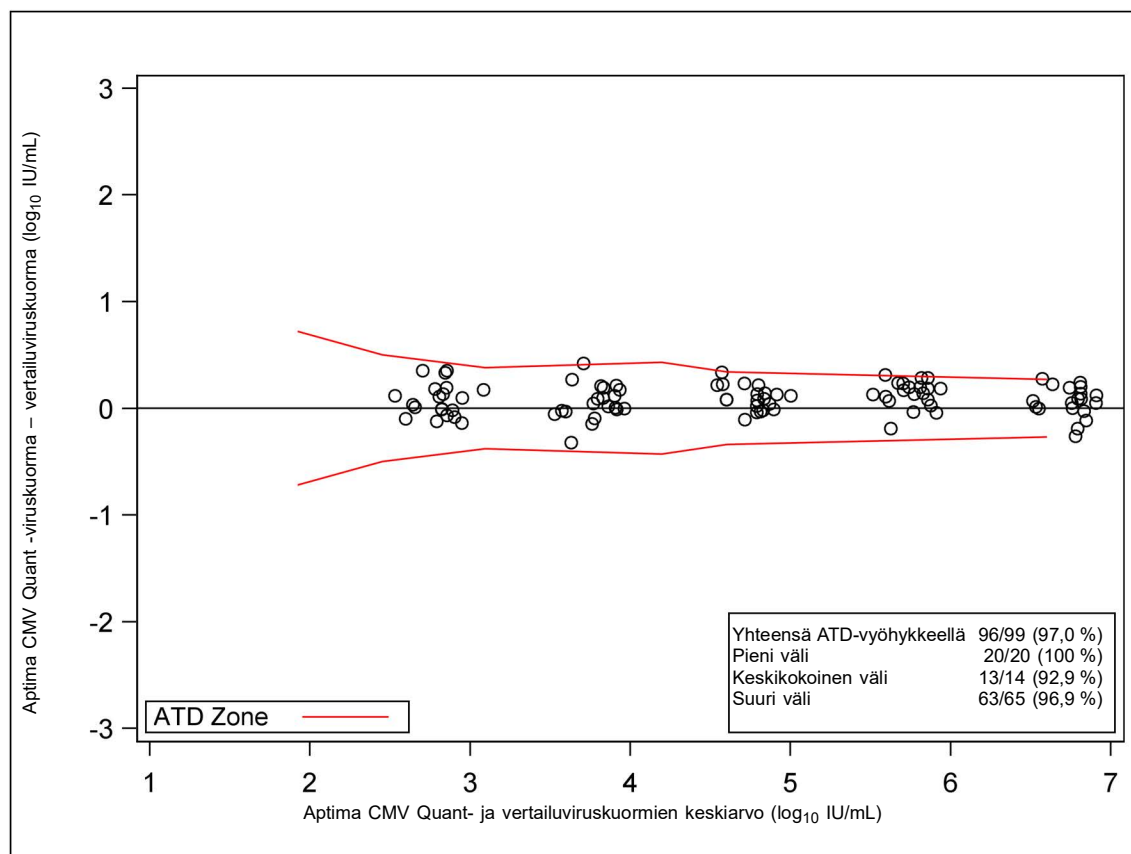
Huomautus: sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.



Kuva 21. Parillisten näytteiden ja ATD-vyöhykkeen erokuvaaja (kliiniset näytteet: vain HSCTR:t)

ATD = sallittu kokonaisero, HSCTR:t = hematopoeettisten kantasolujen siirtopotilaat

Huomautus: sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyksen yhteisellä lineaarisella alueella.



Kuva 22. Parillisten näytteiden ja ATD-vyöhykkeen erokuvaaja (keinotekoiset näytteet)

ATD = sallittu kokonaisero

Huomautus: Sisältää parilliset näytteet, joiden tulokset olivat kummankin määrittelyn yhteisellä lineaarisella alueella.

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 ja versiohistoria



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Katso maakohtaisen teknisen tuen ja asiakaspalvelun sähköpostiosoite ja puhelinnumero osoitteesta www.hologic.com/support.

Euroopan unionissa laitteeseen liittyen tapahtuvista vakavista vaaratilanteista pitää ilmoittaa valmistajalle ja sen jäsenvaltion toimivaltaiselle viranomaiselle, jossa käyttäjä ja/tai potilas asuu.

Hologic, Aptima ja Panther Fusion ovat Hologic, Inc:n 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.

© 2021-2024 Hologic, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

AW-27747-1701, versio 002

2024-06

Versiohistoria	Päivämäärä	Kuvaus
AW-27747 versio 001	Kesäkuu 2023	<ul style="list-style-type: none"> Aptima CMV Quant -määrittelyn käyttöohjeen AW-27747 vers. 001 on laadittu AW-25509-vers. 003 pohjalta IVDR-asetuksen vaatimusten täyttämiseksi. Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä lisätty Yleiset tiedot päivitetty Vaaratiedot päivitetty. Analyttinen suorituskyky -kohta ja Toimitetut materiaalit -taulukko päivitetty. Kliininen suorituskyky lisätty: Kliininen yhdenmukaisuus, Menetelmien vertailu, Parien keskimääräinen ero, Harha valituilla viruskuormatasoilla ja Sallittu kokonaisero (ATD). Päivitetty yhteystiedot, mukaan lukien: EY-edustaja, CE-merkintä, Australian edustajan tiedot ja tekninen tuki. Sisältää sekalaisia tyyli- ja muotoilupäivityksiä.
AW-27747 versio 002	Kesäkuu 2024	<ul style="list-style-type: none"> Muutettu sisältämään plasmanäytteen laimennuksen työnkulku Päivitetty kohdat luetellaan alla: <ul style="list-style-type: none"> Varoitukset ja varotoimet Näytteenotto ja näytteiden säilytys Materiaalit, jotka tarvitaan mutta jotka ovat saatavissa erikseen Panther-järjestelmän testausmenetelmä Tulosten tulkinta Analyttinen spesifisyys