

Aptima™ CMV Quant Assay

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per l'esportazione dagli USA

Informazioni generali	2
Usò previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test	2
Principi della procedura	2
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione	3
Avvertenze e precauzioni	3
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	7
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	8
Campioni caricati sul Panther System	11
Trasporto dei campioni biologici	11
Panther System	12
Reagenti e materiali forniti	12
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	14
Materiali opzionali	15
Procedura di analisi del Panther System	15
Note procedurali	22
Controllo della qualità	23
Calibrazione del test	23
Controlli positivi e negativi	23
Calibratore interno/Controllo interno	23
Interpretazione dei risultati	24
Limiti	25
Prestazioni analitiche	26
Limite di rilevamento utilizzando il 1o standard internazionale dell'OMS	26
Limite di rilevamento (LoD) di genotipi e mutanti farmacoresistenti del citomegalovirus (CMV)	27
Range lineare	29
Linearità nei genotipi del CMV	31
Limite inferiore di quantificazione utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS	33
Determinazione del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) di genotipi e di mutanti farmacoresistenti del citomegalovirus (CMV)	35
Riconducibilità al primo standard internazionale dell'OMS	38
Precisione	40
Sostanze potenzialmente interferenti	41
Specificità	42
Specificità analitica	43
Contaminazione crociata	44
Correlazione fra metodi	44
Riproducibilità	46
Prestazioni cliniche	48
Concordanza clinica	48
Comparazione del metodo	54
Differenza accoppiata media	59
Bias a livelli selezionati di carica virale	60
Differenza totale ammissibile (ATD)	61
Bibliografia	66
Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni	67

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima™ CMV Quant Assay è un test di amplificazione degli acidi nucleici in vitro per la quantificazione del DNA del citomegalovirus umano nel plasma umano raccolto in EDTA e nel sangue intero, eseguito sul Panther™ System completamente automatizzato.

Il test Aptima CMV Quant Assay è destinato all'uso come ausilio nella diagnosi e nella gestione dei pazienti sottoposti a trapianto di organi solidi e di cellule staminali emopoietiche.

Il test Aptima CMV Quant Assay non è destinato all'uso come test di screening per rilevare la presenza del CMV nel sangue o nei prodotti ematici.

Riepilogo e spiegazione del test

Il CMV umano è un virus a DNA ubiquitario a doppia elica lineare di 240 kb che appartiene alla famiglia degli herpes virus. A seconda della popolazione studiata e dell'area geografica, la sieroprevalenza da CMV varia dal 45 al 100% in tutto il mondo^{1,2}. Nei soggetti ospiti immunocompetenti, l'infezione da CMV è generalmente asintomatica e autolimitata. Tuttavia, nei soggetti immunocompromessi, come ad esempio i pazienti sottoposti a trapianto e quelli infetti dal virus dell'HIV, il CMV è un'importante causa di morbilità e mortalità.

Analogamente ad altri virus erpetici, dopo l'infezione primaria, il CMV stabilisce un'infezione latente permanente che può riattivarsi sporadicamente. Nei pazienti sottoposti a trapianto, il trasferimento di CMV latente nell'innesto o la riattivazione dell'infezione da CMV latente nel soggetto ospite può provocare una replicazione virale diffusa e tale diffusione a più organi, può risultare spesso pericolosa per la vita³.

Il test quantitativo di amplificazione degli acidi nucleici è il metodo preferito per il monitoraggio dell'infezione e della malattia da CMV nei pazienti sottoposti a trapianto in virtù della rapidità e della sensibilità che lo caratterizzano⁴. Secondo recenti linee guida è consigliabile un monitoraggio almeno settimanale della carica virale del CMV al fine di orientare le decisioni relative alla terapia anti-CMV e monitorare la risposta alla stessa^{5,6,7,8}. In generale, valori di carica virale più elevati sono correlati a un aumento del rischio di malattia da CMV^{4,9}. Pertanto, la quantificazione del DNA del CMV in combinazione con la manifestazione clinica e altri marker di laboratorio è cruciale nella gestione dei pazienti con infezione da CMV.

Principi della procedura

Il test Aptima CMV Quant Assay è un test di amplificazione degli acidi nucleici in vitro che utilizza la tecnologia di amplificazione mediata da trascrizione (TMA) in tempo reale sul Panther System* al fine di quantificare il DNA dei genotipi 1, 2, 3 e 4 del CMV. La progettazione del primer ha come obiettivo il gene UL56 altamente conservato al fine di garantire una quantificazione accurata del DNA del CMV. Il test è standardizzato al primo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC: 09/162) per il citomegalovirus umano.²¹

Il test Aptima CMV Quant Assay prevede tre fasi principali che si svolgono in una singola provetta sul Panther System: cattura del target, amplificazione del target tramite TMA e rilevamento dei prodotti di amplificazione (amplicone) mediante sonde identificate su base fluorescente (torce).

*Tra cui le varianti del Panther System.

Durante la cattura del target, il DNA virale viene isolato dai campioni biologici. Il campione biologico viene trattato con un detergente per solubilizzare l'envelope virale, denaturare le

proteine e rilasciare il DNA genomico virale. Gli oligonucleotidi di cattura si ibridizzano con le regioni altamente conservate del DNA del CMV, se presente, nel campione biologico analizzato. Il target ibridizzato viene successivamente catturato su microparticelle magnetiche che sono separate dal campione biologico in un campo magnetico. Le fasi di lavaggio servono a rimuovere i componenti esterni dalla provetta di reazione.

L'amplificazione del target avviene tramite TMA, che è un metodo di amplificazione degli acidi nucleici mediato da trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia di DNA (contenente una sequenza promotrice della polimerasi dell'RNA T7) della sequenza target. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple di amplicone di RNA dal modello della copia di DNA.

Il rilevamento si ottiene utilizzando torce di acido nucleico monofilamento presenti durante l'amplificazione del target e che si ibridizzano specificamente con l'amplicone in tempo reale. Ogni torcia presenta un fluoroforo e un quencher. Quando la torcia non viene ibridizzata con l'amplicone, il quencher è in stretta prossimità del fluoroforo e sopprime la fluorescenza. Quando la torcia si lega all'amplicone, il quencher viene allontanato dal fluoroforo, il quale emetterà un segnale a una lunghezza d'onda specifica quando eccitato da una sorgente di luce. Quando più torce si ibridizzano con l'amplicone, viene generato un segnale fluorescente più elevato. Il tempo impiegato dal segnale fluorescente per raggiungere una soglia specificata è proporzionale alla concentrazione iniziale di CMV. Ogni reazione presenta un calibratore interno/controllo interno (IC) che controlla le variazioni nel trattamento, nell'amplificazione e nel rilevamento del campione biologico. La concentrazione di un campione viene determinata dal software del Panther System che utilizza i segnali del CMV e dell'IC per ogni reazione e che li mette a confronto con le informazioni di calibrazione.

I risultati del test vengono convertiti da copie/mL a IU/mL utilizzando un'equazione del fattore di conversione incorporata nel software Panther. La stessa equazione del fattore di conversione viene utilizzata sia per i campioni di sangue intero sia per i campioni di plasma. Quando sul Panther System viene selezionato il fattore di conversione del sangue intero, ai risultati della carica virale del CMV per i campioni di sangue intero è applicato un fattore di diluizione pari a 4.

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione

L'SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegata agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativa al test Aptima CMV Quant Assay, fare riferimento all'identificativo unico del dispositivo di base (Basic Unique Device Identifier - BUDI): **54200455DIAGAPTCMVAP**.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Al fine di ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System) appropriato prima di eseguire questo test.

Pertinenti al laboratorio

- D. **ATTENZIONE:** i controlli di questo test contengono plasma umano. Il plasma è negativo all'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), agli anticorpi anti-HCV, agli anticorpi anti-HIV-1 e anti-HIV-2 e all'antigene dell'HIV quando analizzato con le procedure autorizzate

dalla US Food and Drug Administration. Inoltre, il plasma non è reattivo al DNA del CMV, al DNA dell'HBV, all'RNA dell'HCV e all'RNA dell'HIV-1 quando analizzato con test degli acidi nucleici autorizzati utilizzando campioni aggregati. Tutti i materiali provenienti da sangue umano devono essere considerati potenzialmente infettivi ed essere maneggiati nel rispetto delle Precauzioni universali^{10,11,12}.

- E. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima CMV Quant Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.
- F. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- G. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- H. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5 – 3,5% (0,35 M – 0,5 M).
- I. Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con i campioni e i reagenti in conformità alle normative locali.^{10,11,12,13} Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.
- J. I controlli contengono azoturo di sodio come conservante. Non utilizzare tubi metallici per il trasferimento dei reagenti. Se soluzioni contenenti composti dell'azoturo di sodio vengono smaltite in un sistema idraulico, devono essere diluite e risciacquate con abbondanti quantità di acqua corrente. Queste precauzioni sono consigliate per evitare l'accumulo di depositi nelle tubazioni metalliche in cui potrebbero svilupparsi condizioni esplosive.
- K. Le buone pratiche standard per i laboratori molecolari includono il monitoraggio ambientale. Per monitorare l'ambiente di un laboratorio, si consiglia la seguente procedura.
 - 1. Munirsi di un bastoncino di ovatta e abbinarlo a una provetta per aliquota di campione (SAT) Aptima.
 - 2. Etichettare in maniera appropriata ogni SAT.
 - 3. Riempire ogni SAT con 1 mL di diluente dei campioni Aptima.
 - 4. Per raccogliere i campioni dalle superfici, inumidire leggermente un bastoncino di ovatta con acqua deionizzata priva di nucleasi.
 - 5. Passare il bastoncino di ovatta sulla superficie di interesse con un movimento verticale dall'alto verso il basso. Ruotare il bastoncino di ovatta di circa mezzo giro mentre lo si passa sulla superficie.
 - 6. Collocare immediatamente nella provetta il bastoncino con il campione e roteare delicatamente il bastoncino nel diluente per estrarre gli eventuali materiali prelevati. Premere il bastoncino sul lato della provetta di trasporto per fare fuoriuscire quanto più liquido possibile. Gettare il bastoncino e tappare la provetta.
 - 7. Ripetere queste fasi per i rimanenti bastoncini con i campioni.
 - 8. Analizzare il bastoncino con il test molecolare.

Pertinenti ai campioni biologici

- L. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le Precauzioni universali^{10,11,12}. È necessario stabilire adeguati metodi di manipolazione e smaltimento in conformità alle normative locali¹¹. Questa procedura può essere eseguita esclusivamente dal personale che abbia ricevuto un'adeguata formazione nell'uso del test Aptima CMV Quant Assay e nella manipolazione di materiali infetti.

- M. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione dei campioni biologici per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- N. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol quando si allentano o si tolgono i tappi dei contenitori dei campioni biologici. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarci che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.

Pertinenti al test

- O. Non utilizzare il kit di reagenti, il calibratore o i controlli dopo la data di scadenza.
- P. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti del test provenienti da kit con numeri di lotto master diversi. I liquidi del test possono avere numeri di lotto diversi. I controlli e il calibratore possono avere numeri di lotto diversi.
- Q. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- R. Tappare e conservare tutti i reagenti del test alle temperature specificate. L'uso di reagenti del test conservati in modo improprio può influire sulle prestazioni del test. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti e Procedura di analisi del Panther System* per maggiori informazioni.
- S. Non combinare reagenti o liquidi del test senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.
- T. Evitare il contatto del TER con la cute, gli occhi e le mucose. In caso di contatto con questo reagente, lavare con acqua. Se si verificano versamenti di reagente, diluire con acqua e seguire le procedure del centro appropriate.
- U. Alcuni reagenti di questo kit sono etichettati con simboli di rischio e sicurezza.

Nota: Le comunicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per le informazioni sulle indicazioni di pericolo specifiche per la propria regione, fare riferimento alle SDS specifiche per regione nella libreria delle schede di dati di sicurezza, all'indirizzo www.hologicsds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli, all'indirizzo <http://www.hologic.com/package-inserts>

Informazioni sui rischi UE	
	<p>CMV Kit Controls Human Serum/Human Plasma 95-100% Azoturo di sodio <1%</p>
	<p>AVVERTENZA H312 - Nocivo per contatto con la pelle H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata EUH032 - A contatto con acidi libera gas molto tossici P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
	<p>Kit Calibrator HEPES 15-20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5% Succinic Acid 1-5%</p> <p>— — H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>

 	<p>Target Enhancer Reagent (TER) <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 5-10%</i></p> <p>PERICOLO H302 - Nocivo se ingerito H314 - Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari P260 - Non respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso P303 + P361 + P353 - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia P305 + P351 + P338 - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: Sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. P310 - Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
<p>—</p>	<p>Promoter Reagent <i>Magnesium Chloride 55-60%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
<p>—</p>	<p>Amplification Reagent <i>Magnesium Chloride 65-70%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
<p>—</p>	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15-20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10%</i> <i>Succinic Acid 1-5%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>
<p>—</p>	<p>Enzyme Reagent <i>HEPES 1-5%</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata P273 - Non disperdere nell'ambiente P280 - Proteggere gli occhi/il viso</p>

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. La seguente tabella mostra le condizioni di conservazione e la stabilità di reagenti, controlli e calibratore.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conservazione	Stabilità
Reagente di amplificazione qCMV	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione e amplificazione qCMV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
Reagente enzimatico qCMV	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione enzimatica qCMV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
Reagente promotore qCMV	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione promotore qCMV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
Reagente di cattura del target qCMV	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
PCAL (Calibratore positivo) qCMV	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
NC CONTROL – (Controllo negativo) qCMV	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
LPC CONTROL + (Controllo positivo basso) qCMV	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
HPC CONTROL + (Controllo positivo alto) qCMV	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 24 ore
Reagente di potenziamento per l'amplificazione del target qCMV	Da 15 °C a 30 °C	Da 15 °C a 30 °C	30 giorni ^a

^a Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther System, devono essere immediatamente riportati alle loro temperature di conservazione appropriate.

- B. Smaltire tutti i reagenti ricostituiti inutilizzati, il reagente di cattura del target (TCR) e il reagente di potenziamento per l'amplificazione del target (TER) dopo 30 giorni o trascorsa la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data sia precedente.
- C. I reagenti conservati sul Panther System sono stabili per 96 ore quando sono conservati sullo strumento. I reagenti possono essere caricati nel Panther System fino a 8 volte. Il Panther System registra ogni volta che i reagenti vengono caricati.
- D. Dopo lo scongelamento del calibratore, la soluzione deve essere trasparente, ossia non torbida o con precipitati. Assicurarsi che i precipitati siano dissolti. Non utilizzare il calibratore se sono presenti gel, precipitato o torbidità.
- E. Il reagente promotore liofilizzato e il reagente promotore ricostituito sono fotosensibili. Proteggere questi reagenti dalla luce durante la conservazione e la preparazione per l'uso.
- F. Il reagente di potenziamento per l'amplificazione del target qCMV deve essere a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C prima dell'uso.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Nota: per la conservazione dei campioni si consigliano esclusivamente provette secondarie in plastica.

Per preparare il plasma, è possibile utilizzare i campioni di sangue intero raccolti nelle seguenti provette in vetro o plastica:

- Provette contenenti anticoagulanti EDTA
- Provette di preparazione del plasma (PPT)

A. Raccolta dei campioni biologici

1. Plasma: il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Separare il plasma dai globuli rossi granulari secondo le istruzioni del produttore relative alla provetta utilizzata. Il plasma può essere analizzato sul Panther System in una provetta primaria o trasferito in una provetta secondaria come ad esempio una provetta per aliquota di campione Aptima (SAT). Al fine di ottenere il volume di campione pari a 500 µL, il volume minimo di plasma per le provette di raccolta primaria è massimo 1.200 µL. Al fine di ottenere il volume di campione pari a 500 µL per le provette secondarie, il volume minimo è pari a 700 µL. La tabella che segue identifica i requisiti di volume morto per ciascun tipo di provetta primaria e secondaria.

Provetta (dimensioni e tipo)	Volume morto su Panther
Provetta per aliquota di campione (SAT) Aptima	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13X100 mm	0,5 mL
13x100 mm con Gel	0,3 mL
16x100 mm con Gel	0,7 mL

Se non analizzato immediatamente, il plasma può essere conservato in conformità alle specifiche riportate di seguito. Se trasferito in una provetta secondaria, il plasma può essere congelato a -20 °C o -70 °C. Non effettuare oltre 3 cicli di congelamento-scongelo. Non congelare i campioni di plasma nelle provette di raccolta primaria EDTA.

2. Prima di essere analizzato sul Panther System, il sangue intero deve essere trattato utilizzando provette preriempite di diluente per sangue intero. Non effettuare oltre 3 cicli di congelamento-scongelo per campioni di sangue intero non trattati.

B. Condizioni di conservazione dei campioni biologici

1. Campioni di plasma EDTA

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura di 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il plasma può quindi essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella provetta di raccolta primaria o secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un periodo massimo di 24 ore.
- Nella provetta di raccolta primaria o secondaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella provetta secondaria a -20 °C o -70 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

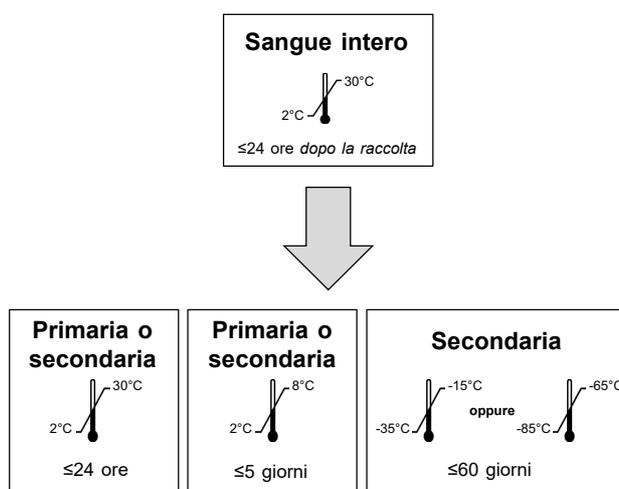


Figura 1. Condizioni di conservazione per le provette contenenti EDTA

2. Campioni nelle PPT

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura tra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Il plasma può quindi essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella PPT a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un periodo massimo di 24 ore.
- Nella PPT a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni.
- Nella PPT a -20 °C o -70 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

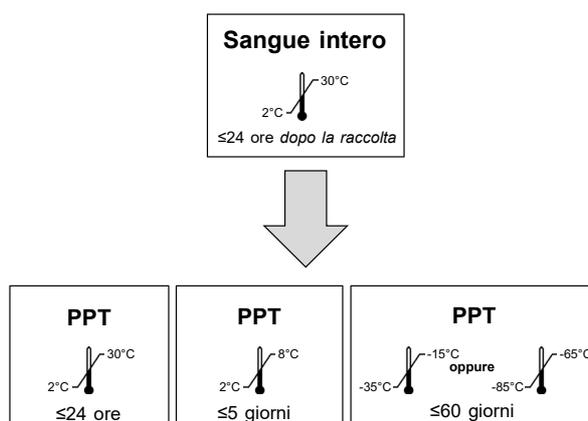


Figura 2. Condizioni di conservazione per le PPT

3. Campioni di sangue intero

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C fino a 36 ore dopo la raccolta del campione biologico. Il sangue intero raccolto può essere conservato in una delle seguenti condizioni:

- Nella provetta di raccolta primaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni.
- Nella provetta di raccolta primaria a -20 °C o -70 °C per un periodo massimo di 60 giorni.

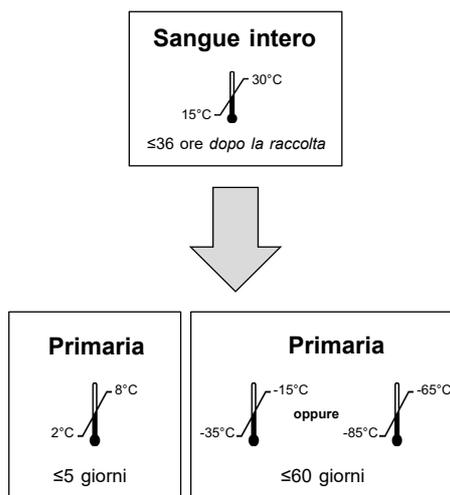


Figura 3. Condizioni di conservazione per campioni di sangue intero

Campioni caricati sul Panther System

I campioni di plasma e di sangue intero trattato possono essere lasciati sul Panther System senza tappo per un periodo massimo di 8 ore. I campioni possono essere rimossi dal Panther System ed essere analizzati a condizione che il tempo totale di permanenza sullo strumento non superi le 8 ore prima del pipettaggio del campione da parte del Panther System.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni come descritto in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.

Nota: i campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti del test Aptima CMV Quant Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo identificativo.

Reagenti e materiali forniti

Kit Aptima CMV Quant Assay, 100 test (n. di cat. PRD-05074)

(1 scatola del test, 1 scatola di reagente di potenziamento per l'amplificazione del target, 1 kit del calibratore e 1 kit dei controlli)

Scatola del test Aptima CMV Quant Assay

(alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione qCMV <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico qCMV <i>Transcriptasi inversa e polimerasi dell'RNA essiccate in soluzione tamponata HEPES.</i>	1 fiala
PRO	Reagente promotore qCMV <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	1 fiala
AR	Soluzione di ricostituzione e amplificazione qCMV <i>Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica qCMV <i>Soluzione tamponata HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Soluzione di ricostituzione promotore qCMV <i>Soluzione acquosa contenente glicerolo e conservanti.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Reagente di cattura del target qCMV <i>Acidi nucleici in una soluzione salina tamponata contenente acidi nucleici non infettivi in fase solida e calibratore interno.</i>	1 x 72,0 mL
	Collari di ricostituzione	3
	Scheda del codice a barre del lotto master	1 scheda

Scatola del reagente di potenziamento per l'amplificazione del target per Aptima CMV Quant

(alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
TER	Reagente di potenziamento per l'amplificazione del target qCMV <i>Una soluzione concentrata di idrossido di litio.</i>	1 x 46,0 mL

Kit calibratore per Aptima CMV Quant (n. di cat. PRD-05075)

(alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL	Calibratore positivo qCMV <i>DNA plasmidico in soluzione tamponata.</i>	5 x 2,5 mL
	Etichetta del codice a barre del calibratore	—

Kit dei controlli per Aptima CMV Quant (n. di cat. PRD-05076)

(alla ricezione, conservare a una temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
NC	Controllo negativo qCMV <i>Plasma umano defibrinato negativo al CMV contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	Controllo positivo basso qCMV <i>CMV inattivato in plasma umano defibrinato contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	Controllo positivo alto qCMV <i>CMV inattivato in plasma umano defibrinato contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 0,8 mL
	Etichetta dei codici a barre dei controlli	—

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. cat.
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Kit sessione analitica Panther per test in tempo reale (esclusivamente per test in tempo reale)	PRD-03455 (5.000 test)
<i>Kit di liquidi per Aptima™ Assay (noto anche come kit di liquidi universali) contiene soluzione di lavaggio Aptima, tampone per liquido di disattivazione Aptima e reagente oleoso Aptima</i>	303014 (1.000 test)
<i>Unità multiprovetta (MTU)</i>	104772-02
<i>Kit dei sacchetti di rifiuti Panther</i>	902731
<i>Coperchio del contenitore di rifiuti Panther</i>	504405
Oppure kit procedurale Panther System <i>(durante l'esecuzione di test TMA non in tempo reale parallelamente a test TMA in tempo reale) contiene MTU, sacchetti per rifiuti, coperchi del contenitore di rifiuti, rilevamento automatico e liquidi del test</i>	303096 (5.000 test)
Provette di diluente per sangue intero (esclusivamente per il trattamento di campioni di sangue intero)	PRD-06783 (100 provette preriempite per sacchetto)
Puntali da 1.000 µL con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso <i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante locale per informazioni specifiche sulla regione.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 8.25% (0,7 M – 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Tappi non penetrabili di ricambio	103036A
Tappi non penetrabili Hologic di ricambio (tappo monouso per il trattamento del sangue intero)	PRD-06720
Tappi di ricambio per reagenti	
<i>Flaconi per la ricostituzione dei reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori</i>	<i>CL0041 (100 tappi)</i>
<i>Flacone TCR</i>	<i>CL0040 (100 tappi)</i>
<i>Flacone TER</i>	<i>903302 (100 tappi)</i>
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Puntali	—

Materiale	N. cat.
Opzioni di provette di raccolta primarie (EDTA e PPT):	—
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
Centrifuga	—
Miscelatore vortex	—

Materiali opzionali

Materiale	N. cat.
Opzioni provetta secondaria:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Provette per aliquota di campione (SAT) Aptima (confezione da 100)</i>	503762
Tappo per provetta di trasporto (confezione da 100) <i>tappo per SAT</i>	504415
Diluyente dei campioni Aptima	PRD-03003
Kit diluyente dei campioni Aptima <i>contiene il diluyente dei campioni Aptima, 100 SAT e 100 tappi</i>	PRD-03478
Pipette di trasferimento	—
Bastoncini di ovatta	—
Agitatore oscillante per provette	—

Procedura di analisi del Panther System

Nota: Per ulteriori informazioni procedurali, consultare il Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System) appropriato.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5% – 3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciar asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (fase A.1).
3. Pulire eventuali pipettatori. Utilizzare la procedura di pulizia descritta in precedenza (fase A.1).

B. Preparazione del calibratore e dei controlli

Consentire al calibratore e ai controlli di raggiungere una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C prima del trattamento, come indicato di seguito:

1. Rimuovere il calibratore e i controlli dal luogo in cui sono conservati (temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C) e collocarli a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C. Durante il processo di scongelamento, capovolgere delicatamente ciascuna provetta per miscelare accuratamente il contenuto. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Opzione. Per una miscelazione accurata, il calibratore e le provette di controllo possono essere collocati su un agitatore oscillante per provette. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Nota: nel capovolgere calibratore e controlli, non generare schiuma eccessiva. La schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel Panther System.

2. Quando il contenuto della provetta si è scongelato, asciugare l'esterno della provetta con un panno monouso pulito e asciutto.
3. Per prevenire la contaminazione, non aprire le provette.

C. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.

1. Per preparare il reagente di cattura del target (TCR), procedere nel modo seguente:
 - a. Togliere il TCR dal luogo in cui è conservato (2 °C e 8 °C). Controllare il numero di lotto sul flacone del TCR per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre dei lotti master.
 - b. Agitare immediatamente il flacone di TCR in modo vigoroso per 10 volte. Lasciare riscaldare il flacone di TCR a 15 °C e 30 °C per almeno 45 minuti. Durante questo periodo, roteare e capovolgere il flacone di TCR almeno ogni 10 minuti.

Opzione. Il flacone TCR può essere preparato su un agitatore oscillante per provette attenendosi a queste istruzioni: togliere il TCR dal luogo in cui è conservato (2 °C e 8 °C) e agitarlo immediatamente in modo vigoroso per 10 volte. Collocare il flacone di TCR su un agitatore oscillante per provette e lasciare il TCR a riscaldarsi a una temperatura tra 15 °C e 30 °C per almeno 45 minuti.

- c. Prima di utilizzarlo, assicurarsi che tutto il precipitato sia in soluzione e che le particelle magnetiche siano in sospensione.
2. Per ricostituire il reagente di amplificazione, il reagente enzimatico e il reagente promotore, procedere nel modo seguente:
 - a. Togliere dal luogo di conservazione (2 °C e 8 °C) i reagenti liofilizzati e le corrispondenti soluzioni di ricostituzione. Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato.
 - b. Assicurarsi che l'etichetta della soluzione di ricostituzione e l'etichetta del reagente liofilizzato abbiano colori corrispondenti. Controllare i numeri di lotto sulla scheda del codice a barre del lotto master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.
 - i. Aprire la fiala di reagente liofilizzato rimuovendo il sigillo metallico e il tappo di gomma.
 - ii. Inserire con decisione sulla fiala l'estremità indentata del collare di ricostituzione (nero) (Figura 4, fase 1).

- iii. Aprire il flacone della soluzione di ricostituzione corrispondente e appoggiare il tappo su una superficie di lavoro pulita e coperta.
 - iv. Appoggiare il flacone con la soluzione di ricostituzione su una superficie stabile (ad es., sul banco). Quindi capovolgere la fiala del reagente liofilizzato sul flacone con la soluzione di ricostituzione e fissare saldamente il collare al flacone con la soluzione di ricostituzione (Figura 4, fase 2).
 - v. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati (fiala fissata al flacone con la soluzione) per consentire alla soluzione di drenare nella fiala di vetro (Figura 4, fase 3).
 - vi. Raccogliere i flaconi assemblati e rotarli per almeno 10 secondi (Figura 4, fase 4).
 - vii. Attendere almeno 30 minuti per permettere al reagente liofilizzato di andare in soluzione.
 - viii. Dopo che il reagente liofilizzato è andato in soluzione, roteare i flaconi assemblati per almeno 10 secondi, quindi fare oscillare leggermente avanti e indietro la soluzione all'interno della fiala di vetro per miscelare bene.
- c. Inclinare di nuovo lentamente i flaconi assemblati per consentire a tutta la soluzione di drenare nuovamente nel flacone della soluzione di ricostituzione (Figura 4, fase 5).
 - d. Rimuovere con cautela il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 4, fase 6).
 - e. Rimettere il tappo sul flacone. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 4, fase 7).
 - f. Gettare via sia il collare di ricostituzione sia la fiala di vetro (Figura 4, fase 8).

Avvertenza: durante la ricostituzione dei reagenti, evitare la formazione di schiuma eccessiva. La schiuma pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel Panther System.

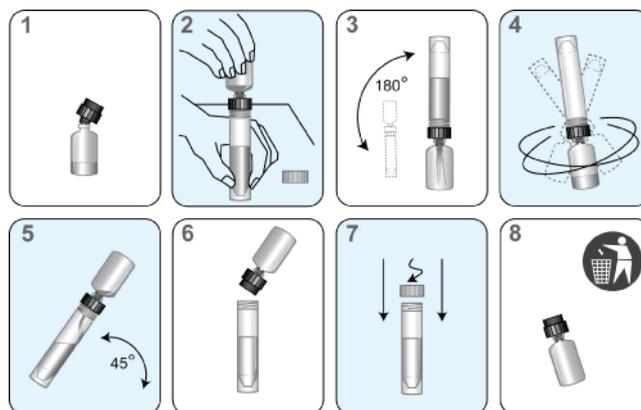


Figura 4. Processo di ricostituzione dei reagenti

3. Rimuovere il reagente di potenziamento per l'amplificazione del target qCMV dal luogo in cui è conservato (temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C). Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di apertura. Controllare il numero di lotto sul flacone del TER per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sul foglio dei codici a barre dei lotti master.

D. Preparazione di reagenti per i reagenti precedentemente preparati

1. Togliere dal luogo di conservazione (temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C) i reagenti precedentemente preparati. I reagenti di amplificazione, enzimatico e promotore e TCR precedentemente preparati devono raggiungere una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C prima dell'inizio del test.
2. Togliere il TER dal luogo in cui è conservato (temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C).
3. Prima di caricare il TCR precedentemente preparato sul sistema, eseguire la fase C.1 descritta in precedenza.
4. Roteare e capovolgere i reagenti di amplificazione, enzimatico e promotore per miscelarli bene prima di caricarli sul sistema. Quando si capovolgono i reagenti, evitare la formazione di schiuma eccessiva.

Opzione. I reagenti precedentemente preparati possono essere preparati su un agitatore oscillante per provette attenendosi a queste istruzioni: Rimuovere i reagenti dal luogo in cui sono conservati (temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C). Collocare i reagenti su un agitatore oscillante per provette e lasciarli riscaldare a una temperatura compresa tra 15 °C e 30 °C per almeno 30 minuti.

5. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

E. Manipolazione dei campioni di plasma

1. Assicurarsi che i campioni trattati nelle provette primarie o i campioni non diluiti nelle provette secondarie siano conservati correttamente secondo quanto indicato in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.
2. Assicurarsi che i campioni biologici congelati siano scongelati del tutto. Miscelare con vortex i campioni scongelati per 3 – 5 secondi per miscelarli accuratamente.
3. Lasciare che i campioni biologici raggiungano una temperatura tra 15 °C e 30 °C prima di sottoporli al trattamento. Per ulteriori informazioni sul caricamento dei campioni sullo strumento, vedere *Campioni caricati sul Panther System*.
4. Assicurarsi che ciascuna provetta di raccolta primaria contenga fino a 1.200 µL di campione biologico o che ciascuna provetta secondaria contenga almeno 700 µL di campione biologico. Consultare la tabella fornita in *Raccolta dei campioni biologici* per identificare i requisiti di volume morto per ciascun tipo di provetta primaria e secondaria.
5. Appena prima di caricare i campioni in una rastrelliera dei campioni, centrifugare ciascun campione biologico a 1000 – 3.000 g per 10 minuti. Non rimuovere i tappi a questo punto.

Per informazioni sul caricamento della rastrelliera e sulla rimozione dei tappi, vedere, fase G.2 di seguito.

F. Manipolazione dei campioni di sangue intero

1. Assicurarsi che i campioni biologici trattati nelle provette primarie siano conservati correttamente secondo quanto indicato nella sezione *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.
2. Assicurarsi che i campioni biologici congelati siano scongelati del tutto. Lasciare che i campioni biologici raggiungano una temperatura tra 15 °C e 30 °C prima di sottoporli al trattamento. Per ulteriori informazioni sul caricamento dei campioni sullo strumento, vedere *Campioni caricati sul Panther System*.
3. Capovolgere delicatamente le provette di sangue intero almeno 3 volte o miscelare delicatamente su un agitatore oscillante, fino a quando il sangue è omogeneo.
4. Prima di trattare il campione, procedere come segue su ciascun campione biologico.

- a. Il sangue nelle provette primarie deve essere miscelato accuratamente per inversione e il campione deve essere immediatamente trasferito nella provetta contenente il diluente per sangue intero.
 - b. Aggiungere 500 µL di campione biologico di sangue intero alla provetta preriempita di diluente per sangue intero.
 - c. Riposizionare il tappo e miscelare con vortex il campione per almeno 5 secondi.
- Per informazioni sul caricamento della rastrelliera e sulla rimozione dei tappi, vedere fase G.2 di seguito.

G. Preparazione del sistema

1. Configurare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System) e in *Note procedurali*. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni nella rastrelliera dei campioni. Eseguire i seguenti passaggi per ciascuna provetta del campione (campione biologico e, quando necessario, calibratore e controlli):

- a. Allentare il tappo di una delle provette del campione, senza però rimuoverlo.

Nota: prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol. Allentare delicatamente i tappi dei campioni.

- b. Caricare la provetta del campione nella rastrelliera dei campioni.
- c. Ripetere le fasi 2.a e 2.b per ciascun campione rimanente.
- d. Dopo che i campioni sono stati caricati nella rastrelliera dei campioni, rimuovere e gettare tutti i tappi delle provette del campione di una rastrelliera dei campioni. Per evitare la contaminazione, non fare passare i tappi sopra le altre rastrelliere dei campioni o sopra le provette del campione.
- e. Se necessario, utilizzare una pipetta di trasferimento monouso nuova per eliminare eventuali bolle o schiuma. La presenza di bolle nella provetta pregiudica il rilevamento del livello di liquido nel Panther System.
- f. Dopo aver rimosso l'ultimo tappo, caricare la rastrelliera dei campioni in uno scomparto dei campioni.

Nota: se contemporaneamente si eseguono altri test e si analizzano altri tipi di campioni, fissare il fermo campioni prima di caricare la rastrelliera dei campioni nello scomparto dei campioni.

- g. Ripetere le fasi da 2.a a 2.f per la successiva rastrelliera dei campioni.

H. Preparazione del sistema - Applicazione del fattore di conversione del campione biologico di sangue intero

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther System*.
2. Caricare la rastrelliera per campioni.
3. Applicare il fattore di conversione del sangue intero agli ordini di analisi dei test per i campioni di sangue intero.

Nota: il fattore di conversione del sangue intero può essere applicato a un'intera rastrelliera o a un singolo ordine di analisi.

Per applicare il fattore di conversione del sangue intero a un'intera rastrelliera di campioni di sangue intero:

- a. Nella schermata *Sample Rack Bay* (Scomparto rastrelliera dei campioni) fare doppio clic sulla rastrelliera caricata d'interesse. Viene visualizzata la *schermata Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera dei campioni) relativa alla rastrelliera selezionata.
- b. Selezionare **Dilute All (Diluisci tutto)**.

Viene visualizzata la finestra Dilution Factor (Fattore di diluizione).

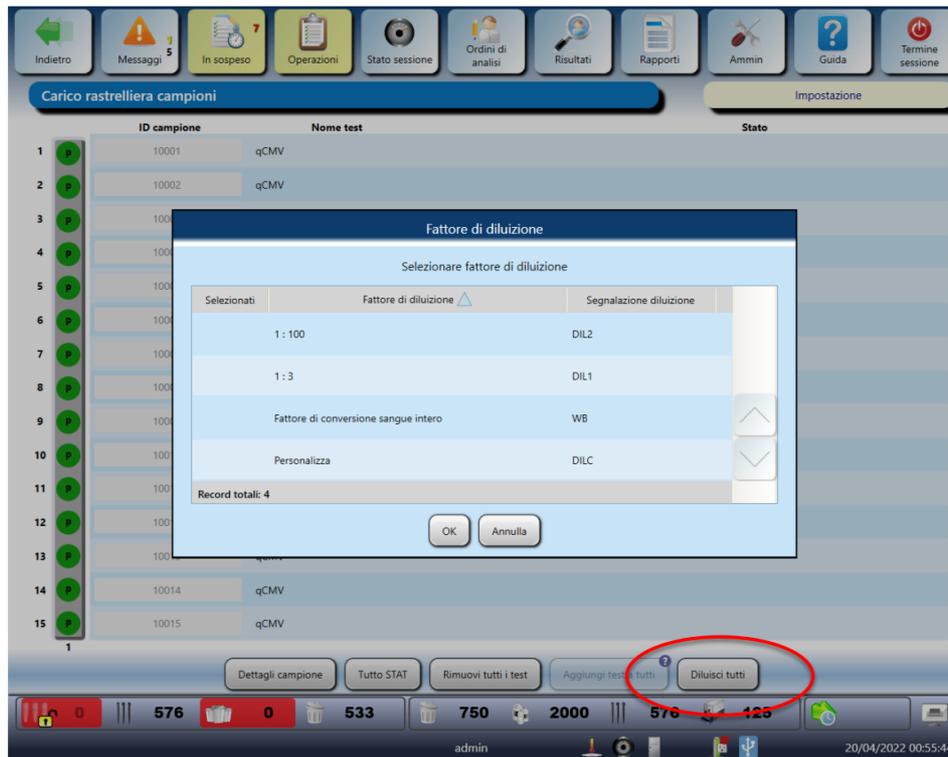


Figura 5. La finestra Dilution Factor (Fattore di diluizione) nella schermata Sample Rack Loading (Carico rastrelliera dei campioni) (Esempio)

- c. Selezionare **Whole Blood Conversion Factor (Fattore di conversione sangue intero)**.
- d. Selezionare **OK**.
Viene visualizzata la finestra *Set Dilution Factor for Rack* (Imposta fattore di diluizione per rastrelliera).
- e. Selezionare **Yes (Sì)** per applicare la segnalazione Whole Blood Conversion Factor (Fattore di conversione sangue intero) all'intera rastrelliera di campioni di sangue intero.

Per applicare il fattore di conversione del sangue intero a un singolo ordine di analisi (vedere l'illustrazione sotto):

- a. Nella schermata *Sample Rack Bay* (Scomparto rastrelliera dei campioni), fare doppio clic sulla rastrelliera caricata con il campione biologico o i campioni biologici d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera campioni) per la rastrelliera dei campioni selezionata.

- b. Nella schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera dei campioni) fare doppio clic sul campione biologico d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Details* (Dettagli campione) con gli ordini di analisi correnti per il campione biologico selezionato.

- c. Selezionare l'ordine di analisi di interesse dal pannello *Test Orders* (Ordini di analisi).
- d. Selezionare **Apply Dilution (Applica diluizione)**.

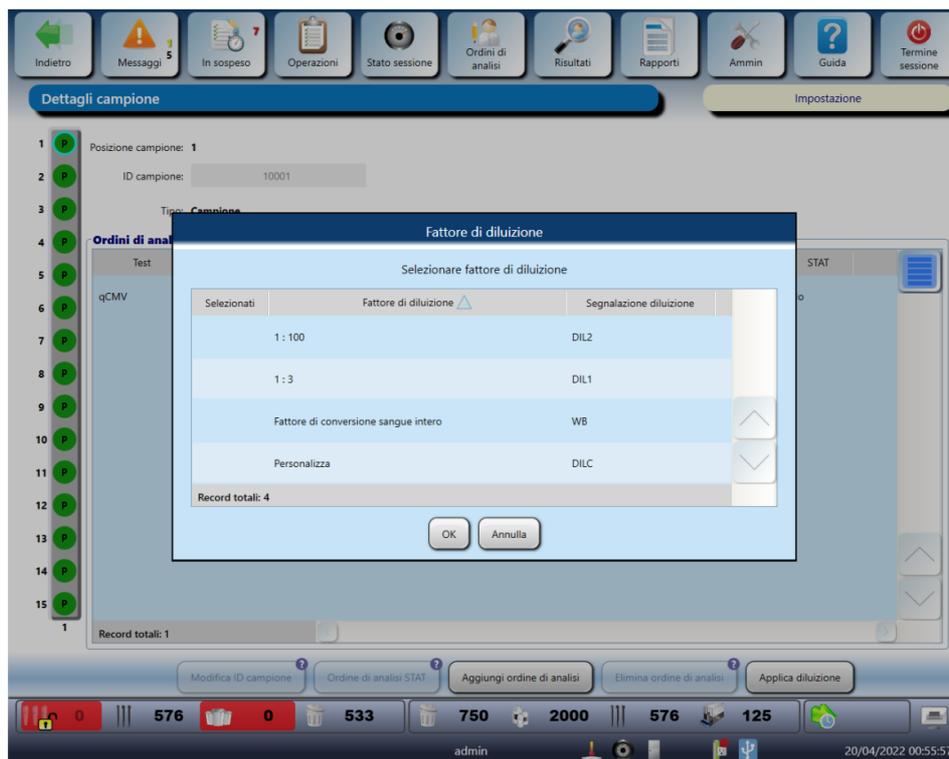


Figura 6. La finestra Dilution Factor (Fattore di diluizione) nella schermata Sample Details (Dettagli campioni) (Esempio)

- e. Selezionare **Whole Blood Conversion Factor (Fattore di conversione sangue intero)**.
 - f. Selezionare **OK** per applicare la segnalazione Whole Blood Conversion Factor (Fattore di conversione sangue intero) a tutti gli ordini di analisi selezionati.
4. Se necessario, il fattore sangue intero può essere rimosso dagli ordini di analisi prima dell'inizio del trattamento.

Per eliminare il fattore di conversione del sangue intero da un'intera rastrelliera:

1. Nella schermata *Sample Rack Bay* (Scomparto rastrelliera dei campioni) fare doppio clic sulla rastrelliera caricata d'interesse.
Viene visualizzata la schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera dei campioni) relativa alla rastrelliera selezionata.
2. Selezionare **Dilute All (Diluisci tutto)**.
3. Nella finestra *Dilution Factor* (Fattore di diluizione), deselezionare **Whole Blood Conversion Factor (Fattore di conversione sangue intero)**.

4. Selezionare **OK**.

Viene visualizzata la finestra *Set Dilution Factor for Rack* (Imposta fattore di diluizione per rastrelliera).

5. Selezionare **Yes (Sì)** per eliminare il fattore di conversione del sangue intero da un'intera rastrelliera.

Per eliminare gli ordini di analisi dei test del fattore di conversione del sangue intero:

1. Nella schermata *Sample Rack Bay* (Scomparto rastrelliera dei campioni), fare doppio clic sulla rastrelliera caricata con il campione biologico o i campioni biologici d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera campioni) per la rastrelliera dei campioni selezionata.

2. Nella schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera dei campioni) fare doppio clic sul campione biologico d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Details* (Dettagli campione) con gli ordini di analisi correnti per il campione biologico selezionato.

3. Selezionare l'ordine di analisi di interesse dal pannello *Test Orders* (Ordini di analisi).

4. Selezionare **Apply Dilution (Applica diluizione)**.

5. Nella finestra *Dilution Factor* (Fattore di diluizione), deselezionare **Whole Blood Conversion Factor (Fattore di conversione sangue intero)**.

6. Selezionare **OK** per eliminare il fattore di conversione del sangue intero dall'ordine di analisi.

Note procedurali

A. Calibratore e controlli

1. Le provette del calibratore positivo qCMV, del controllo positivo basso qCMV, del controllo positivo alto qCMV e del controllo negativo qCMV possono essere caricate in qualsiasi posizione nella rastrelliera dei campioni e in qualsiasi scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni biologici inizierà quando verrà soddisfatta una delle due seguenti condizioni:

a. Il calibratore e i controlli sono in fase di trattamento sul sistema.

b. I risultati validi del calibratore e dei controlli sono stati registrati nel sistema.

2. Dopo aver pipettato le provette di calibratore e controllo e queste sono in fase di trattamento per il kit di reagenti del test Aptima CMV Quant Assay, i campioni biologici possono essere analizzati con il kit ricostituito associato per un massimo di 24 ore, **a meno che**:

a. il risultato di calibratore o controllo non sia valido;

b. il kit di reagenti del test associato non venga rimosso dal sistema;

c. il kit di reagenti del test associato non abbia superato i limiti di stabilità.

3. Ciascuna provetta di calibratore e controllo può essere analizzata solo una volta. Se si tenta di analizzare la provetta più di una volta, è possibile che si verifichino errori di trattamento.

B. Polvere dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, la polvere eccessiva in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di polvere.

Controllo della qualità

Il risultato di una sessione analitica o di un campione biologico può essere annullato da un operatore se durante l'esecuzione del test si riscontrano problemi tecnici o difficoltà riconducibili all'operatore o allo strumento e tali difficoltà vengono documentate. In questo caso, i campioni biologici devono essere nuovamente analizzati.

I campioni con risultati non validi possono essere nuovamente analizzati per ottenere un risultato valido.

Calibrazione del test

Per generare risultati validi è necessario completare la calibrazione del test. Un singolo calibratore positivo viene analizzato in triplicato tutte le volte che un kit di reagenti viene caricato sul Panther System. Una volta stabilita, la calibrazione è valida per un periodo massimo di 24 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario eseguire la calibrazione. L'operatore esegue la scansione di un coefficiente di calibrazione riportato nel foglio dei codici a barre dei lotti master fornito con ciascun kit di reagenti.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettazione del calibratore vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se risultano validi meno di due dei replicati del calibratore, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere nuovamente analizzati utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. È necessario analizzare un replicato del controllo negativo, del controllo positivo basso e del controllo positivo alto tutte le volte che un kit di reagenti viene caricato sul Panther System. Una volta stabiliti, i controlli sono validi per un periodo massimo di 24 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario utilizzare i controlli.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettazione dei controlli vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Per generare risultati validi, il controllo negativo deve dare un risultato di "Non rilevato" e i controlli positivi devono dare risultati rientranti nei parametri predefiniti. Se uno qualsiasi dei controlli genera risultati non validi, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere nuovamente analizzati utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Calibratore interno/Controllo interno

Ciascun campione contiene un calibratore interno/controllo interno (IC). Durante il trattamento, i criteri di accettabilità dell'IC vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se il risultato dell'IC non è valido, il risultato del campione viene annullato. Ciascun campione con un risultato dell'IC non valido deve essere nuovamente analizzato per ottenere un risultato valido.

Il software del Panther System è concepito per verificare con precisione i processi durante l'esecuzione di procedure secondo le istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo e nel *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System).

Interpretazione dei risultati

Il Panther System determina automaticamente la concentrazione del DNA del CMV nei campioni biologici e nei controlli mettendo a confronto i risultati con una curva di calibrazione. Le concentrazioni di DNA del CMV sono riportate in IU/mL e \log_{10} IU/mL. L'interpretazione dei risultati è inclusa nella Tabella 1 e nella Tabella 2.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati del plasma

Risultato del test Aptima CMV Quant Assay riportato		Interpretazione
IU/mL	Valore \log_{10}	
Non rilevato	Non rilevato	DNA CMV non rilevato.
<53 rilevate	<1,72	Il DNA del CMV è stato rilevato, ma a un livello inferiore al limite inferiore di quantificazione (LLoQ).
Da 53 a 10.000.000	Da 1,72 a 7,00	La concentrazione di DNA del CMV rientra nell'intervallo quantitativo compreso tra LLoQ e ULoQ IU/mL.
>10.000.000	>7,00	La concentrazione di DNA del CMV è superiore al limite superiore di quantificazione (ULoQ).
Non valido ^a	Non valido ^a	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere nuovamente analizzato.

^aI risultati non validi vengono visualizzati in caratteri di colore blu.

Tabella 2: Interpretazione dei risultati di sangue intero

Risultato del test Aptima CMV Quant Assay riportato		Interpretazione
IU/mL	Valore \log_{10}	
Non rilevato	Non rilevato	DNA CMV non rilevato.
<176 rilevate	<2,24	Il DNA del CMV è stato rilevato, ma a un livello inferiore al limite inferiore di quantificazione (LLoQ).
Da 176 a 10.000.000	Da 2,24 a 7,00	La concentrazione di DNA del CMV rientra nell'intervallo quantitativo compreso tra LLoQ e ULoQ IU/mL.
>10.000.000	>7,00	La concentrazione di DNA del CMV è superiore al limite superiore di quantificazione (ULoQ).
Non valido ^a	Non valido ^a	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere nuovamente analizzato.

^aI risultati non validi vengono visualizzati in caratteri di colore blu.

Limiti

- A. L'uso di questo test è limitato al personale che è stato formato nella procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Sebbene siano rare, le mutazioni all'interno delle regioni altamente conservate del genoma virale coperto dai primer e/o le sonde nel test Aptima CMV Quant assay possono comportare una quantificazione inferiore o il mancato rilevamento del virus.

Prestazioni analitiche

Limite di rilevamento utilizzando il 1° standard internazionale dell'OMS

Si definisce limite di rilevamento (LoD) del test la concentrazione di DNA del CMV rilevata con una probabilità del 95% o superiore in conformità alle linee guida CLSI EP17-A2.¹⁴

Limite di rilevamento utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS nel plasma

Il valore LoD è stato determinato analizzando i pannelli del primo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC 09/162)²¹ per CMV diluito in plasma umano negativo al CMV. 60 replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati con ciascuno dei tre lotti di reagente per un totale di 180 replicati per diluizione. È stata eseguita l'analisi Probit per generare i limiti di rilevamento previsti. I valori LoD mostrati nella Tabella 3 sono i risultati del lotto di reagente con il limite di rilevamento previsto più alto. Il LoD relativo al test Aptima CMV Quant Assay utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS è pari a 40,7 IU/mL per il plasma.

Tabella 3: Limite di rilevamento per plasma utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per CMV

Limite di rilevamento previsto	Concentrazione (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

Limite di rilevamento utilizzando gli standard OMS nel sangue intero

Il LoD è stato determinato analizzando i pannelli del primo standard internazionale dell'OMS per il CMV diluito in sangue intero negativo al CMV. 60 replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati con ciascuno dei tre lotti di reagente per un totale di 180 replicati per diluizione. È stata eseguita l'analisi Probit per generare i limiti di rilevamento previsti. I valori LoD mostrati nella Tabella 4 sono i risultati del lotto di reagente con il limite di rilevamento previsto più alto. Il LoD relativo al test Aptima CMV Quant Assay utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS è pari a 131,0 IU/mL per il sangue intero.

Tabella 4: Limite di rilevamento per sangue intero utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per CMV

Limite di rilevamento previsto	Concentrazione (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

Limite di rilevamento (LoD) di genotipi e mutanti farmacoresistenti del citomegalovirus (CMV)

Limite di rilevamento (LoD) di genotipi e mutanti farmacoresistenti del citomegalovirus (CMV) nel plasma

Il LoD è stato verificato per tre diversi genotipi in base alla sequenza della glicoproteina B⁷ (gB-2, gB-3 e gB-4) e per mutanti resistenti ai farmaci analizzando diverse concentrazioni di CMV vicine al LoD stabilito per il plasma utilizzando lo standard OMS (genotipo gB-1). Il test è stato eseguito con 30 replicati per elemento del pannello per lotto di reagente utilizzando due lotti di reagente Aptima CMV Quant. Il LoD massimo verificato per tutti e tre i genotipi e i mutanti farmacoresistenti è stato pari a 40 IU/mL utilizzando entrambi i lotti di reagente.

Nota: Le prestazioni del test Aptima CMV Quant Assay con mutazioni farmacoresistenti del CMV sono state valutate solo in campioni di plasma.

Tabella 5: Limite di rilevamento (LoD) di genotipi e mutanti farmacoresistenti del citomegalovirus (CMV) nel plasma

Genotipo	Concentrazione (IU/mL)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Mutante farmacoresistente UL54 e UL97*	35
Mutante farmacoresistente UL56**	35

*Le mutazioni del gene UL54 possono portare a resistenza crociata a diversi antivirali per il trattamento dell'infezione da CMV come ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) e foscarnet (PFA). Le mutazioni del gene UL97 determinano anche la resistenza al ganciclovir (GCV).

**Le mutazioni del gene UL56 determinano la resistenza al letermovir (LET).

Il LoD complessivo nel plasma è 40,7 IU/mL.

Limite di rilevamento nei genotipi del CMV nel sangue intero

Il LoD è stato verificato per tre diversi genotipi di glicoproteina B (gB-2, gB-3 e gB-4) analizzando diverse concentrazioni di CMV intorno al LoD stabilito per il sangue intero utilizzando lo standard OMS per il CMV (genotipo gB-1). Il test è stato eseguito con 30 replicati per elemento del pannello per lotto di reagente utilizzando due lotti di reagente Aptima CMV Quant. Il LoD massimo verificato per tutti e tre i genotipi è stato pari a 150 IU/mL utilizzando entrambi i lotti di reagente.

Tabella 6: Limite di rilevamento nei genotipi del CMV nel sangue intero

Genotipo	Concentrazione (IU/mL)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Il LoD complessivo nel sangue intero è 150 IU/mL.

Range lineare

Range lineare nel plasma

Il range lineare è stato stabilito analizzando pannelli di CMV diluito in plasma umano negativo al CMV in conformità alle linee guida CLSI EP06-A.¹⁵ La concentrazione dei pannelli era compresa tra 1,62 Log₁₀ IU/mL e 7,30 Log₁₀ IU/mL. Il test Aptima CMV Quant Assay ha dimostrato la linearità nel range analizzato. Il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del test è pari a 7 Log₁₀ IU/mL come illustrato nella Figura 7.

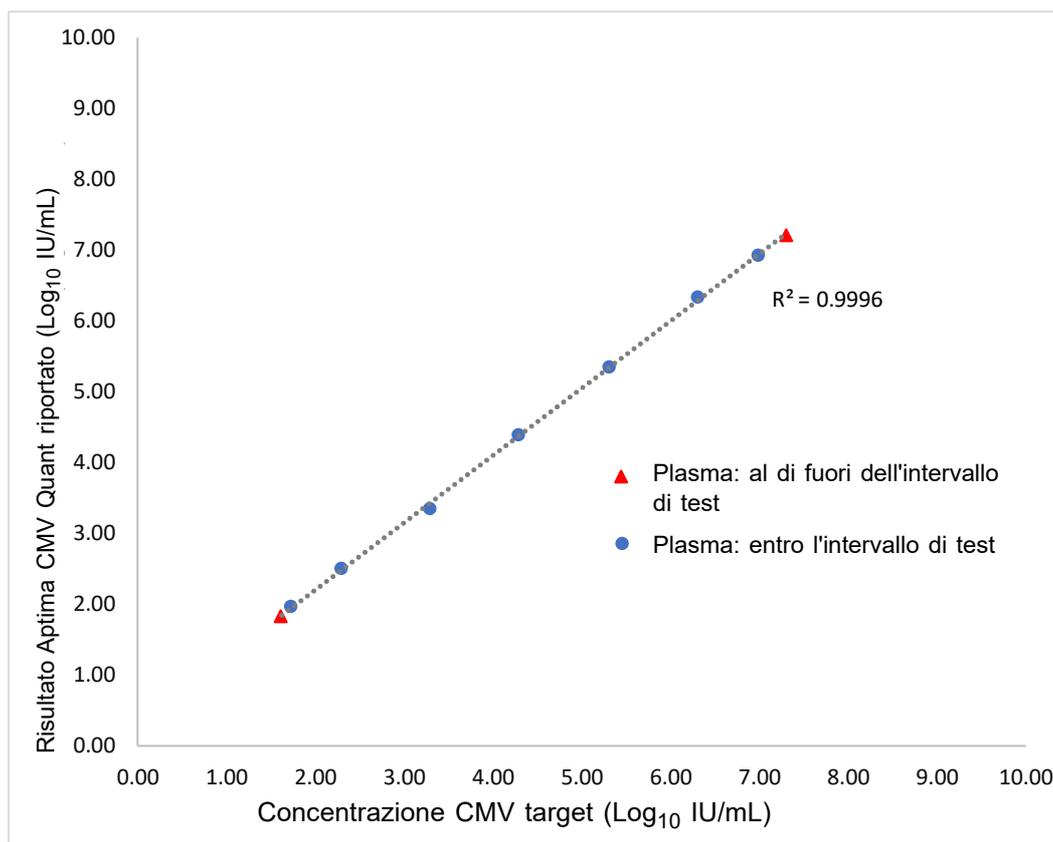


Figura 7. Linearità nel plasma

Range lineare nel sangue intero

Il range lineare è stato stabilito analizzando pannelli di CMV diluito in sangue intero umano negativo al CMV in conformità alle linee guida CLSI EP06-A¹⁵. La concentrazione dei pannelli era compresa tra 2,15 Log₁₀ IU/mL e 7,3 Log₁₀ IU/mL per il sangue intero. Il test Aptima CMV Quant Assay ha dimostrato la linearità nel range analizzato. Il limite superiore di quantificazione (ULoQ) del test è pari a 7 Log₁₀ IU/mL come illustrato nella Figura 8.

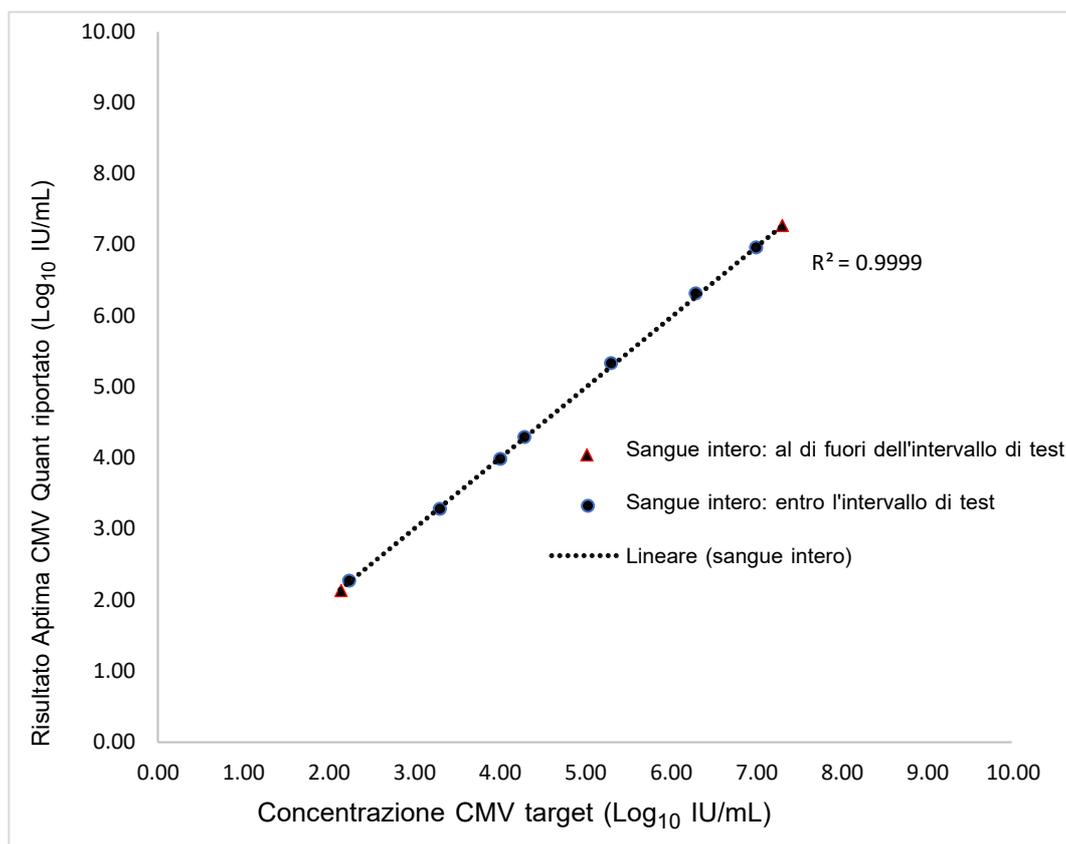


Figura 8. Linearità nel sangue intero

Linearità nei genotipi del CMV

Linearità nei genotipi del CMV nel plasma

La linearità per i genotipi della glicoproteina gB-2, gB-3 e gB-4 è stata verificata analizzando pannelli di CMV diluiti in plasma negativo al CMV a concentrazioni comprese tra 1,72 Log₁₀ IU/mL e 7,00 Log₁₀ IU/mL. La linearità è stata dimostrata nel range per tutti i genotipi analizzati come illustrato nella Figura 9.

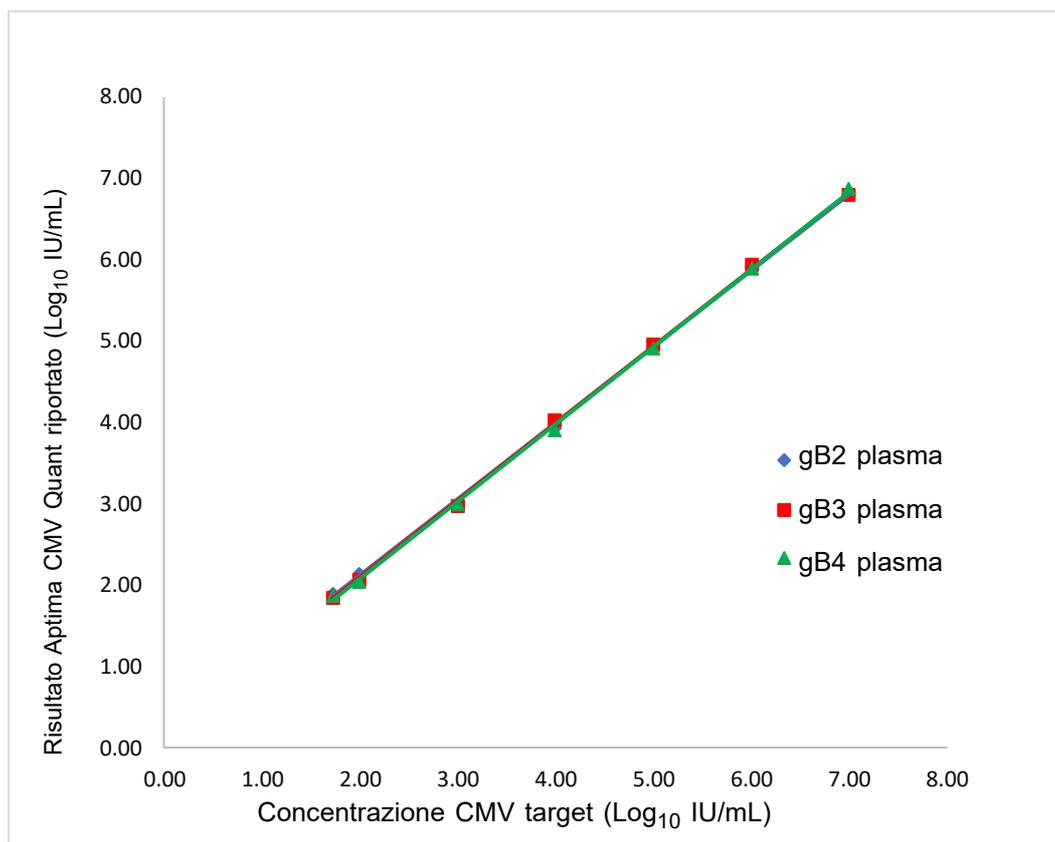


Figura 9. Linearità nei genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 del CMV nel plasma

Linearità nei genotipi del CMV nel sangue intero

La risposta lineare per i genotipi della glicoproteina gB-2, gB-3 e gB-4 è stata verificata analizzando pannelli di CMV diluiti in sangue intero negativo a CMV a concentrazioni comprese tra 2,25 Log₁₀ IU/mL e 7,00 Log₁₀ IU/mL. La linearità è stata dimostrata nel range per tutti e tre i genotipi analizzati come illustrato nella Figura 10.

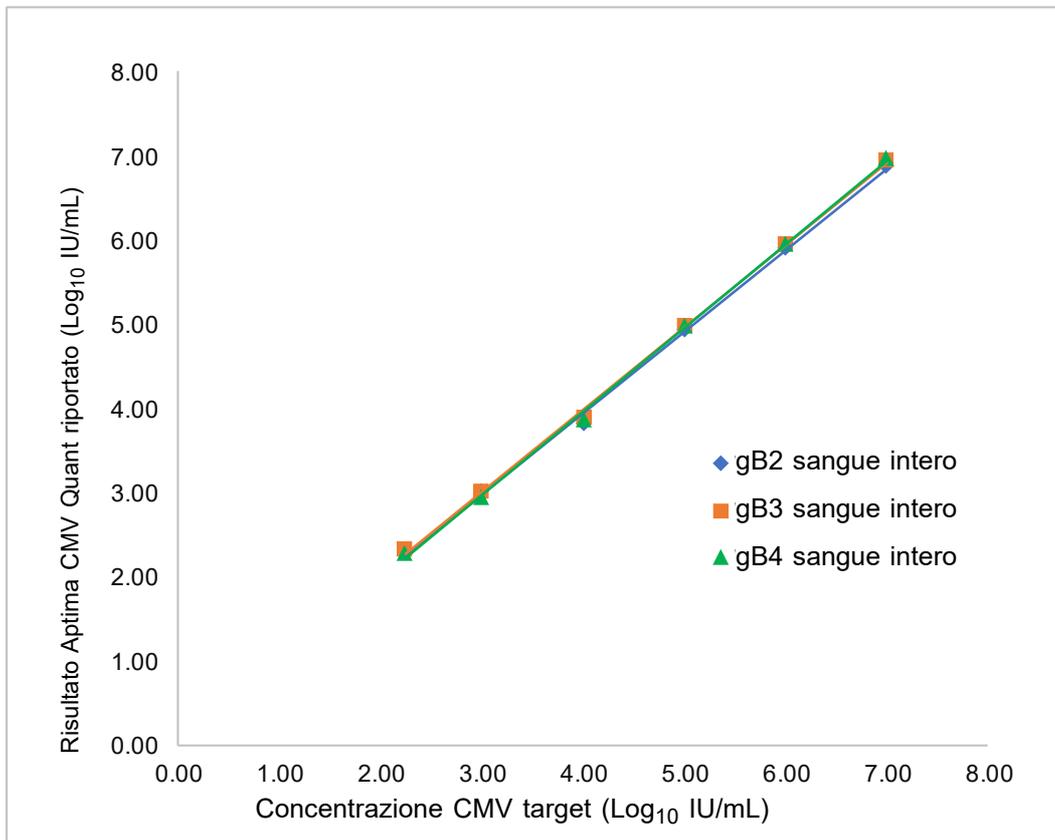


Figura 10. Linearità nei genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 del CMV nel sangue intero

Limite inferiore di quantificazione utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS

Si definisce limite inferiore di quantificazione (LLoQ) la concentrazione più bassa alla quale il DNA del CMV viene quantificato in modo affidabile entro i limiti di un errore totale, in conformità alle linee guida CLSI EP17-A2.¹⁴ L'errore totale è stato stimato utilizzando il modello Westgard: Errore totale (TE) = |bias| + 2DS. Al fine di garantire l'accuratezza delle misurazioni, l'errore totale del test Aptima CMV Quant Assay è stato impostato a 1 log IU/mL (vale a dire che al LLoQ, la differenza tra due misurazioni di oltre 1 log IU/mL è statisticamente significativa).

Limite inferiore di quantificazione utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS nel plasma

Il LLoQ è stato determinato analizzando i pannelli del primo standard internazionale dell'OMS (codice NIBSC 09/162, genotipo gB-1)²¹ per il DNA del CMV diluito in plasma umano negativo al CMV. 60 replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati con ciascuno dei tre lotti di reagente per un totale di 180 replicati per diluizione. Nella Tabella 7, vengono visualizzati i risultati LLoQ per i tre lotti di reagente. I risultati del lotto di reagente con la concentrazione più elevata che soddisfa i requisiti di ET e rilevamento ≥95% sono riassunti nella Tabella 8. Il LLoQ generato con il primo standard internazionale dell'OMS per il CMV nel plasma è pari a 53 IU/mL.

Tabella 7: Determinazione di LLoQ utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per il CMV diluito nel plasma

Lotto di reagenti	N	N. rilevato	Concentrazione target	Aptima CMV Quant	DS	Bias	TE calcolato
			(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log 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
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
3	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

DS = deviazione standard

Gli elementi del pannello che hanno conseguito l'obiettivo di accuratezza (ET ≤ 1) e un rilevamento ≥95% per i lotti di reagente 1, 2 e 3 sono a sfondo grigio.

Tabella 8: Riepilogo del LLoQ per il plasma utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per CMV

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

Limite inferiore di quantificazione utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS nel sangue intero

Il LLoQ è stato determinato analizzando i pannelli del primo standard internazionale dell'OMS per il DNA del CMV diluito in sangue intero umano negativo al CMV. 60 replicati di ciascuna diluizione sono stati analizzati con ciascuno dei tre lotti di reagente per un totale di 180 replicati per diluizione. Nella Tabella 9, vengono visualizzati i risultati per i tre lotti di reagente. I risultati del lotto di reagente con la concentrazione più elevata che soddisfa i requisiti di ET e rilevamento $\geq 95\%$ sono riassunti nella Tabella 9. Il LLoQ generato con il primo standard internazionale dell'OMS per il CMV nel sangue intero è pari a 176 IU/mL.

Tabella 9: Determinazione di LLoQ utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per il CMV diluito nel sangue intero

Lotto di reagenti	N	N. rilevato	Concentrazione target	Aptima CMV Quant	DS	Bias	TE calcolato
			(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

DS = deviazione standard

Gli elementi del pannello che hanno conseguito l'obiettivo di accuratezza ($ET \leq 1$) e un rilevamento $\geq 95\%$ per i lotti di reagente 1, 2 e 3 sono a sfondo grigio.

Tabella 10: Riepilogo del LLoQ per il plasma utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS per CMV

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

Determinazione del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) di genotipi e di mutanti farmacoresistenti del citomegalovirus (CMV)

Limite inferiore di quantificazione (LLoQ) di genotipi e di mutanti farmacoresistenti di citomegalovirus (CMV) nel plasma

Il LLoQ stabilito utilizzando lo standard OMS è stato verificato analizzando diluizioni dei genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 del CMV e i mutanti farmacoresistenti in plasma umano negativo al CMV. 60 replicati di ciascun elemento del pannello sono stati analizzati con un lotto di reagente. I risultati sono illustrati nella Tabella 11. Il LLoQ calcolato per i genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 e per i mutanti farmacoresistenti del lotto di reagente con la concentrazione più elevata che soddisfa i requisiti di ET e rilevamento $\geq 95\%$ è riassunto nella Tabella 12. Il LLoQ complessivo per il plasma in questo test è pari a 53 IU/mL.

Nota: Le prestazioni del test Aptima CMV Quant Assay con mutazioni farmacoresistenti del CMV sono state valutate solo in campioni di plasma.

Tabella 11: Determinazione del LLoQ di genotipi e mutanti farmacoresistenti nel plasma

Genotipo	N	% rilevata	Concentrazione target	Aptima CMV Quant	DS	Bias	TE calcolato
			(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

Tabella 11: Determinazione del LLoQ di genotipi e mutanti farmacoresistenti nel plasma (Continua)

Genotipo	N	% rilevata	Concentrazione target	Aptima CMV Quant	DS	Bias	TE calcolato
			(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
Mutante farmacoresistente (UL54 e 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
Mutante farmacoresistente (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

DS = deviazione standard

Gli elementi del pannello che hanno conseguito l'obiettivo di accuratezza (ET ≤1) e un rilevamento ≥95% per i lotti di reagente 1, 2 e 3 sono a sfondo grigio.

Tabella 12: Riepilogo del LLoQ di genotipi e mutanti farmacoresistenti nel plasma

Genotipo	LLoQ	
	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Mutante farmacoresistente UL54 e UL97*	38	1,57
Mutante farmacoresistente UL56**	35	1,54

*Le mutazioni del gene UL54 possono portare a resistenza crociata a diversi antivirali per il trattamento dell'infezione da CMV come ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) e foscarnet (PFA). Le mutazioni del gene UL97 determinano anche la resistenza al ganciclovir (GCV).

**Le mutazioni del gene UL56 determinano la resistenza al letermovir (LET).

Limite inferiore di quantificazione nei genotipi nel sangue intero

Il LLoQ stabilito utilizzando il primo standard internazionale dell'OMS è stato verificato analizzando diluizioni dei genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 del CMV in sangue intero umano negativo al CMV. 60 replicati di ciascun elemento del pannello sono stati analizzati con un lotto di reagente. I risultati sono illustrati nella Tabella 13. Il LLoQ per i genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 del lotto di reagente con la concentrazione più elevata che soddisfa i requisiti di ET e rilevamento $\geq 95\%$ è riassunto nella Tabella 14. Il LLoQ complessivo per il sangue intero in questo test è pari a 176 IU/mL.

Tabella 13: Determinazione del LLoQ nei genotipi nel sangue intero

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

DS = deviazione standard

Tabella 14: Riepilogo del LLoQ nei genotipi nel sangue intero

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

Riconducibilità al primo standard internazionale dell'OMS

Durante lo sviluppo e la produzione del prodotto è stata impiegata una serie di standard secondari con concentrazioni note con l'obiettivo di stabilire la riconducibilità allo standard OMS. Lo standard OMS per il CMV è stato diluito e analizzato insieme agli standard secondari, nonché ai controlli del test e ai calibratori utilizzati nel test Aptima CMV Quant Assay al fine di valutare la riconducibilità in conformità alle linee guida CLSI EP32-R¹⁶. La concentrazione degli standard secondari era compresa tra 1,80 e 6,60 log₁₀ IU/mL.

Riconducibilità allo standard OMS utilizzando il plasma

Le concentrazioni analizzate per lo standard OMS per il CMV erano comprese tra 2,18 e 4,70 log₁₀ IU/mL. I pannelli di plasma, gli standard secondari, i controlli e i calibratori del test dell'OMS sono stati recuperati come previsto nel range lineare del test, come è visibile nella Figura 11.

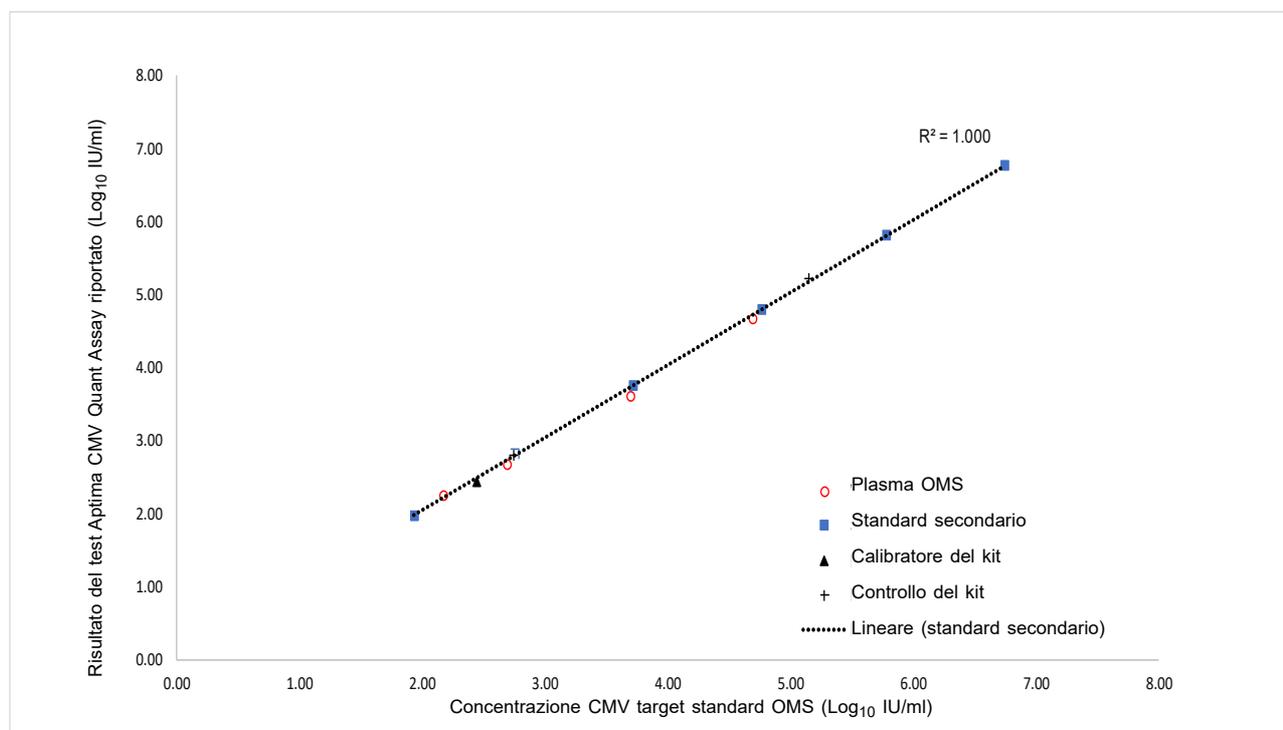


Figura 11. Riconducibilità tra le concentrazioni target del primo standard OMS per il CMV e le concentrazioni segnalate nel test Aptima CMV Quant Assay (standard OMS diluito nel plasma)

Riconducibilità allo standard OMS utilizzando il sangue intero

Le concentrazioni analizzate per lo standard OMS per il CMV nel sangue intero erano comprese tra 2,70 e 4,70 \log_{10} IU/mL. I pannelli di sangue intero con standard OMS, gli standard secondari, i controlli e i calibratori del test dell'OMS sono stati recuperati come previsto nel range lineare del test, come è visibile nella Figura 12.

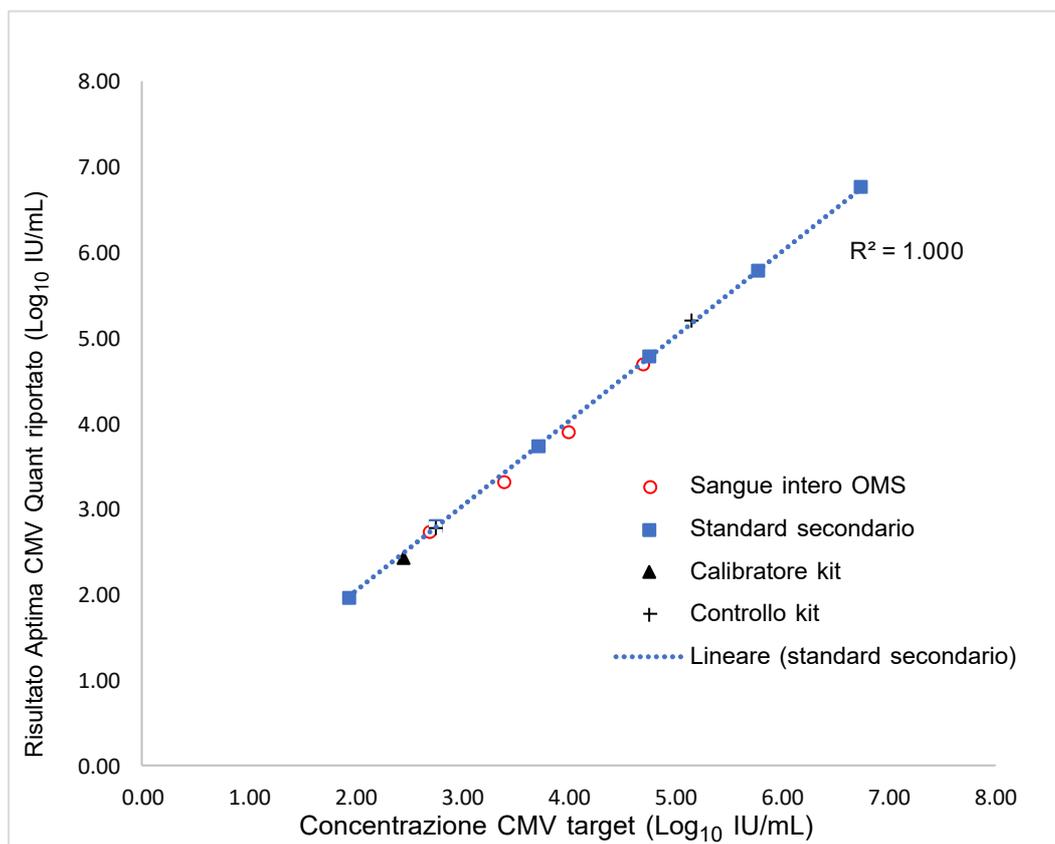


Figura 12. Riconducibilità tra le concentrazioni target del primo standard OMS per il CMV e le concentrazioni segnalate nel test Aptima CMV Quant Assay (standard OMS diluito nel sangue intero)

Precisione

Plasma

Per valutare la precisione, è stato creato un pannello di 6 elementi diluendo campioni clinici positivi al CMV o CMV coltivato in plasma negativo al CMV. Il pannello è stato analizzato da tre operatori utilizzando tre lotti di reagenti su tre Panther System nell'arco di 20 o più giorni. Ciascun operatore ha eseguito due sessioni analitiche al giorno e ciascun elemento del pannello è stato analizzato in duplicato in ciascuna sessione analitica. Lo studio è stato disegnato e analizzato secondo le raccomandazioni delle linee guida CLSI EP-05-A3¹⁷.

La Tabella 15 illustra la precisione dei risultati del test (in log IU/mL) tra strumenti, operatori, lotti di reagente, sessioni analitiche, giorni, tra diverse sessioni analitiche e complessiva. La variabilità totale era principalmente dovuta alla variabilità all'interno della sessione analitica (ossia errore casuale).

Tabella 15: Precisione del test Aptima CMV Quant Assay nel plasma

N	Concentrazione media	Intra lotti	Tra strumenti	Tra operatori	Intra giorni	Tra sessioni analitiche	Intra sessione analitica	Totale
	(log IU/mL)	DS	DS	DS	DS	DS	DS	DS
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

DS = deviazione standard

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando ciò si verifica, il valore DS viene visualizzato pari a 0.

Sangue intero

Per valutare la precisione, è stato creato un pannello di 6 elementi diluendo campioni clinici positivi al CMV o aggiungendo CMV coltivato nel sangue intero negativo al CMV. Il pannello è stato analizzato da tre operatori utilizzando tre lotti di reagenti su tre Panther System nell'arco di 20 o più giorni. Ciascun operatore ha eseguito due sessioni analitiche al giorno e ciascun elemento del pannello è stato analizzato in duplicato in ciascuna sessione analitica.

La Tabella 16 illustra la precisione dei risultati del test (in log IU/mL) tra strumenti, operatori, lotti, sessioni analitiche, giorni, tra diverse sessioni analitiche e complessiva. La variabilità totale è dovuta alla variabilità all'interno della sessione analitica (ossia errore casuale).

Tabella 16: Precisione del test Aptima CMV Quant Assay nel sangue intero

N	Concentrazione media	Intra lotto	Tra strumenti	Tra operatori	Intra giorni	Tra sessioni analitiche	Intra sessione analitica	Totale
	(log IU/mL)	DS	DS	DS	DS	DS	DS	DS
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

DS = deviazione standard

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando ciò si verifica, il valore DS viene visualizzato pari a 0.

Sostanze potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del test Aptima CMV Quant Assay a interferenza da livelli elevati di sostanze endogene, anticoagulanti e farmaci comunemente prescritti ai pazienti sottoposti a trapianto. Le concentrazioni di prova per ciascuna delle sostanze interferenti sono state selezionate sulla base dei riferimenti bibliografici disponibili e delle linee guida CLSI EP07¹⁸ e EP37¹⁹. Sono stati analizzati campioni di plasma negativi al CMV e campioni a cui è stato aggiunto CMV a una concentrazione pari a 2,22 log UI/mL e 3,30 log IU/mL. Sono stati analizzati campioni di sangue intero negativi al CMV e campioni a cui è stato aggiunto CMV a una concentrazione pari a 2,72 e 4,00 log IU/mL di DNA del CMV per verificare la presenza di emoglobina.

Non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni del test in campioni di plasma in presenza di albumina (60 mg/mL), emoglobina (10 mg/mL), trigliceridi (15 mg/mL), bilirubina non coniugata (0,4 mg/mL) o DNA genomico umano (2 µg/mL). Non è stata osservata alcuna interferenza nei campioni di sangue intero nell'esecuzione del test in presenza di 100 mg/mL di emoglobina aggiunti a campioni di sangue intero.

Campioni di plasma clinici di pazienti con livelli elevati di sostanze specifiche o a pazienti affetti dalle patologie elencate nella Tabella 17 sono stati analizzati con il test Aptima CMV Quant Assay. Non è stata osservata interferenza nelle prestazioni del test.

Tabella 17: Tipi di campioni biologici clinici testati

	Tipi di campioni biologici clinici	Numero di campioni biologici clinici analizzati
1	Anticorpo antinucleare (ANA)	10
2	Lupus eritematoso sistemico (SLE)	10
3	Artrite reumatoide (RA)	10

Non è stata osservata alcuna interferenza nell'esecuzione del test in presenza delle sostanze esogene elencate nella Tabella 18 a concentrazioni almeno tre volte superiori a C_{max} dei farmaci nel plasma umano.

Tabella 18: Sostanze esogene

Pool di sostanze esogene	Sostanze esogene analizzate
1	Cefotetano, potassio clavulanato, ticarcillina disodica, vancomicina
2	Piperacillina
3	Sulfametossazolo
4	Tazobactam sodico, trimetoprim, fluconazolo
5	Ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, Foscarnet, valaciclovir, aciclovir, Letermovir
6	Azatioprina, ciclosporina, micofenolato mofetile, acido micofenolico
7	Sirolimus, tacrolimus, prednisone, everolimus
8	Citrato di sodio, EDTA, eparina

Specificità

La specificità è stata determinata analizzando 780 campioni biologici clinici negativi al CMV congelati. La specificità è stata calcolata come la percentuale di campioni negativi al CMV con risultati "Non rilevato" rispetto al numero totale di campioni analizzati per ciascun tipo di campione.

Il DNA del CMV non è stato rilevato in 389 campioni di plasma e 390 campioni di sangue intero. La specificità è stata del 99,7% (389/390, IC 95%: 98,6 – 100%) per il plasma e del 100% (390/390, IC 95%: 99,3 – 100%). La specificità combinata del test Aptima CMV Quant Assay per plasma e sangue intero è stata del 99,9% (779/780, IC 95%: 99,3-100%).

Tabella 19: Specificità nei campioni biologici di plasma e sangue intero

	Plasma	Sangue intero	Plasma e sangue intero
Replicati validi (n)	390	390	780
Non rilevato	389	390	779
Specificità (IC del 95%)	99,7% (98,6 – 100)	100% (99,3 – 100)	99,9% (99,3 – 100)

IC = intervallo di confidenza

Specificità analitica

La potenziale reattività crociata con i patogeni elencati nella Tabella 20 è stata valutata nel plasma umano negativo al CMV in presenza o assenza di 2,2 Log₁₀ IU/mL e 3,3 Log₁₀ IU/mL di CMV. Tre parassiti del sangue trovati in campioni di sangue intero sono stati valutati anche nel sangue intero negativo al CMV in presenza o assenza di 2,7 Log₁₀ IU/mL e 4,0 Log₁₀ IU/mL di CMV. I patogeni sono stati analizzati alla massima concentrazione disponibile. Non è stata osservata alcuna reattività crociata o interferenza.

Tabella 20: Patogeni analizzati per la specificità analitica

Microrganismo/Patogeno	Concentrazione		Microrganismo/Patogeno	Concentrazione	
Adenovirus tipo 4	1.886	TCID50/mL ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1.000.000	CFU/mL
BK Polyomavirus	1.000.000	cp/mL ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus di Epstein-Barr	1.000.000	cp/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus dell'epatite B	1.000.000	IU/mL ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus dell'epatite C	1.000.000	cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus dell'herpes simplex di tipo 1	1.428.571	TCID50/mL	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	1.000.000	CFU/mL
Virus dell'herpes simplex di tipo 2	147.143	TCID50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	CFU/mL
Sottotipo di HIV-1 B	1.000.000	cp/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	CFU/mL
Herpesvirus umano 6A	1.000.000	cp/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.000.000	CFU/mL
Herpesvirus umano 7	1.428.571	TCID50/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL
Herpesvirus umano 8	1.000.000	cp/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.000.000	CFU/mL
Metapneumovirus umano	192.857	TCID50/mL	<i>Aspergillus niger</i>	485.000	CFU/mL
Papillomavirus umano di tipo 18	1.000.000	cp/mL	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus parainfluenzale umano	944	TCID50/mL	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1.000.000	CFU/mL
Virus influenzale	3.857	TCID50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	cellule/mL
Rhinovirus	7.257	TCID50/mL	<i>Leishmania major</i> *	1.000.000	cellule/mL
Virus varicella-zoster	1.000.000	cp/mL	<i>Babesia microti</i> *	1.000.000	cellule/mL
Virus Zika	29.286	TCID50/mL	<i>Plasmodium falciparum</i> *	1.000.000	cellule/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	CFU/mL ^d	^a TCID50/mL = Unità di dose infettiva delle colture tissutali per mL		
<i>Clostridium perfringens</i>	1.000.000	CFU/mL	^b cp/mL = Copie virali per mL		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	CFU/mL	^c IU/mL = Unità internazionali per mL		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.000.000	CFU/mL	^d CFU/mL = Unità formanti colonie per mL		
<i>Escherichia coli</i>	1.000.000	CFU/mL	*analizzato con tipo di campione sangue intero		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.000.000	CFU/mL			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.000.000	CFU/mL			

Contaminazione crociata

La contaminazione crociata è stata valutata per il Panther System utilizzando plasma come tipo di campione, mediante altri test della carica virale (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay). Non è stata osservata alcuna contaminazione crociata nei test precedenti. Per stabilire che il Panther System riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti da contaminazione crociata nel tipo di campione sangue intero, è stato condotto uno studio utilizzando pannelli aggiunti su tre Panther System. La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando campioni di sangue intero a cui è stato aggiunto DNA del CMV ad alto titolo (6 log IU/mL) disseminati fra campioni negativi al CMV in una disposizione a scacchiera. L'analisi è stata eseguita nel corso di dodici sessioni analitiche. Il tasso generale di contaminazione crociata era dello 0,24% (1/423).

Correlazione fra metodi

Questo studio è stato disegnato in conformità alle linee guida CLSI EP09c¹⁹.

Correlazione fra metodi con plasma

Le prestazioni del test Aptima CMV Quant Assay sono state valutate rispetto al test del CMV di comparazione, analizzando campioni clinici non diluiti di pazienti positivi al CMV e campioni biologici artificiali composti da vari ceppi di virus coltivati appartenenti a tutti e quattro i genotipi aggiunti in plasma con EDTA negativo da donatore singolo. Per la regressione di Deming è stato utilizzato un totale di 160 campioni clinici e 115 campioni biologici coltivati, nell'ambito dell'intervallo lineare comune a entrambi i test, come illustrato in Figura 13

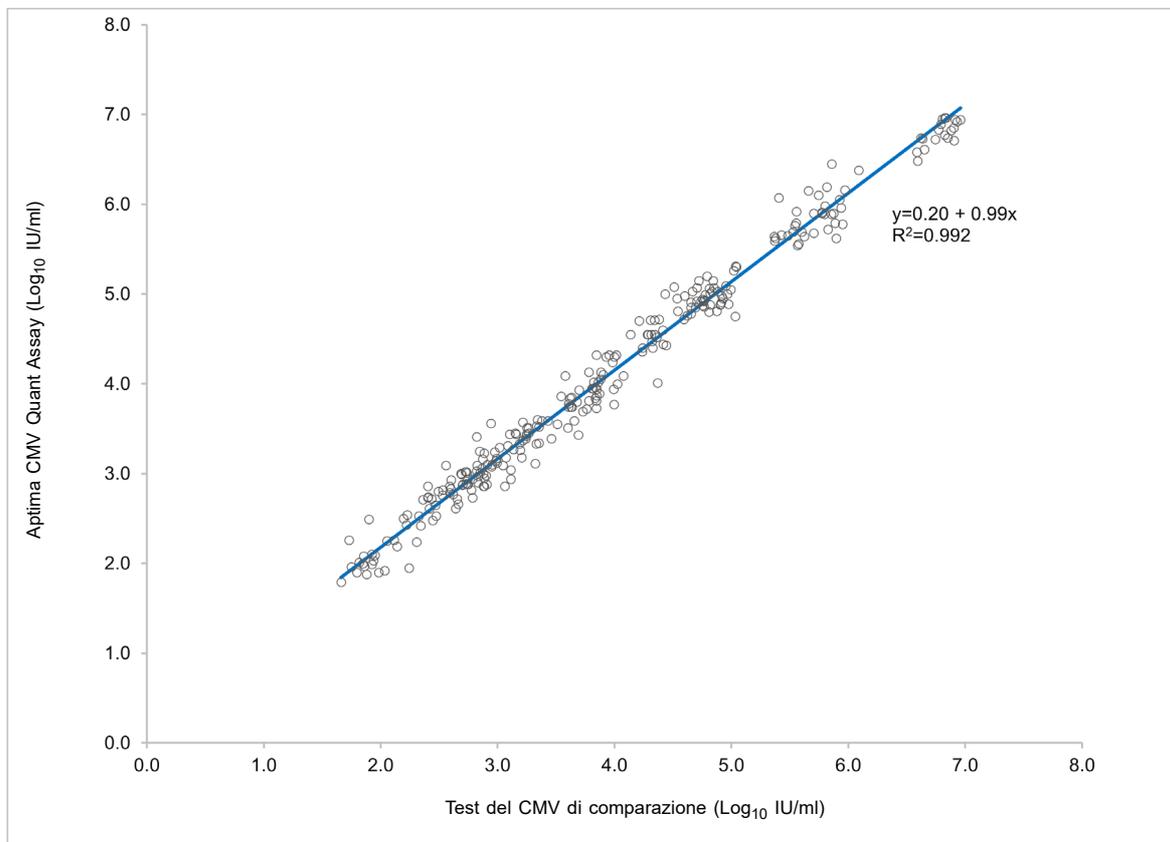


Figura 13. Correlazione tra la carica virale di CMV nel test Aptima CMV Quant Assay e nel test del CMV di comparazione, per l'analisi di campioni di plasma

Correlazione fra metodi con sangue intero

Le prestazioni del test Aptima CMV Quant Assay sono state valutate rispetto al test del CMV di comparazione, analizzando campioni clinici non diluiti di pazienti positivi al CMV e campioni biologici artificiali composti da virus coltivati aggiunti in sangue intero con EDTA negativo da donatore singolo. Per la regressione di Deming è stato utilizzato un totale di 159 campioni clinici e 83 campioni biologici coltivati, nell'ambito dell'intervallo lineare comune a entrambi i test, come illustrato in Figura 14.

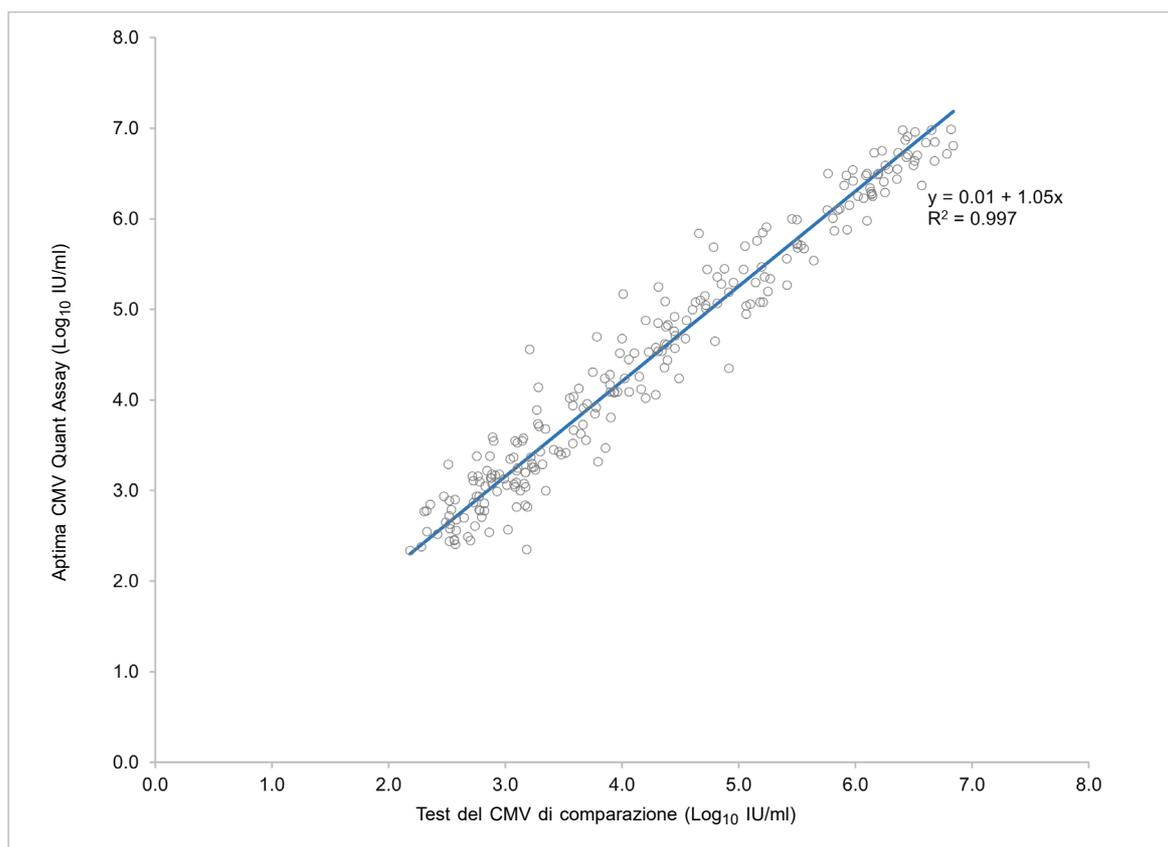


Figura 14. Correlazione tra la carica virale di CMV nel test Aptima CMV Quant Assay e nel test del CMV di comparazione, per l'analisi di campioni di sangue intero

Riproducibilità

Riproducibilità in campioni di plasma

La riproducibilità del test Aptima CMV Quant Assay nel plasma è stata valutata in tre centri esterni. Due operatori hanno eseguito i test in ciascun centro. Ciascun operatore ha eseguito una sessione analitica al giorno nell'arco di 5 giorni, utilizzando un lotto di reagente nel corso del test. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da tre repliche di ciascun elemento del pannello.

La riproducibilità è stata testata utilizzando elementi del pannello preparati diluendo campioni clinici positivi al CMV o CMV coltivato in plasma EDTA negativo al CMV. Le concentrazioni di DNA di CMV coprivano l'intervallo lineare del test.

La Tabella 21 mostra la riproducibilità e la precisione dei risultati del test per ciascun elemento positivo del pannello tra i diversi centri, operatori e giorni, tra diverse sessioni analitiche, nella stessa sessione analitica e complessive. Il coefficiente di variazione è stato calcolato utilizzando la seguente equazione, dove σ^2 è la varianza dei campioni dei dati dopo la trasformazione \log_{10} .

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

Tabella 21: Riproducibilità dei livelli di DNA di CMV del test Aptima CMV Quant Assay sul Panther System negli elementi positivi del pannello nel plasma

N	Media osservata		Contributo alla varianza totale DS (%CV ²)					Varianza totale DS (%CV)
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	Tra centri	Tra operatori	Tra giorni diversi	Tra diverse sessioni analitiche	Nella stessa sessione analitica	
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=coefficiente di variazione log-normale, DS=deviazione standard (log₁₀ IU/mL)

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e %CV sono uguali a 0.

Riproducibilità in campioni di sangue intero

La riproducibilità del test Aptima CMV Quant Assay nel sangue intero è stata valutata in tre centri esterni. Due operatori hanno eseguito i test in ciascun centro. Ciascun operatore ha eseguito una sessione analitica al giorno nell'arco di 5 giorni, utilizzando un lotto di reagente nel corso del test. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da tre repliche di ciascun elemento del pannello.

La riproducibilità è stata testata utilizzando elementi del pannello preparati diluendo campioni clinici positivi al CMV o CMV coltivato in sangue intero EDTA negativo al CMV. Le concentrazioni di DNA di CMV coprivano l'intervallo lineare del test.

La Tabella 22 mostra la riproducibilità e la precisione dei risultati del test per ciascun elemento positivo del pannello tra i diversi centri, operatori e giorni, tra diverse sessioni analitiche, nella stessa sessione analitica e complessive escludendo un valore anomalo osservato (0,2%, 1/533). Il coefficiente di variazione è stato calcolato utilizzando la seguente equazione, dove σ^2 è la varianza dei campioni dei dati dopo la trasformazione \log_{10} .

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

Per tutti gli elementi del pannello positivi al CMV e negativi al CMV, i valori di concordanza erano del 100%.

Tabella 22: Riproducibilità dei livelli di DNA di CMV del test Aptima CMV Quant Assay sul Panther System negli elementi positivi del pannello nel plasma

N	Media osservata		Contributo alla varianza totale DS (%CV ²)					Varianza totale DS (%CV)
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	Tra centri	Tra operatori	Tra giorni diversi	Tra diverse sessioni analitiche	Nella stessa sessione analitica	
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=coefficiente di variazione log-normale, DS=deviazione standard (log₁₀ IU/mL)

Nota: la variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e %CV sono uguali a 0.

^aRisultato della varianza totale escludendo il valore anomalo che potrebbe essere il risultato di un problema di preparazione dei campioni.

Prestazioni cliniche

Concordanza clinica

Lo studio sulle prestazioni cliniche è stato progettato per valutare la concordanza clinica tra il test Aptima CMV Quant Assay e un test di comparazione approvato. Durante lo studio prospettico multicentrico condotto presso otto siti clinici, sono stati raccolti campioni di plasma da pazienti riceventi trapianto di organi solidi (SOTR) e pazienti riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche (HSCTR), sottoposti a monitoraggio del CMV come pratica clinica di routine. Inoltre, sono stati ottenuti da SOTR e HSCTR campioni congelati residui provenienti da donatori di campioni clinici.

Degli 88 soggetti arruolati nello studio prospettico, sei si sono rivelati non valutabili poiché ritirati (n = 5) o non avendo prodotto risultati validi del campione con il test Aptima CMV Quant Assay e con il test approvato (n = 1). La Tabella 23 mostra le caratteristiche cliniche demografiche e al basale degli 82 soggetti valutabili.

Tabella 23: Caratteristiche cliniche demografiche e al basale dei soggetti valutabili nel complesso e per tipo di trapianto

Caratteristiche		SOTR	HSCTR	Tutti
Totale, n		62	20	82
Sesso, n (%)	Maschile	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Femminile	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Età (anni)	Media ± (DS)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Mediana	53,0	54,5	54,0
	Minima	20	22	20
	Massima	81	69	81
Etnia, n (%)	Ispanica o latina	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Non ispanica o latina	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Sconosciuto	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Razza, n (%)	Indiano d'America/nativo d'Alaska	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiatico	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Nero o afro-americano	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Nativo hawaiano/abitante delle isole del Pacifico	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Bianco	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Altro	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Sconosciuto	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Tipo di organo, n (%)	Rene	25 (40,3)	--	--
	Fegato	15 (24,2)	--	--
	Polmone	10 (16,1)	--	--
	Cuore	12 (19,4)	--	--

Tabella 23: Caratteristiche cliniche demografiche e al basale dei soggetti valutabili nel complesso e per tipo di trapianto (*Continua*)

Caratteristiche		SOTR	HSCTR	Tutti
Tipo di cellula staminale, n (%)	Allogeneico	--	18 (90,0)	--
	Autologo	--	2 (10,0)	--
Stato sierologico CMV, n (%)	Donatore positivo / Ricevente negativo	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Donatore negativo / Ricevente positivo	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Donatore positivo / Ricevente positivo	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
In terapia antivirale per CMV, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Giorni di terapia antivirale per				
	n	41	12	53
	Media	13,6	13,3	13,5
	Mediana	11	9,5	11
	Minimo	1	1	1
	Massimo	47	45	47

HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, DS=deviazione standard, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

Nell'ambito dello studio prospettico, sono stati raccolti 365 campioni di plasma dagli 82 soggetti valutabili. Inoltre, sono stati ottenuti 261 campioni congelati residui provenienti da donatori di campioni clinici. Dei 626 campioni clinici di plasma (ovvero, una combinazione di campioni raccolti nell'ambito dello studio prospettico e campioni congelati residui), 597 campioni clinici di plasma abbinati (ovvero, aventi prodotto un risultato valido sia con il test Aptima CMV Quant Assay sia con il test approvato) sono stati inclusi nelle analisi di concordanza. Dei 597 campioni clinici abbinati, 339 sono stati raccolti nell'ambito dello studio prospettico, e 258 erano campioni congelati residui. Separatamente, sono state eseguite analisi di concordanza su 181 campioni abbinati prelevati da soggetti aventi iniziato una terapia antivirale per CMV come parte del loro trattamento di routine durante lo studio prospettico.

La Tabella 24 mostra l'analisi di concordanza e la percentuale di concordanza a diverse soglie (nel complesso e per gruppo di trapianto) tra il test Aptima CMV Quant Assay e il test approvato. L'analisi di concordanza a intervalli diversi di carica virale (nel complesso e per gruppo di trapianto) è illustrata in Tabella 25. Quattro dei 597 risultati complessivi, 3 dei quali provenienti da HSCTR, hanno rivelato una discrepanza che superava la categoria immediatamente adiacente.

Tabella 24: Analisi di concordanza e percentuale di concordanza a diverse soglie (nel complesso e per gruppo di trapianto)

Soglia Gruppo di trapianto	N ^a	Risultati del test Aptima CMV Quant e del test di comparazione ^b				PPA %(n/N) [IC 95%] ^c	NPA %(n/N) [IC 95%] ^c
		Comp [≥] ACMV [≥]	Comp ^{<} ACMV [≥]	Comp ^{<} ACMV ^{<}	Comp [≥] ACMV ^{<}		
Nel complesso							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Rilevato, <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 (1800 IU/ml)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2, 99,8]	96,0 (483/503) [93,9, 97,4]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7943,3 IU/ml)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTR							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Rilevato, <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 (1800 IU/ml)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2, 99,8]	95,1 (308/324) [92,1, 96,9]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7943,3 IU/ml)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTR							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Rilevato, <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 (1800 IU/ml)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7943,3 IU/ml)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV=test Aptima CMV Quant Assay, IC=intervallo di confidenza, Comp=test di comparazione, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, NPA=percentuale di concordanza negativa, PPA=percentuale di concordanza positiva, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi, TND=target non rilevato

Note:

≥: il risultato è maggiore o uguale al valore di soglia dato

<: il risultato è inferiore al valore di soglia dato

Il valore PPA riassume i risultati maggiori o uguali alla soglia data; il valore NPA riassume i risultati inferiori alla soglia data.

^a Numero di campioni clinici abbinati (combinazione di campioni raccolti nell'ambito dello studio prospettico e campioni congelati residui ottenuti da donatori di campioni clinici).

^b test approvato

^c IC dello score

^d LLoQ di un test approvato alternativo

Tabella 25: Analisi di concordanza a intervalli diversi di carica virale (nel complesso e per gruppo di trapianto)

Gruppo di trapianto Risultato del test Aptima CMV Assay	Risultato del test di comparazione ^b (log ₁₀ IU/ml)						
	Totale ^a , N	TND	Rilevato, <2,1	da ≥2,1 a <2,7	da ≥2,7 a <3,3	da ≥3,3 a <3,9	≥ 3,9
Nel complesso							
Numero totale di campioni abbinati, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Rilevato, <2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	140	13	125	2	0	0	0
da ≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/ml	105	0	46	54	5	0	0
da ≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/ml	82	0	2 ^d	34	45	1	0
da ≥3,3 a <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							
Numero totale di campioni abbinati, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Rilevato, <2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	81	9	70	2	0	0	0
da ≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/ml	69	0	26	39	4	0	0
da ≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/ml	60	0	0	25	34	1	0
da ≥3,3 a <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							
Numero totale di campioni abbinati, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Rilevato, <2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	59	4	55	0	0	0	0
da ≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/ml	36	0	20	15	1	0	0
da ≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/ml	22	0	2 ^d	9	11	0	0
da ≥3,3 a <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=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi, TND=target non rilevato

^a Numero di campioni clinici abbinati (combinazione di campioni raccolti nell'ambito dello studio prospettico e campioni congelati residui ottenuti da donatori di campioni clinici).

^b test approvato

^c LLoQ di un test approvato alternativo

^d 4 dei 597 risultati complessivi hanno rivelato una discrepanza che superava la categoria immediatamente adiacente; 1 su 4 proveniva da un SOTR, 3 su 4 provenivano da HSCTR. Dei 2 HSCTR sottoposti ad analisi con un NAAT alternativo, 1 si è rivelato concordante con i risultati del test Aptima CMV Quant Assay.

Tabella 26 mostra l'analisi di concordanza e la percentuale di concordanza a diverse soglie (nel complesso e per gruppo di trapianto) per i campioni raccolti da soggetti che avevano iniziato una terapia antivirale per CMV come parte del trattamento di routine nell'ambito dello studio prospettico. Le analisi di concordanza a intervalli diversi di carica virale utilizzando l'inizio post-trattamento a tutti i punti di tempo combinati (nel complesso e per gruppo di trapianto) sono illustrate in Tabella 27. Uno dei 181 risultati complessivi, proveniente da un SOTR, ha rivelato una discrepanza che superava la categoria immediatamente adiacente.

Tabella 26: Analisi di concordanza e percentuale di concordanza a intervalli diversi utilizzando l'inizio post-trattamento a tutti i punti di tempo combinati (nel complesso e per gruppo di trapianto)

Soglia Gruppo di trapianto	N ^a	Risultati del test Aptima CMV Quant e del test di comparazione ^b				PPA % (n/N) [IC 95%] ^c	NPA % (n/N) [IC 95%] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
Nel complesso							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Rilevato, <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 (1800 IU/ml)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7943,3 IU/ml)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTR							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Rilevato, <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 (1800 IU/ml)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7943,3 IU/ml)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTR							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Rilevato, <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 (1800 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 (7943,3 IU/ml)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

ACMV=test Aptima CMV Quant Assay, IC=intervallo di confidenza, Comp=test di comparazione, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, NPA=percentuale di concordanza negativa, PPA=percentuale di concordanza positiva, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi, TND=target non rilevato

Note:

- ≥: il risultato è maggiore o uguale al valore di soglia dato
- <: il risultato è inferiore al valore di soglia dato
- Il valore PPA riassume i risultati maggiori o uguali alla soglia data; il valore NPA riassume i risultati inferiori alla soglia data.

^a Numero di campioni abbinati raccolti da soggetti assuntivi terapia antivirale per CMV al momento dell'arruolamento o che hanno iniziato una terapia antivirale per CMV nell'ambito dello studio prospettico.

^b test approvato

^c IC dello score

^d LLoQ di un test approvato alternativo

Tabella 27: Analisi di concordanza a intervalli diversi di carica virale utilizzando l'inizio post-trattamento a tutti i punti di tempo combinati (nel complesso e per gruppo di trapianto)

Gruppo di trapianto Risultato del test Aptima CMV Quant	Risultato del test di comparazione ^b (log ₁₀ IU/ml)						
	Totale ^a , N	TND	Rilevato, <2,1	da ≥2,1 a <2,7	da ≥2,7 a <3,3	da ≥3,3 a <3,9	≥ 3,9
Nel complesso							
Numero totale di campioni abbinati, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Rilevato, <2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	41	4	37	0	0	0	0
da ≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/ml	33	0	15	17	1	0	0
da ≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/ml	23	0	0	9	14	0	0
da ≥3,3 a <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							
Numero totale di campioni abbinati, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Rilevato, <2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	32	2	30	0	0	0	0
da ≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/ml	30	0	15	14	1	0	0
da ≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/ml	19	0	0	8	11	0	0
da ≥3,3 a <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							
Numero totale di campioni abbinati, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Rilevato, <2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	9	2	7	0	0	0	0
da ≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/ml	3	0	0	3	0	0	0
da ≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/ml	4	0	0	1	3	0	0
da ≥3,3 a <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=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi, TND=target non rilevato

^a Numero di campioni abbinati raccolti da soggetti assumenti terapia antivirale per CMV al momento dell'arruolamento o che hanno iniziato una terapia antivirale per CMV nell'ambito dello studio prospettico.

^b test approvato

^c LLoQ di un test approvato alternativo

^d 1 dei 181 risultati complessivi ha rivelato una discrepanza che superava la categoria immediatamente adiacente.

Comparazione del metodo

È stato condotto uno studio di comparazione del metodo per valutare le prestazioni del test Aptima CMV Quant Assay a paragone con un test approvato. È stato incluso nelle analisi di comparazione del metodo un totale di 309 campioni clinici CMV positivi abbinati, consistente di 165 campioni raccolti nell'ambito dello studio prospettico e 144 campioni congelati residui con risultati rientranti nell'intervallo lineare comune per entrambi i test. Inoltre, è stato preparato un totale di 105 campioni biologici artificiali, aggiungendo il virus CMV coltivato in plasma con EDTA CMV negativo; di questi, 103 campioni rientravano nell'intervallo lineare comune per entrambi i test. I campioni biologici artificiali sono stati analizzati separatamente.

La Tabella 28 presenta le stime del parametro della regressione di Deming (\log_{10} IU/ml). Dalla Figura 15 alla Figura 18 è visibile la regressione di Deming dei risultati corrispondenti alla carica virale (\log_{10} IU/ml) del test Aptima CMV Quant Assay e del test approvato.

Tabella 28: Parametro della regressione di Deming per tipo di campione e gruppo di trapianto

Tipo di campione	Gruppo di trapianto	Unità della carica virale	Parametro	N ^a	Stima	Metodo Jackknife ^b		Metodo Bootstrap ^c		r
						SE	IC al 95%	SE	IC al 95%	
Clinico	Nel complesso	\log_{10} IU/ml	Intercetta	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Pendenza		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTR	\log_{10} IU/ml	Intercetta	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Pendenza		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	
	HSCTR	\log_{10} IU/ml	Intercetta	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Pendenza		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	
Artificiale	n/a	\log_{10} IU/ml	Intercetta	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Pendenza		1,01	0,011	(0,98, 1,03)	0,012	(0,98, 1,03)	

IC=intervallo di confidenza, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, r=coefficiente di correlazione, SE=errore standard, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

^a Numero di campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

^b Indipendenza presunta tra tutti i campioni; metodo Jackknife utilizzato per stimare SE e IC.

^c I campioni clinici sono stati adeguati in base alla correlazione entro-soggetto mediante il metodo Bootstrap di ricampionamento con 500 iterazioni; lo stesso metodo è stato impiegato anche per i campioni biologici artificiali, ma senza stratificazione per soggetto.

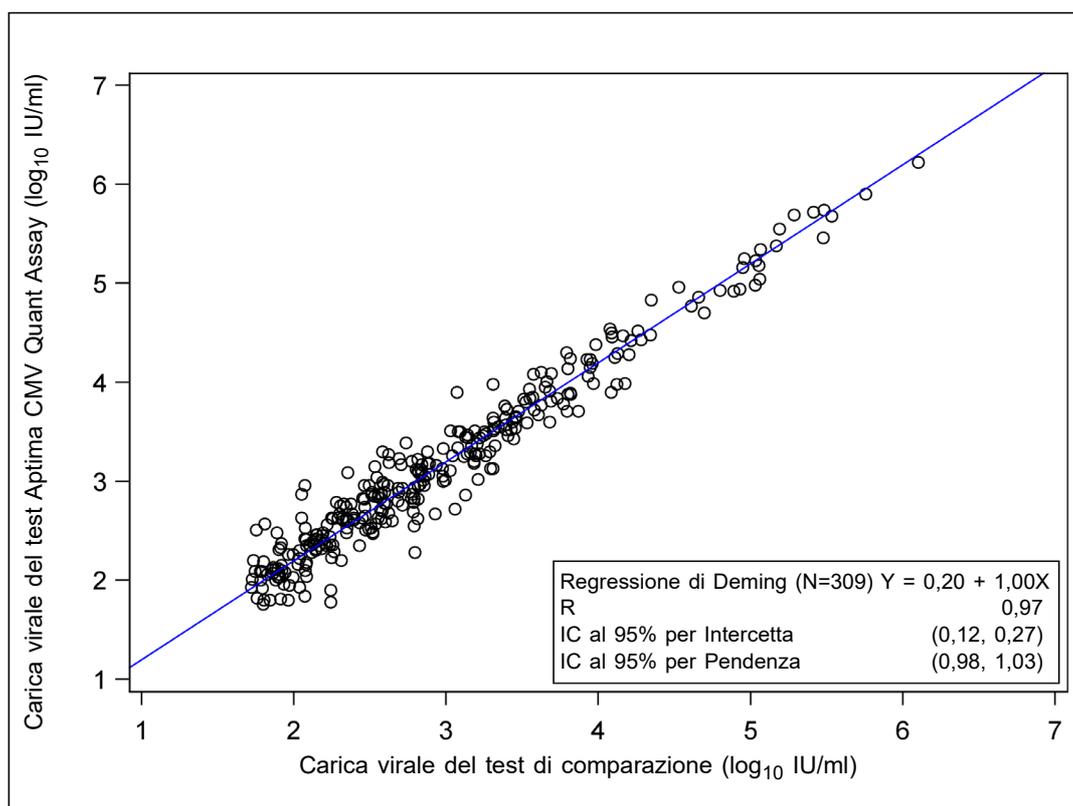


Figura 15. Grafico della regressione lineare di Deming (campioni clinici: combinazione di SOTR e HSCTR)

IC=intervallo di confidenza, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, R=coefficiente di correlazione, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

Note:

- include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.
- Il grafico della regressione di Deming presume l'indipendenza tra tutti i campioni; metodo Jackknife impiegato per stimare gli IC.

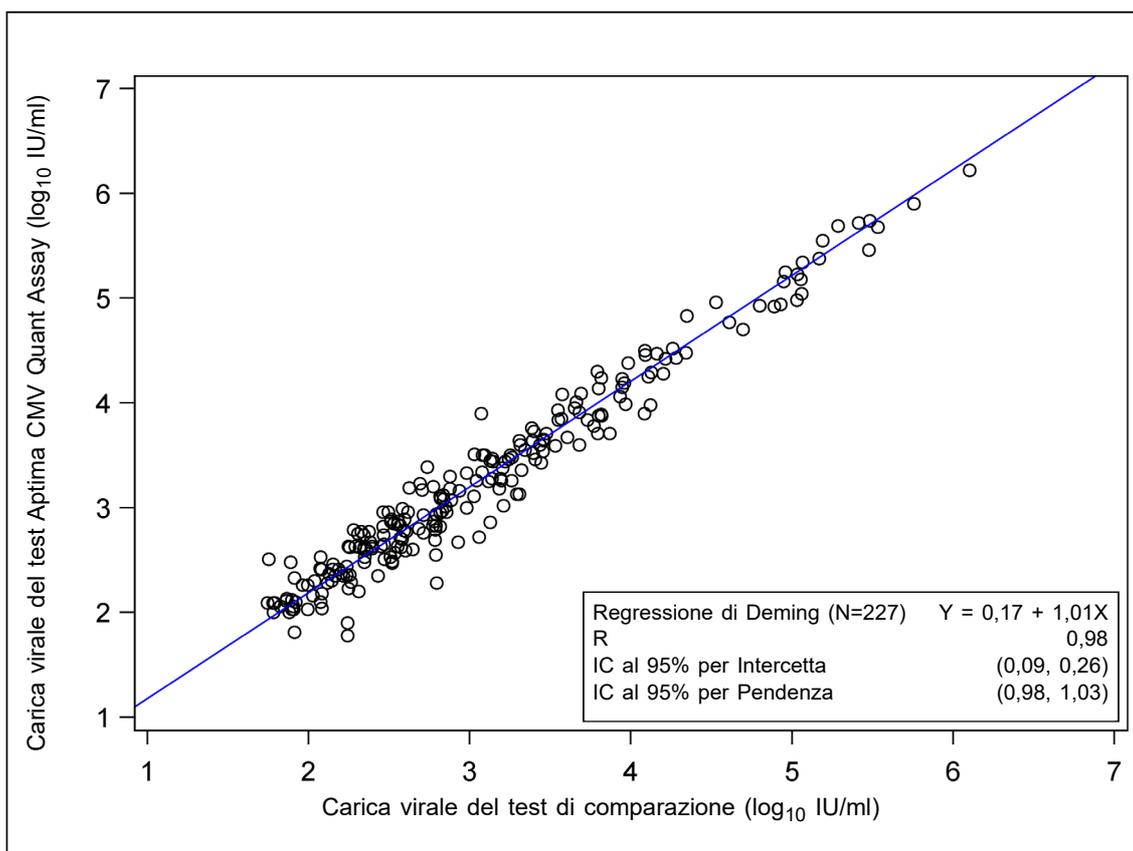


Figura 16. Grafico della regressione lineare di Deming per cariche virali (campioni clinici: solo SOTR)

IC=intervallo di confidenza, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi, R=coefficiente di correlazione

Note:

- include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.
- Il grafico della regressione di Deming presume l'indipendenza tra tutti i campioni; metodo Jackknife impiegato per stimare gli IC.

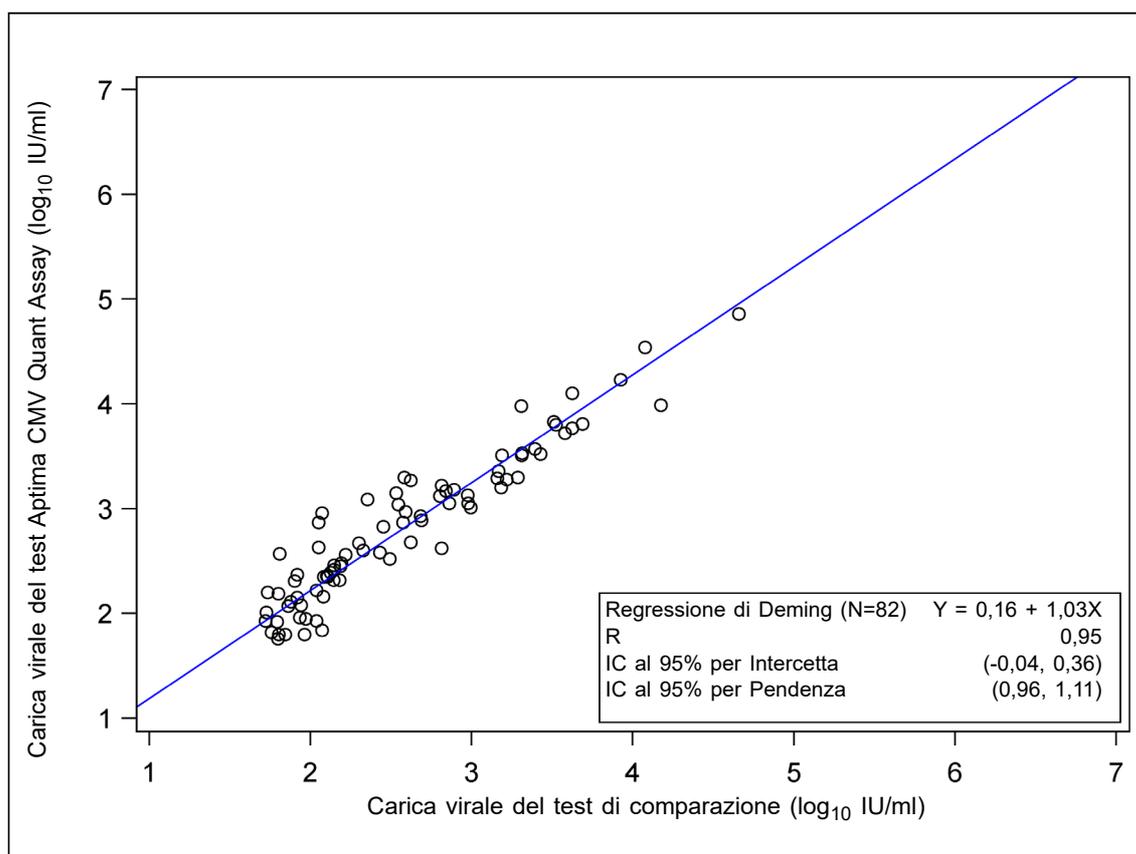


Figura 17. Grafico della regressione lineare di Deming per cariche virali (campioni clinici: solo HSCTR)

IC=intervallo di confidenza, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, R=coefficiente di correlazione

Note:

- include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.
- Il grafico della regressione di Deming presume l'indipendenza tra tutti i campioni; metodo Jackknife impiegato per stimare gli IC.

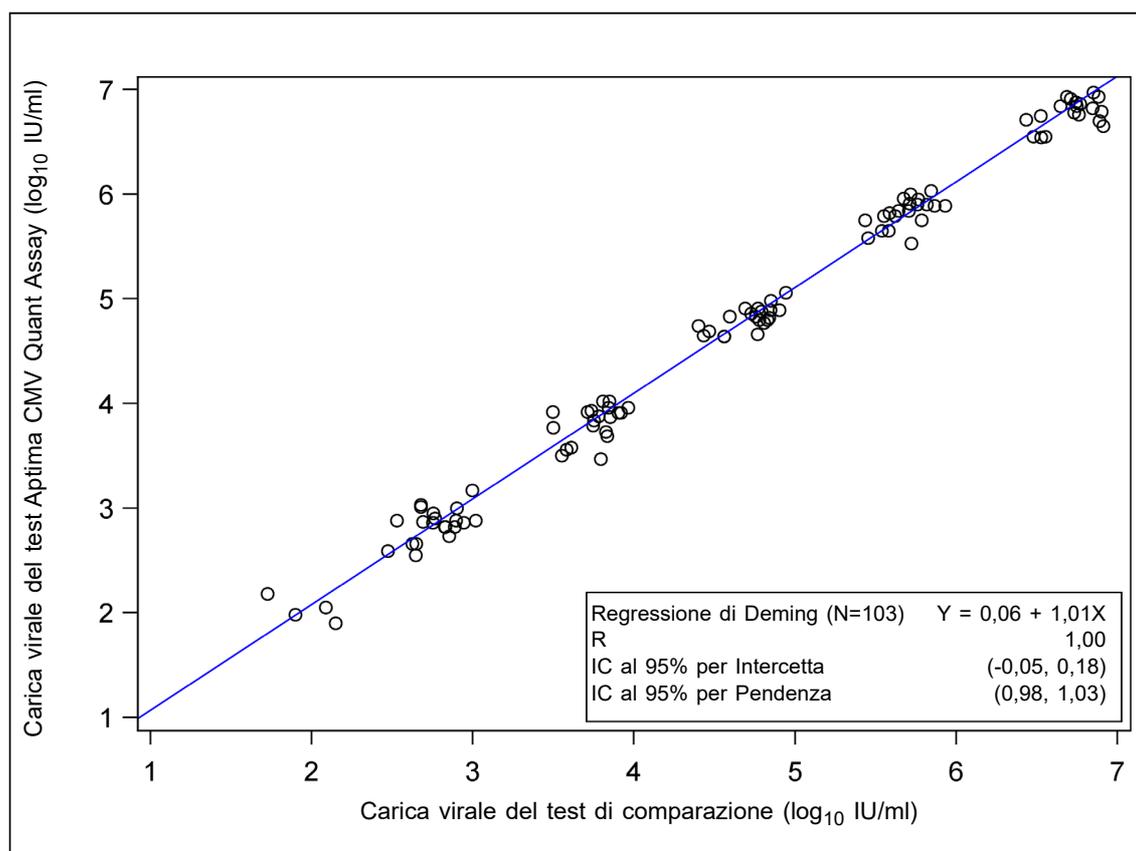


Figura 18. Grafico della regressione lineare di Deming per cariche virali (campioni biologici artificiali)

IC=intervallo di confidenza, R=coefficiente di correlazione

Note:

- include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.
- Il grafico della regressione di Deming presume l'indipendenza tra tutti i campioni; metodo Jackknife impiegato per stimare gli IC.

Differenza accoppiata media

La Tabella 29 sottostante presenta la differenza accoppiata media tra il test Aptima CMV Quant Assay e il test approvato, a intervalli di decisione rappresentativi.

Tabella 29: Media delle differenze accoppiate della carica virale a intervalli di decisione rappresentativi per tipo di campione e gruppo di trapianto

Tipo di campione	Gruppo di trapianto	Intervalli di decisione rappresentativi ^a (log ₁₀ IU/ml)	Numero totale di campioni abbinati ^b (N)	Media (SE)	IC al 95%
Clinico	Nel complesso	Tutti	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		da ≥2,1 a <3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		da ≥3,0 a <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		da ≥4,0 a <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	SOTR	Tutti	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		da ≥2,1 a <3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		da ≥3,0 a <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		da ≥4,0 a <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	HSCTR	Tutti	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		da ≥2,1 a <3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		da ≥3,0 a <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		da ≥4,0 a <5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥ 5,0	0	NC (NC)	NC
Artificiale	n/a	Tutti	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		da ≥2,1 a <3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		da ≥3,0 a <4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		da ≥4,0 a <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥ 5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

IC=intervallo di confidenza, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, NC=non calcolabile, SE=errore standard, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

^a I campioni abbinati sono distribuiti all'interno degli intervalli di decisione in base al risultato del test approvato.

^b Numero di campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

Bias a livelli selezionati di carica virale

La Tabella 30 sottostante presenta il bias tra il test Aptima CMV Quant Assay e il test approvato a cinque livelli selezionati di carica virale, da 2,1 log₁₀ IU/ml a 7,0 log₁₀ IU/ml, con equivalenti associati non trasformati.

Tabella 30: Bias/Differenza sistematica a livelli selezionati di carica virale per tipo di campione e gruppo di trapianto

Tipo di campione	Gruppo di trapianto	Livelli selezionati di carica virale log ₁₀ IU/ml (IU/ml)	Differenza sistematica ^a log ₁₀ IU/ml (IU/ml)
Clinico	Nel complesso	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	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	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)
Artificiale	n/a	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=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

^aLa differenza sistematica è la differenza tra la variabile dell'esito (Y) e la carica virale (X), derivata a ciascuno dei livelli selezionati di carica virale mediante le stime di regressione di Deming per pendenza e intercetta.

Differenza totale ammissibile (ATD)

La Tabella 31 e le figure dalla Figura 19 alla Figura 22 sottostanti presentano i risultati della ATD utilizzando le differenze accoppiate tra il test Aptima CMV Quant Assay e il test approvato rispetto alla loro media a soglie rappresentative e la percentuale di risultati accoppiati nella zona ATD.

Tabella 31: Percentuale delle differenze tra i campioni abbinati all'interno della zona ATD (differenza totale ammissibile) a intervalli diversi di carica virale per tipo di campione e gruppo di trapianto

Tipo di campione	Gruppo di trapianto	Intervalli di carica virale ^a (log ₁₀ IU/ml)	N ^b	Differenze tra campioni abbinati rientranti nella zona ATD				
				n (%)	Percentili			
					2,5%	5%	95%	97,5%
Clinico	Nel complesso	Tutti	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Basso (da ≥2,1 a <3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Medio (da ≥3,3 a <3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Alto (da ≥3,9 a <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
SOTR	Tutti	Tutti	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Basso (da ≥2,1 a <3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Medio (da ≥3,3 a <3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Alto (da ≥3,9 a <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
HSCTR	Tutti	Tutti	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Basso (da ≥2,1 a <3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Medio (da ≥3,3 a <3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Alto (da ≥3,9 a <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Artificiale	n/a	Tutti	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Basso (da ≥2,1 a <3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Medio (da ≥3,3 a <3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Alto (da ≥3,9 a <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

^a I campioni abbinati sono distribuiti all'interno degli intervalli di decisione in base al risultato del test approvato.

^b Numero di campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

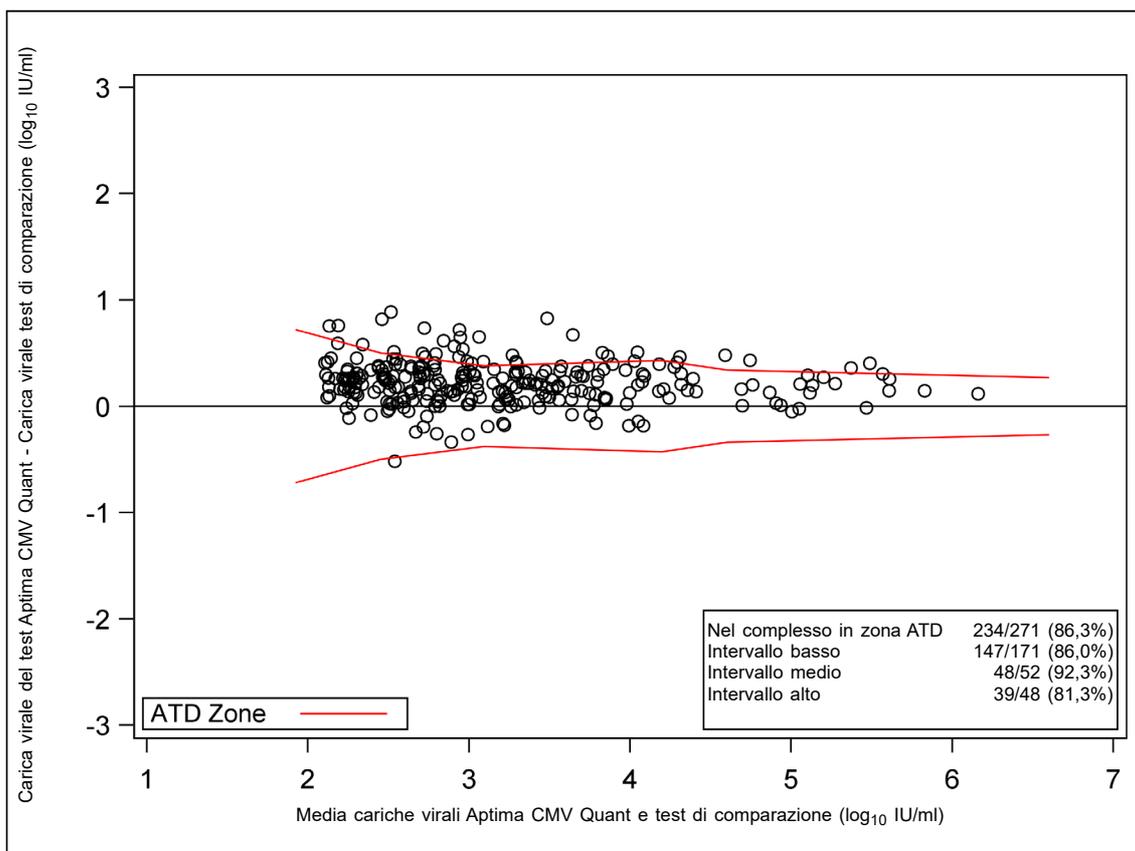


Figura 19. Grafico della differenza dei campioni abbinati e zona ATD (campioni clinici: combinazione di SOTR e HSCTR)

ATD=differenza totale ammissibile, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

Nota: include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

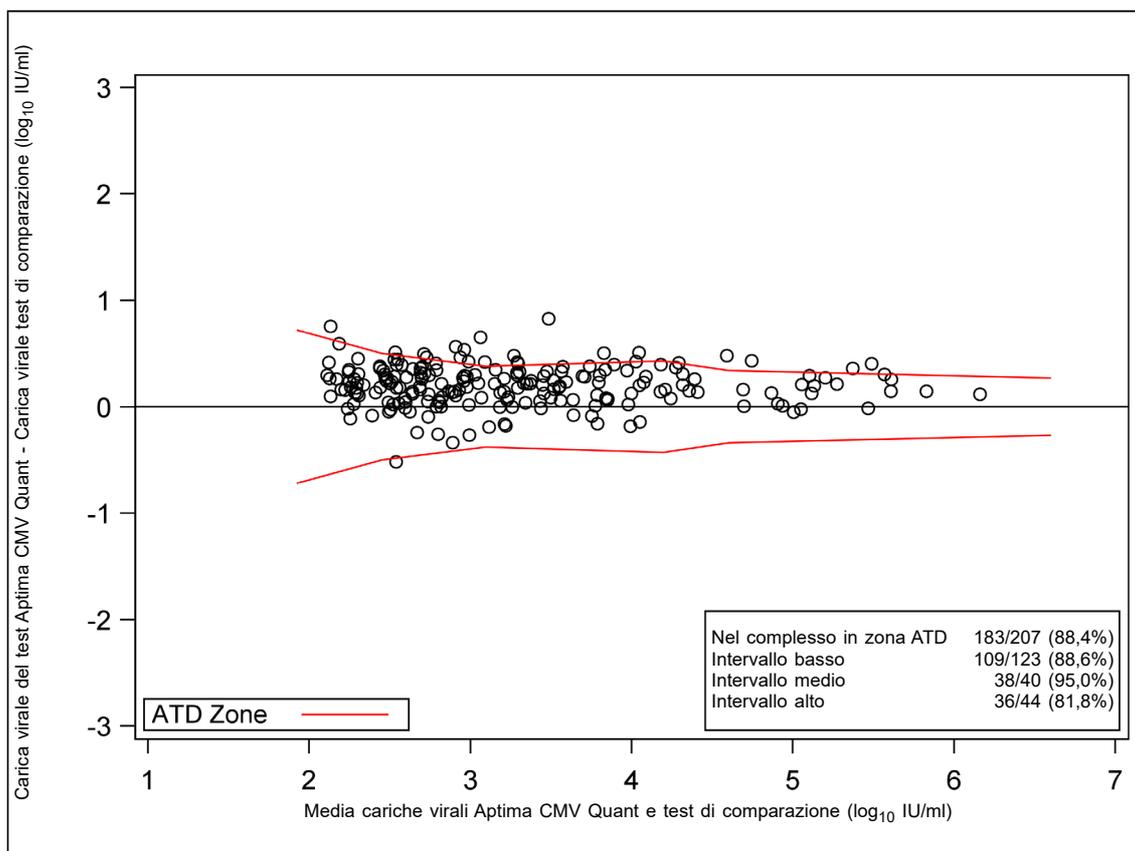


Figura 20. Grafico della differenza dei campioni abbinati e zona ATD (campioni clinici: solo SOTR)

ATD=differenza totale ammissibile, SOTR=riceventi trapianto di organi solidi

Nota: include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

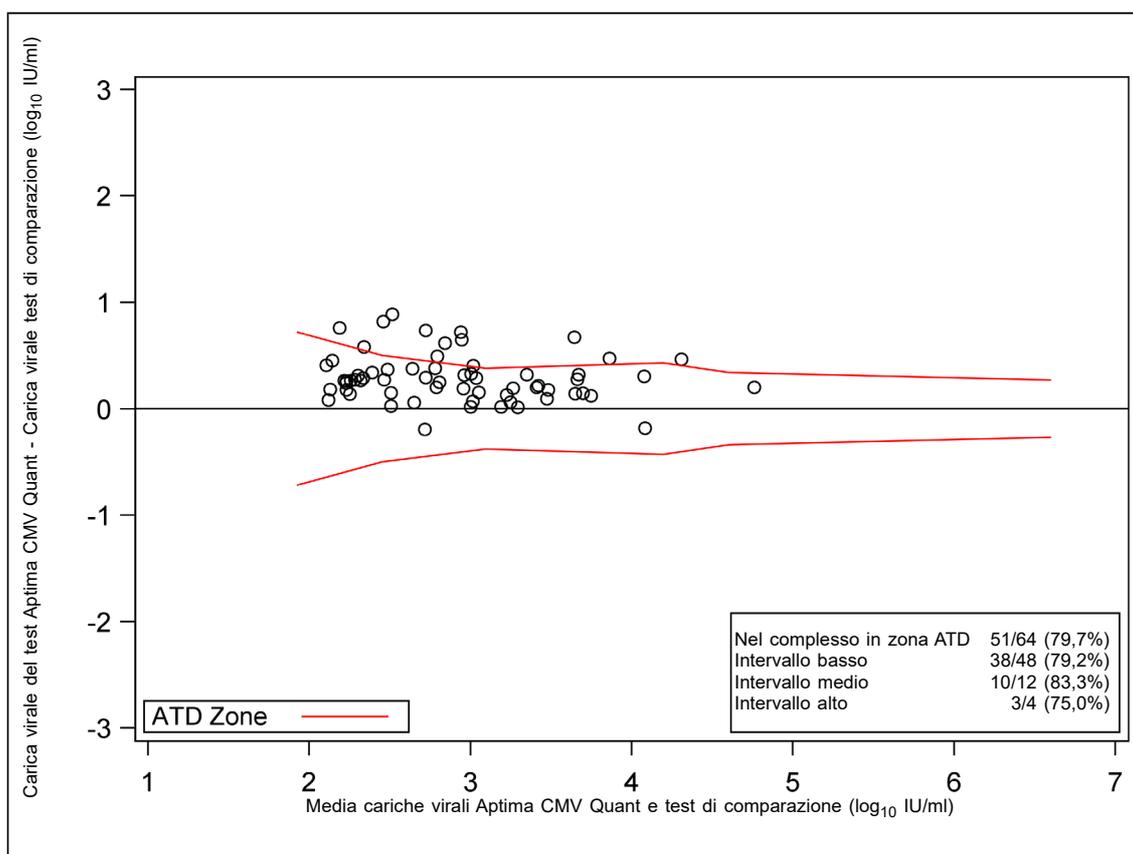


Figura 21. Grafico della differenza dei campioni abbinati e zona ATD (campioni clinici: solo HSCTR)

ATD=differenza totale ammissibile, HSCTR=riceventi trapianto di cellule staminali emopoietiche

Nota: include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

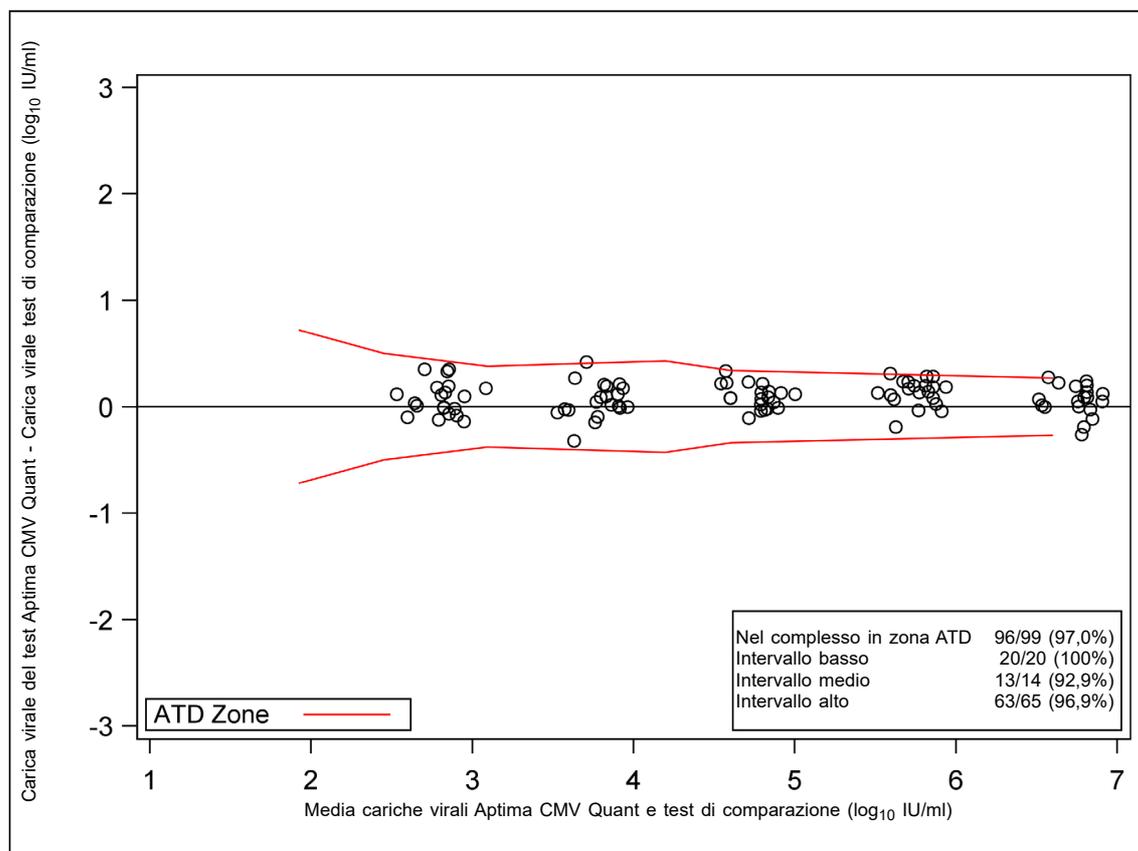


Figura 22. Grafico della differenza dei campioni abbinati e zona ATD (campioni artificiali)

ATD=differenza totale ammissibile

Nota: include i campioni abbinati con risultati nell'intervallo lineare comune per entrambi i test.

Bibliografia

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. Documento CLSI 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

Informazioni di contatto e cronologia delle revisioni



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

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza Tecnica e del servizio di Assistenza Clienti specifici del Paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

Eventuali incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo nell'Unione europea devono essere comunicati al fabbricante e alle autorità competenti dello Stato membro in cui l'utente e/o il paziente risiedono.

Hologic, Aptima, Panther Fusion sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri Paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali che potrebbero figurare in questo foglietto illustrativo sono di proprietà dei rispettivi titolari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

© 2021-2023 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-27747-701 Rev. 001

06/2023

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-27747 Rev. 001	Giugno 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Create Istruzioni per l'uso (IFU) del test Aptima CMV Quant Assay (AW-27747 Rev. 001) basate su AW-25509 Rev. 003 per la conformità normativa con il Regolamento sui dispositivi medico diagnostici in vitro (IVDR). • Aggiunta sezione Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione • Aggiornata sezione Informazioni generali • Aggiornata sezione Informazioni sui rischi • Aggiornate sezioni sulle Prestazioni analitiche e Tabella dei Materiali forniti, • Aggiunte a sezione Prestazioni cliniche: Concordanza clinica, Comparazione del metodo, Differenza accoppiata media, Bias a livelli selezionati di carica virale e Differenza totale ammissibile (ATD). • Aggiornati i Recapiti, tra cui: informazioni relative al rappresentante presso la Comunità europea, al marchio CE, al rappresentante australiano e all'assistenza tecnica • Aggiornamenti vari di stile e formattazione.