

Aptima™ CMV Quant Assay

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*
Pouze k vývozu z USA

Obecné informace	2
Určené použití	2
Shrnutí a vysvětlení testu	2
Principy postupu	2
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci	3
Varování a bezpečnostní opatření	3
Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi	7
Odběr a skladování vzorků	8
Vzorky v systému Panther	10
Přeprava vzorků	10
Systém Panther	11
Reagencie a dodávané materiály	11
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	13
Volitelné materiály	14
Postup testu na systému Panther	14
Poznámky k postupu	20
Kontrola kvality	22
Kalibrace analýzy	22
Negativní a pozitivní kontroly	22
Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola	22
Interpretace výsledků	23
Omezení	24
Analytická funkční způsobilost	25
Mez detekce s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO	25
Mez detekce genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům	26
Lineární rozsah	28
Linearita u jednotlivých genotypů CMV	30
Dolní mez stanovitelnosti s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO	32
Stanovení dolní meze stanovitelnosti u genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům	34
Návaznost na 1. mezinárodní etalon WHO	37
Preciznost	39
Potenciálně interferující látky	40
Specifická	41
Analytická specifická	42
Přenos	43
Korelace metod	43
Reprodukovatelnost	45
Klinická funkčnost	47
Klinická shoda	47
Srovnání metod	53
Střední párový rozdíl	58
Zkreslení u vybraných úrovní virové nálože	59
Přípustný celkový rozdíl (ATD)	60
Literatura	65
Kontaktní údaje a historie revizí	66

Obecné informace

Určené použití

Analýza Aptima™ CMV Quant Assay je analýza amplifikace nukleových kyselin in vitro ke kvantifikaci DNA lidského cytomegaloviru v lidské EDTA plazmě a plné krvi na plně automatizovaném systému Panther™.

Analýza Aptima CMV Quant Assay je určena jako pomůcka při diagnostice a léčbě pacientů po transplantaci solidních orgánů a hematopoetických kmenových buněk.

Analýza Aptima CMV Quant Assay není určena pro použití jako screeningová analýza na přítomnost CMV v krvi nebo krevních produktech.

Shrnutí a vysvětlení testu

Lidský CMV je všudypřítomný, lineární dvouvláknový DNA virus o velikosti 240 kb, který náleží do čeledi herpetických virů. V závislosti na studované populaci a geografické oblasti se séroprevalence viru CMV celosvětově pohybuje od 45 do 100 %.^{1,2} U imunokompetentních hostitelů je infekce virem CMV obvykle asymptomatická a spontánně mizející.

U imunokompromitovaných jedinců, jako jsou příjemci transplantátů a osoby infikované virem lidské imunodeficiency, však virus CMV představuje významnou příčinu morbidity a mortality.

Podobně jako u jiných herpetických virů vzniká po primární infekci virem CMV celoživotní latentní infekce, která se může ojediněle reaktivovat. U pacientů po transplantaci může přenos latentního viru CMV ve štěpu nebo reaktivace latentní infekce virem CMV v hostiteli vést k rozsáhlé replikaci viru a jeho rozšíření do více orgánů, což často představuje ohrožení života.³

Kvantitativní testování amplifikace nukleových kyselin představuje v případě sledování infekce a onemocnění vyvolaných virem CMV u pacientů po transplantaci preferovanou metodu, protože je rychlé a citlivé.⁴ Nejnovější pokyny doporučují monitorovat virovou nálož CMV alespoň jednou týdně, aby bylo možné rozhodnout o zahájení terapie proti CMV a sledovat odpověď na terapii.^{5,6,7,8} Obecně platí, že vyšší hodnoty virové nálože korelují se zvýšeným rizikem onemocnění vyvolaného virem CMV.^{4,9} Kvantifikace DNA viru CMV ve spojení s klinickými projevy a dalšími laboratorními markery je tedy pro léčbu pacientů s infekcí CMV klíčová.

Principy postupu

Aptima CMV Quant Assay je analýza amplifikace nukleových kyselin in vitro, která používá technologii transkripční mediované amplifikace (TMA) v reálném čase v systému Panther* pro kvantifikaci DNA viru CMV, genotypů 1, 2, 3 a 4. Design primerů se zaměřuje na vysoce konzervovaný gen UL56, aby byla zajištěna přesná kvantifikace DNA viru CMV. Tato analýza je standardizována podle 1. mezinárodního etalonu WHO (kód NIBSC: 09/162) pro lidský cytomegalovirus.²¹

Analýza Aptima CMV Quant Assay zahrnuje tři hlavní kroky, které probíhají v jediné zkumavce v systému Panther: záchyt cíle, amplifikace cíle metodou TMA a detekce produktů amplifikace (amplikonů) pomocí fluorescenčně značených sond (indikátory).

*Včetně variant systému Panther.

Během záchytu cíle je ze vzorků izolována virová DNA. Na vzorek je použit detergent, aby došlo k solubilizaci virové schránky, denaturaci proteinů a uvolnění genomické DNA viru. Zachycené oligonukleotidy hybridizují do vysoce konzervovaných oblastí DNA CMV, jsou-li v testovacím vzorku přítomny. Hybridizovaný cíl je poté zachycen na magnetické mikročástice, které jsou odděleny od vzorku v magnetickém poli. Kroky promývání odstraní z reakční zkumavky nadbytečné složky.

Amplifikace cíle probíhá prostřednictvím TMA, což je metoda transkripce mediované amplifikace nukleové kyseliny využívající dva enzymy, reverzní transkriptázu a T7 RNA polymerázu Moloneyho viru myši leukemie (MMLV). Reverzní transkriptáza slouží k vytvoření DNA kopie (obsahující promotorovou sekvenci RNA polymerázy T7) cílové sekvence. RNA polymeráza T7 vytváří vícečetné kopie ampliconu RNA z templátu kopie DNA.

Detekce se provádí pomocí indikátorů z jednovláknové nukleové kyseliny, které jsou součástí amplifikace cíle a které v reálném čase specificky hybridizují amplicon. Každý indikátor obsahuje fluorofor a zhášec. Když není indikátor hybridizován na amplicon, zhášec je v těsné blízkosti fluoroforu a potlačuje fluorescenci. Po navázání indikátoru na amplicon se zhášec posune dále od fluoroforu, který po excitaci zdrojem světla začne emitovat signál specifické vlnové délky. Čím více indikátorů se hybridizuje k ampliconu, tím větší fluorescenční signál je generován. Čas potřebný k dosažení specifikovaného prahu fluorescenčního signálu je úměrný počáteční koncentraci CMV. Každá reakce má svůj vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC), která kontroluje variabilitu ve zpracování vzorku, amplifikaci a detekci. Koncentrace vzorku je určena softwarem systému Panther pomocí signálů CMV a IC pro každou reakci a jejich porovnáním s kalibračními informacemi.

Výsledky analýzy se převádějí z kopií/ml na IU/ml pomocí rovnice konverzního faktoru zabudované v softwaru Panther. Stejná rovnice faktoru konverze se používá pro vzorky plné krve i plazmy. Pokud je v systému Panther vybrán faktor konverze plné krve, použije se na výsledky virové nálože CMV u vzorků plné krve faktor ředění 4.

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). Dokument SSP k analýze Aptima CMV Quant Assay můžete vyhledat pomocí základního jedinečného identifikátoru prostředku (BUDI): **54200455DIAGAPTCMVAP**.

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Před provedením této analýzy si pečlivě prostudujte celou příbalovou informaci a příslušný dokument *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Příručka obsluhy k systému Panther / Panther Fusion). Snížíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.

Související s laboratoří

- D. UPOZORNĚNÍ: Kontroly této analýzy obsahují lidskou plazmu. Plazma je negativní na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a antigen HIV při testování pomocí postupů licencovaných Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv v USA. Kromě toho je plazma při testování pomocí licencovaných testů nukleových kyselin s použitím sdílených vzorků nereaktivní pro DNA CMV, DNA HBV, RNA HCV a RNA HIV-1. Všechny materiály pocházející z lidské krve je nutné považovat za potenciálně infekční a je nutné s nimi manipulovat dle univerzálních bezpečnostních opatření.^{10,11,12}
- E. Tento postup mohou provádět pouze pracovníci s náležitým školením v použití analýzy Aptima CMV Quant Assay a v manipulaci s potenciálně infekčními materiály. Pokud dojde k rozlítí, ihned proveďte dezinfekci pomocí vhodných postupů daného pracoviště.
- F. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- G. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Nepipetujte ústy. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensy soupravy používejte jednorázové rukavice bez talku, ochranné brýle a laboratorní pláště. Po manipulaci se vzorky a reagensy soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- H. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5% až 3,5% (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.
- I. Veškeré materiály, které přišly do styku se vzorky a reagensy, zlikvidujte v souladu s regionálními předpisy.^{10,11,12,13} Důkladně vyčistěte a vydezinfikujte všechny pracovní povrchy.
- J. Kontroly obsahují azid sodný jako konzervační látku. K přenosu reagentie nepoužívejte kovové trubky. Pokud roztoky obsahující azid sodný likvidujete do kanalizačního systému, je nutné je naředit a spláchnout velkým množstvím tekoucí vody. Tato bezpečnostní opatření by měla zabránit nahromadění látky v kovových trubkách, kde by pak hrozil výbuch.
- K. Zásady správné praxe v molekulárních laboratořích zahrnují sledování prostředí. Pro monitorování prostředí laboratoře je navržen následující postup:
1. Zajistěte si vatovou tyčinku a pár alikvotačních zkumavek na vzorky Aptima (Specimen Aliquot Tube, SAT).
 2. Každou zkumavku SAT příslušným způsobem označte.
 3. Každou zkumavku SAT naplňte 1 ml roztoku k ředění vzorků Aptima.
 4. Chcete-li odebrat vzorky povrchu, tampon lehce navlhčete deionizovanou Nuclease-free vodou.
 5. Otřete požadovaný povrch vertikálním pohybem seshora dolů. Otočte tyčinku přibližně o jednu polovinu otočky a zároveň provádějte stěr z místa.
 6. Okamžitě uložte vzorek stěru do zkumavky a jemným otáčením tyčinky v ředicím roztoku extrahujte případné materiály získané stěrem. Ihned otřete jednu stranu přepravní zkumavky s cílem vyextrahovat co nejvíce tekutiny. Zlikvidujte tyčinku a zavřete zkumavku.
 7. Zopakujte kroky u zbývajících vzorků stěru.
 8. Proveďte molekulární analýzu stěru.

Související se vzorky



- L. Vzorky mohou být infekční. Při provádění této analýzy dodržujte univerzální bezpečnostní opatření.^{10,11,12} Zajistěte správné postupy při manipulaci a likvidaci v souladu s místními předpisy.¹¹ Tento postup mohou provádět pouze pracovníci řádně vyškolení v používání analýzy Aptima CMV Quant Assay a v manipulaci s infekčními materiály.



- M. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- N. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáváním aerosolů při uvolňování nebo otevírání vzorků. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.

Související s analýzou

- O. Soupravu reagensů, kalibrátor ani kontroly nepoužívejte po datu expirace.
- P. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagensie analýzy ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kapaliny analýzy mohou být z různých šarží. Kontroly a kalibrátor mohou pocházet z různých šarží.
- Q. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagensů.
- R. Všechny reagensie analýzy uzavřete a skladujte při uvedené teplotě. Při nesprávném skladování reagensů analýzy může být negativně ovlivněna funkční způsobilost analýzy. Další informace naleznete v části *Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi a Postup testu na systému Panther*.
- S. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagensie ani kapaliny analýzy. Nedolévejte reagensie ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagensů.
- T. Zamezte kontaktu TER s kůží, očima a sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu s touto reagensií, opláchněte se vodou. Pokud dojde k rozlití této reagensie, zředte ji vodou a postupujte podle příslušných postupů na pracovišti.
- U. Některé reagensie v této sadě jsou označeny rizikovými a bezpečnostními symboly.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (BL) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region naleznete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na webových stránkách www.hologiccsds.com. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na webových stránkách <http://www.hologic.com/package-inserts>.

Informace o nebezpečí pro EU	
	<p>Kontroly ze sady CMV <i>Lidské sérum / lidská plazma 95–100 %</i> <i>Azid sodný < 1 %</i></p>
	<p>VAROVÁNÍ H312 – Zdraví škodlivý při styku s kůží. H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. EUH032 – Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>

	<p>Kalibrátor ze sady HEPES 15–20 % Laurylsulfát, lithná sůl 5–10 % Hydroxid lithný, monohydrát, 1–5 % Kyselina jantarová 1–5 %</p> <p>– –</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>
 	<p>Reagencie pro zesílení cíle (TER) Hydroxid lithný, monohydrát, 5–10 %</p> <p>NEBEZPEČÍ</p> <p>H302 – Zdraví škodlivý při požití. H314 – Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. P260 – Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. P280 – Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. P303 + P361 + P353 – PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte. P305 + P351 + P338 – PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. P310 – Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>
	<p>Promotorová reagencie Chlorid hořečnatý 55–60 %</p> <p>– –</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>
	<p>Amplifikační reagencie Chlorid hořečnatý 65–70 %</p> <p>– –</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>
	<p>Reagencie pro zachycení cíle HEPES 15–20 % Laurylsulfát, lithná sůl 5–10 % Kyselina jantarová 1–5 % Hydroxid lithný, monohydrát, 1–5 %</p> <p>– –</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>
	<p>Enzymatická reagencie HEPES 1–5 %</p> <p>– –</p> <p>H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P280 – Používejte ochranné brýle/obličejový štít.</p>

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

- A. V následující tabulce jsou uvedeny skladovací podmínky a stabilita reagensů, kontrol a kalibrátoru.

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Otevřená sada (po rekonstituci)	
		Skladování	Stabilita
Amplifikační reagencie qCMV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymatická reagencie qCMV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro enzymy qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Promotorová reagencie qCMV	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro promotor qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Reagencie pro záchyt cíle qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qCMV PCAL (pozitivní kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
KONTROLA qCMV NC – (negativní kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
KONTROLA qCMV LPC + (slabě pozitivní kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
KONTROLA qCMV HPC + (silně pozitivní kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 24 hodin
Reagencie pro zesílení cíle qCMV	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	30 dní ^a

^a Po vyjmutí reagensů ze systému Panther je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

- B. Zlikvidujte veškeré nepoužité rekonstituované reagensy, reagensy pro záchyt cíle (TCR) a reagensy pro zesílení cíle (TER) po 30 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže podle toho, která situace nastane dříve.
- C. Reagensy uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji 96 hodin. Reagensy lze vložit do systému Panther až 8krát. Systém Panther zapíše každé vložení reagensů.
- D. Po rozmrazení kalibrátoru musí být roztok čirý, tzn. nesmí být kalný a nesmí obsahovat precipitáty. Zkontrolujte, že se sraženiny rozpustily. Kalibrátor nepoužívejte, pokud vznikl gel, sraženina nebo zákal.
- E. Lyofilizovaná promotorová reagencie a rekonstituovaná promotorová reagencie jsou fotosenzitivní. Při skladování a přípravě k použití chraňte tyto reagensy před světlem.
- F. Reagensy pro zesílení cíle qCMV musí být před použitím uložena při teplotě 15 °C až 30 °C.

Odběr a skladování vzorků

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Přijměte univerzální bezpečnostní opatření.

Poznámka: Dávejte pozor, aby při manipulaci se vzorky nedošlo ke křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

Poznámka: K uskladnění vzorků se doporučují pouze plastové sekundární zkumavky.

Pro přípravu plazmy je možné použít vzorky plné krve odebrané do následujících skleněných nebo plastových zkumavek:

- Zkumavky obsahující antikoagulanty EDTA
- Zkumavky na přípravu plazmy (Plasma Preparation Tube, PPT)

A. Sběr vzorků

1. Plazma: Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Oddělte plazmu od erytrocytárního terčiku dle pokynů výrobce použité zkumavky. Plazmu lze v systému Panther testovat v primární zkumavce nebo přenést do sekundární zkumavky, například alikvotační zkumavky na vzorky Aptima (SAT). K získání objemu vzorku 500 µl je minimální objem plazmy v případě primárních odběrových zkumavek 1 200 µl. V případě sekundárních zkumavek je k dosažení objemu vzorku 500 µl potřeba minimální objem 700 µl. V následující tabulce jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky.

Zkumavka (velikost a typ)	Mrtvý objem v systému Panther
Alikvotační zkumavka Aptima (SAT)	0,2 ml
12 × 75 mm	0,5 ml
13 × 100 mm	0,5 ml
13 × 100 mm s gelem	0,3 ml
16 × 100 mm s gelem	0,7 ml

Pokud neprovedete testování ihned, je možné plazmu uskladnit v souladu s níže uvedenými specifikacemi. Při převedení do sekundární zkumavky může být plazma zmrazena na teplotu –20 °C nebo –70 °C. Nepřekračujte 3 cykly zmrazení–rozmrazení. Nezmrazujte vzorky plazmy v primárních odběrových zkumavkách s EDTA.

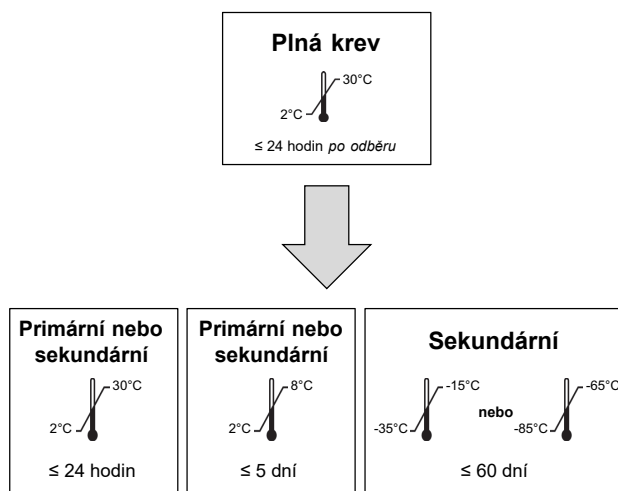
2. Plná krev musí být před testováním v systému Panther zpracována pomocí předem naplněných zkumavek s ředicím roztokem pro plnou krev. U nezpracovaných vzorků plné krve nepřekračujte 3 cykly zmrazení–rozmrazení.

B. Podmínky uskladnění vzorků

1. Vzorky EDTA plazmy

Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Plazma může být poté uchovávána za jedné z následujících podmínek:

- V primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin.
- V primární odběrové zkumavce nebo sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů.
- V sekundární zkumavce při teplotě –20 °C nebo –70 °C po dobu až 60 dnů.

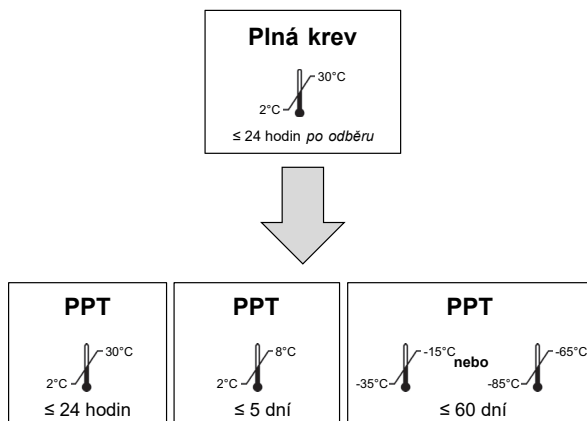


Obrázek 1. Podmínky skladování pro zkumavky s EDTA

2. Vzorky PPT

Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Plazma může být poté uchovávána za jedné z následujících podmínek:

- Ve zkumavce PPT při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin.
- Ve zkumavce PPT při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů.
- Ve zkumavce PPT při teplotě –20 °C nebo –70 °C po dobu až 60 dnů.

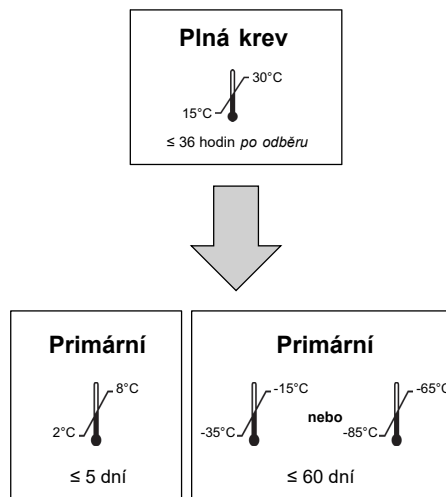


Obrázek 2. Podmínky skladování pro zkumavky PPT

3. Vzorky plné krve

Plnou krev lze skladovat při teplotě 15 °C až 30 °C po dobu až 36 hodin po odběru vzorku. Odebranou plnou krev lze skladovat za jedné z následujících podmínek:

- V primární odběrové zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů.
- V primární odběrové zkumavce při teplotě –20 °C nebo –70 °C po dobu až 60 dnů.



Obrázek 3. Podmínky skladování pro vzorky plné krve

Vzorky v systému Panther

Vzorky plazmy a zpracované vzorky plné krve mohou být v systému Panther ponechány neuzavřené po dobu až 8 hodin. Vzorky je možné vyjmout ze systému Panther a otestovat, dokud doba v přístroji nepřekročí 8 hodin před pipetováním vzorku systémem Panther.

Přeprava vzorků

Dodržujte podmínky uchovávání vzorků uvedené v části *Odběr a skladování vzorků*.

Poznámka: Vzorky musejí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagentie pro analýzu Aptima CMV Quant Assay pro systém Panther. Vedle názvu reagentie jsou rovněž uvedeny symboly pro identifikaci reagentií.

Reagentie a dodávané materiály

Sada analýzy Aptima CMV Quant Assay, 100 testů (kat. č. PRD-05074)

(1 krabička analýzy, 1 krabička reagentie pro zesílení cíle, 1 sada kalibrátorů a 1 sada kontrol)

Krabička analýzy Aptima CMV Quant Assay

(po přijetí skladujte při teplotě 2 až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
A	Amplifikační reagentie qCMV <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.</i>	1 lahvička
E	Enzymatická reagentie qCMV <i>Vysušená reverzní transkriptáza a RNA polymeráza v roztoku pufrovaném HEPES.</i>	1 lahvička
PRO	Promotorová reagentie qCMV <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.</i>	1 lahvička
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci qCMV <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 7,2 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy qCMV <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 × 5,8 ml
PROR	Rekonstituční roztok pro promotor qCMV <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 4,5 ml
TCR	Reagentie pro záchyt cíle qCMV <i>Nukleové kyseliny v pufrovaném solném roztoku obsahujícím pevnou fázi, neinfekční nukleové kyseliny a vnitřní kalibrátor.</i>	1 × 72,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Krabička s reagentií pro zesílení cíle Aptima CMV Quant

(po přijetí skladujte při teplotě 15 až 30 °C)

Symbol	Součást	Množství
TER	Reagentie pro zesílení cíle qCMV <i>Koncentrovaný roztok hydroxidu lithného.</i>	1 × 46,0 ml

Kalibrační sada Aptima CMV Quant (kat. č. PRD-05075)
(po přijetí skladujte při teplotě –15 C až –35 °C)

Symbol	Součást	Množství
PCAL	Pozitivní kalibrátor qCMV <i>Plazmidová DNA v pufovaném roztoku.</i>	5 × 2,5 ml
	Štítek s čárovým kódem kalibrátoru	–

Sada kontrol Aptima CMV Quant (kat. č. PRD-05076)
(po přijetí skladujte při teplotě –15 C až –35 °C)

Symbol	Součást	Množství
NC	Negativní kontrola qCMV <i>Defibrinovaná lidská plazma negativní na CMV, obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervační látky.</i>	5 × 0,8 ml
LPC	Nízká pozitivní kontrola qCMV <i>Inaktivovaný virus CMV v defibrinované lidské plazmě obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervační látky.</i>	5 × 0,8 ml
HPC	Vysoká pozitivní kontrola qCMV <i>Inaktivovaný virus CMV v defibrinované lidské plazmě obsahující gentamicin a 0,2% azid sodný jako konzervační látky.</i>	5 × 0,8 ml
	Štítek s čárovým kódem kontroly	–

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther™	303 095
Systém Panther Fusion™	PRD-04172
Systém Panther, nepřetržité odvádění tekutin a odpadů (Panther Plus)	PRD-06067
Analytická sada Panther pro analýzy v reálném čase (pouze pro analýzy v reálném čase)	PRD-03455 (5 000 testů)
Sada kapalin pro analýzu Aptima™ (rovněž známá jako univerzální sada kapalin) obsahuje promývací roztok Aptima, pufr Aptima pro deaktivaci kapaliny a olejovou reagensii Aptima	303014 (1 000 testů)
Jednotky s více zkumavkami (MTU)	104772-02
Sada pytlů na odpad Panther	902731
Kryt odpadního koše Panther	504405
Nebo testovací souprava systému Panther (při souběžném provádění analýz TMA, které neprobíhají v reálném čase, s analýzami TMA v reálném čase) obsahuje jednotky MTU, pytle na odpad, kryty odpadních košů, automatickou detekci a analytické kapaliny	303096 (5 000 testů)
Zkumavky s ředicím roztokem pro plnou krev (pouze pro zpracování vzorků plné krve)	PRD-06783 (100 předem naplněných zkumavek v jednom sáčku)
Špičky, 1 000 µl, s filtrem, vodivé, detekující kapaliny a jednorázové <i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u místního zástupce.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bělidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice bez talku	–
Náhradní nepropichovací uzávěry	103036A
Náhradní pevné uzávěry Hologic (uzávěr zkumavky na jedno použití pro zpracování plné krve)	PRD-06720
Náhradní uzávěry pro reagensie <i>Rekonstituční lahvičky pro amplifikační, enzymovou a promotorovou reagensii</i>	CL0041 (100 uzávěrů)
Lahvička s TCR	CL0040 (100 uzávěrů)
Lahvička s TER	903302 (100 uzávěrů)
Kryty laboratorních stolů s plastovou vrstvou	–
Utěrky neuvolňující vlákna	–
Pipetor	–
Špičky	–
Varianty primárních odběrových zkumavek (EDTA a PPT): 13 mm × 100 mm 13 mm × 75 mm 16 mm × 100 mm	–

Materiál	Kat. č.
Odstředivka	–
Vortex	–

Volitelné materiály

Materiál	Kat. č.
Druhy sekundární zkumavky:	
12 mm × 75 mm	–
13 mm × 100 mm	–
16 mm × 100 mm	–
Alikvotační zkumavky Aptima (SAT) (balení po 100 ks)	503 762
Uzávěr přepravní zkumavky (balení po 100 ks) uzávěr pro zkumavku SAT	504 415
Roztok k ředění vzorků Aptima	PRD-03003
Souprava k ředění vzorků Aptima obsahuje roztok Aptima k ředění vzorků, 100 zkumavek SAT a 100 uzávěrů	PRD-03478
Transferové pipety	–
Vatové tyčinky	–
Třepačka pro zkumavky	–

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o postupu najdete v příslušné Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovního prostoru

- Očistěte pracovní povrchy tam, kde budete připravovat reagenty. Otřete pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte pracovní desku laboratorního stolu čistým absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.
- Zvlášť očistěte pracovní povrch, na kterém budete vzorky připravovat. Dodržujte výše uvedený postup (krok A.1).
- Vyčistěte pipety. Použijte výše uvedený postup čištění (krok A.1).

B. Příprava kalibrátoru a kontrol

Než přistoupíte k následujícímu zpracování, zajistěte, aby se teplota kalibrátoru a kontroly ustálila na 15 °C až 30 °C:

- Vytáhněte kalibrátor a kontroly z prostoru pro uchovávání (–15 °C až –35 °C) a uložte je při teplotě 15 °C až 30 °C. Po celou dobu rozmrazování všechny zkumavky jemně převracejte, aby se dobře promíchaly. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

Volitelné. Zkumavky kalibrátoru a kontrol je možné vložit do třepačky pro zkumavky a pečlivě promíchat. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

Poznámka: Při převracení kalibrátoru a kontrol dávejte pozor, aby nevznikala přebytečná pěna. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

2. Po rozmrazení obsahu zkumavky vysušte vnější povrch zkumavky čistým, suchým jednorázovým hadříkem.
3. V rámci prevence kontaminace zkumavky zatím neotevírejte.

C. Rekonstituce/příprava reagentie z nové sady

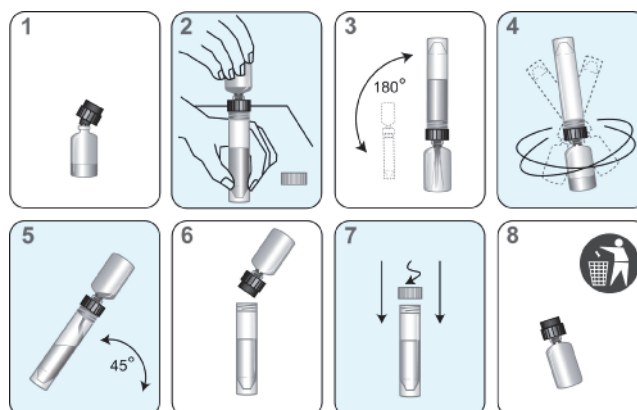
Poznámka: Rekonstituci reagentie je nutné provést před zahájením veškerých prací se systémem Panther.

1. Reagentii pro záchyt cíle (TCR) připravíte následujícím způsobem:
 - a. Vytáhněte reagentii TCR ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce reagentie TCR, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
 - b. Ihned poté 10krát důkladně protřepejte lahvičku reagentie TCR. Nechte lahvičku reagentie TCR volně zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C po dobu 45 minut. Během této doby minimálně co 10 minut jemně otočte a převraťte lahvičku reagentie TCR.

Volitelné. Lahvičku reagentie TCR je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagentii TCR ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C) a ihned 10krát důkladně protřepejte. Uložte lahvičku reagentie TCR na třepačku pro zkumavky a nechte reagentii TCR zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 45 minut.
 - c. Před použitím se ujistěte, že se veškerý precipitát nachází v roztoku a že jsou magnetické částičky ponořeny.
2. Pokud chcete rekonstituovat amplifikační, enzymatické a promotorové reagentie, postupujte následujícím způsobem:
 - a. Vytáhněte lyofilizované reagentie a odpovídající rekonstituční roztoky ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagentií.
 - b. Ujistěte se, že rekonstituční roztoky a reagentie mají shodné barvy štítků. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentií.
 - i. Odstraňte kovový uzávěr a gumovou zátku lahvičky s lyofilizovanou reagentií a otevřete ji.
 - ii. Do lahvičky pevně zasuňte vroubkovaný konec rekonstituční objímky (černý) (Obrázek 4, krok 1).
 - iii. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
 - iv. Lahvičku s rekonstitučním roztokem uložte na stabilní povrch (např. laboratorní stůl). Poté převraťte lahvičku s lyofilizovanou reagentií přes lahvičku s rekonstitučním roztokem a pevně připojte objímku k lahvičce s rekonstitučním roztokem (Obrázek 4, krok 2).
 - v. Pomalu převraťte propojené lahvičky (skleněná lahvička připojená k lahvičce s roztokem), aby roztok stekl do skleněné lahvičky (Obrázek 4, krok 3).
 - vi. Zvedněte propojené lahvičky a minimálně 10 sekund je míchejte (Obrázek 4, krok 4).
 - vii. Počkejte minimálně 30 minut, než se lyofilizovaná reagentie dostane do roztoku.
 - viii. Po přechodu lyofilizované reagentie do roztoku minimálně 10 sekund míchejte sestavené lahvičky a poté lehce protřepejte roztok ve skleněné lahvičce, aby se dobře promíchal.

- c. Pomalu znovu nakloňte připojené lahvičky, aby všechen roztok stekl zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem (Obrázek 4, krok 5).
- d. Opatrně odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 4, krok 6).
- e. Znovu uzavřete lahvičku uzávěrem. Na štítek zapište iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 4, krok 7).
- f. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 4, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagensů zabraňte tvorbě přebytečné pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.



Obrázek 4. Proces rekonstituce reagensů

3. Vyjměte reagensii pro zesílení cíle qCMV z prostoru pro uchovávání (15 °C až 30 °C). Na štítek zapište iniciály obsluhy a datum otevření. Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce TER a ujistěte se, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.

D. Příprava u dříve připravovaných reagensů

1. Vytáhněte dříve připravené reagensie ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Před zahájením analýzy musejí být dříve připravené amplifikační, enzymové, promotorové reagensie a TCR vytemperovány na teplotu 15 °C až 30 °C.
2. Vyjměte TER z prostoru pro uchovávání (15 °C až 30 °C).
3. U dříve připravené reagensie TCR před vložením do systému proveďte krok C.1 uvedený výše.
4. Protřepejte a převraťte amplifikační, enzymové a promotorové reagensie, aby se před vložením do systému dobře promíchaly. Při převracení reagensů zabraňte tvorbě přebytečné pěny.

Volitelné. Dříve připravené reagensie je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagensie z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C). Uložte reagensie na třepačku zkumavek a nechte je zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 30 minut.

5. Láhve s reagensii nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a zamítne je.

E. Manipulace se vzorky plazmy

1. Ujistěte se, že zpracované vzorky v primárních zkumavkách nebo neřaděné vzorky v sekundárních zkumavkách byly správně skladovány dle pokynů uvedených v části *Odběr a skladování vzorků*.

2. Ujistěte se, že jsou zmrazené vzorky zcela rozmrazené. Pečlivě promíchejte rozmrazené vzorky po dobu 3 až 5 sekund ve vortexu.
3. Než přikročíte ke zpracování, nechte vzorky zahřát na teplotu 15 °C až 30 °C. Další informace o stavu v přístroji najdete v části *Vzorky v systému Panther*.
4. Ujistěte se, že každá primární odběrová zkumavka obsahuje až 1 200 µl vzorku, respektive že každá sekundární zkumavka obsahuje alespoň 700 µl vzorku. V tabulce v části *Sběr vzorků* jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky.
5. Před vložením vzorků do stojanu na vzorky proveďte centrifugaci každého vzorku s otáčkami 1 000 až 3 000 g po dobu 10 minut. V tomto kroku neodstraňujte uzávěry. Informace o vkládání stojanu a odstraňování uzávěrů naleznete v kroku G.2 uvedeném níže.

F. Manipulace se vzorky plné krve

1. Ujistěte se, že nezpracované vzorky v primárních zkumavkách jsou správně skladovány dle pokynů uvedených v části *Odběr a skladování vzorků*.
2. Ujistěte se, že jsou zmrazené vzorky zcela rozmrazené. Než přikročíte ke zpracování, nechte vzorky zahřát na teplotu 15 °C až 30 °C. Další informace o stavu v přístroji najdete v části *Vzorky v systému Panther*.
3. Zkumavky s plnou krví jemně převraťte nejméně 3krát anebo je jemně promíchejte na třepačce, dokud krev nebude homogenní.
4. Před zpracováním vzorku proveďte u každého vzorku následující postup.
 - a. Krev v primárních zkumavkách by se měla důkladně promíchat převrácením a vzorek by se měl okamžitě přenést do zkumavky obsahující ředící roztok pro plnou krev.
 - b. Do předem naplněné zkumavky s ředícím roztokem pro plnou krev přidejte 500 µl vzorku plné krve.
 - c. Nasadte zpět uzávěr a vzorek alespoň 5 sekund vortexujte.Informace o vkládání stojanu a odstraňování uzávěrů naleznete v kroku G.2 uvedeném níže.

G. Příprava systému

1. Systém nastavte podle pokynů uvedených v *Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagentie vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky do stojanu na vzorky. Pro každou zkumavku na vzorky proveďte následující kroky (vzorek a v případě potřeby kalibrátor a kontroly):
 - a. Uvolněte uzávěr jedné zkumavky na vzorky, neodstraňujte jej však zcela.
Poznámka: *Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáním aerosolů. Jemně uvolněte uzávěry na vzorcích.*
 - b. Vložte zkumavku na vzorky do stojanu na vzorky.
 - c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pro všechny zbývající vzorky.
 - d. Po vložení vzorků do stojanu na vzorky vytáhněte a zlikvidujte uzávěry všech zkumavek na vzorky v jednom stojanu na vzorky. Nepřenášejte uzávěr nad jinými stojany na vzorky ani zkumavkami na vzorky, aby nedošlo ke kontaminaci.
 - e. V případě potřeby použijte novou, jednorázovou přenosovou pipetu k odstranění případných bublin nebo pěny. Bubliny ve zkumavce narušují detekci hladiny systémem Panther.

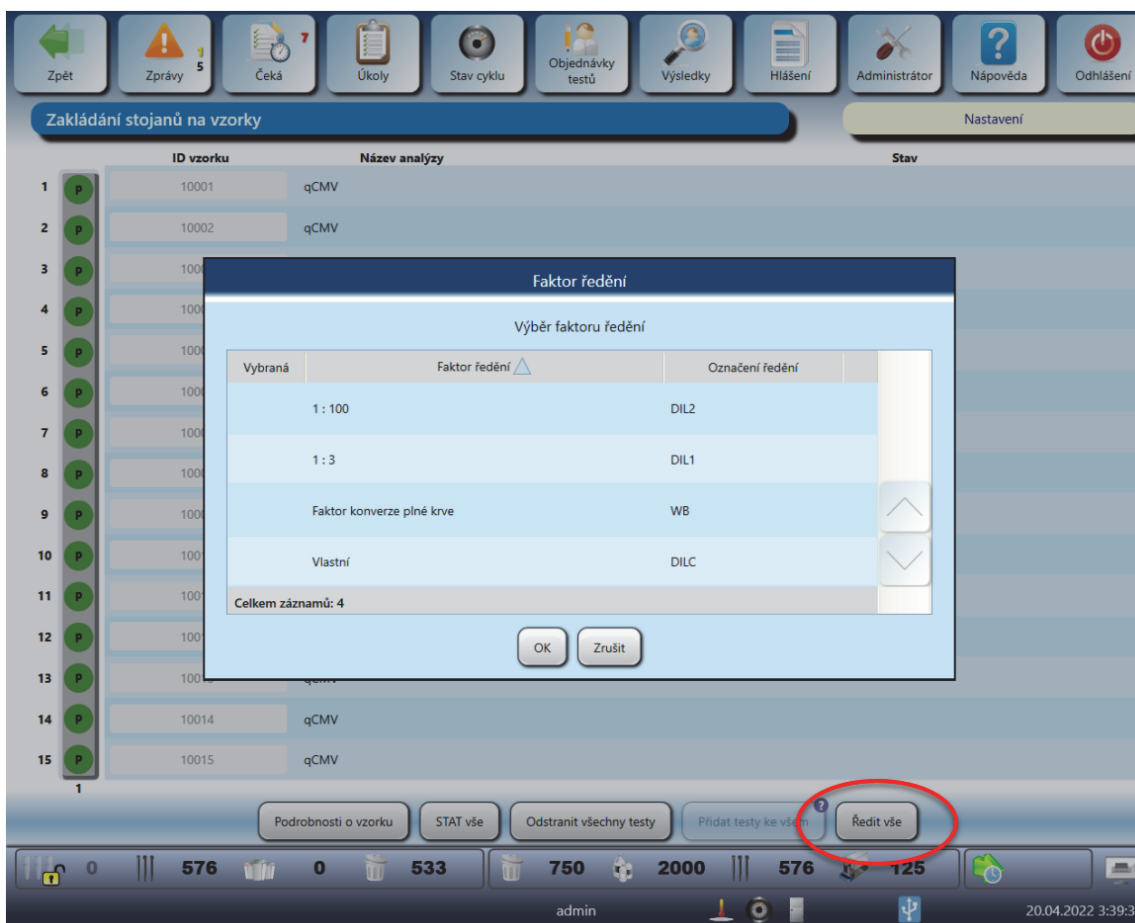
- f. Po odstranění posledního uzávěru vložte stojan na vzorky do prostoru na vzorky.
Poznámka: Pokud zpracováváte současně jiné analýzy a typy vzorků, zajistěte držák vzorku před vložením stojanu na vzorky do prostoru na vzorky.
- g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pro další stojan na vzorky.

H. Příprava systému – použití faktoru konverze pro vzorky plné krve.

1. Systém nastavte podle pokynů uvedených v Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion.
2. Vložte stojan na vzorky.
3. Použijte faktor konverze plné krve na objednávky analýz pro vzorky plné krve.
Poznámka: Faktor konverze plné krve lze použít na celý stojan nebo na jednu objednávku testu.

Postup použití faktoru konverze plné krve na celý stojan se vzorky plné krve:

- a. Na obrazovce *Sample Rack Bay* (Nosič stojanů na vzorky) poklepejte na příslušný založený stojan. Pro vybraný stojan se otevře obrazovka *Sample Rack Loading* (Zakládání stojanů na vzorky).
- b. Vyberte možnost **Dilute All** (Ředit vše).
 Zobrazí se okno Dilution Factor (Faktor ředění).



Obrázek 5. Okno Dilution Factor (Faktor ředění) na obrazovce Sample Rack Loading (Zakládání stojanů na vzorky) (příklad)

- c. Vyberte možnost **Whole Blood Conversion Factor** (Faktor konverze plné krve).
- d. Stiskněte tlačítko **OK**.

Zobrazí se okno *Set Dilution Factor for Rack* (Nastavení faktoru ředění pro stojan).

- e. Výběrem možnosti **Yes** (Ano) použijete příznak faktoru konverze plné krve na celý stojan se vzorky plné krve.

Postup použití faktoru konverze plné krve na jedinou objednávku testu (viz obrázek níže):

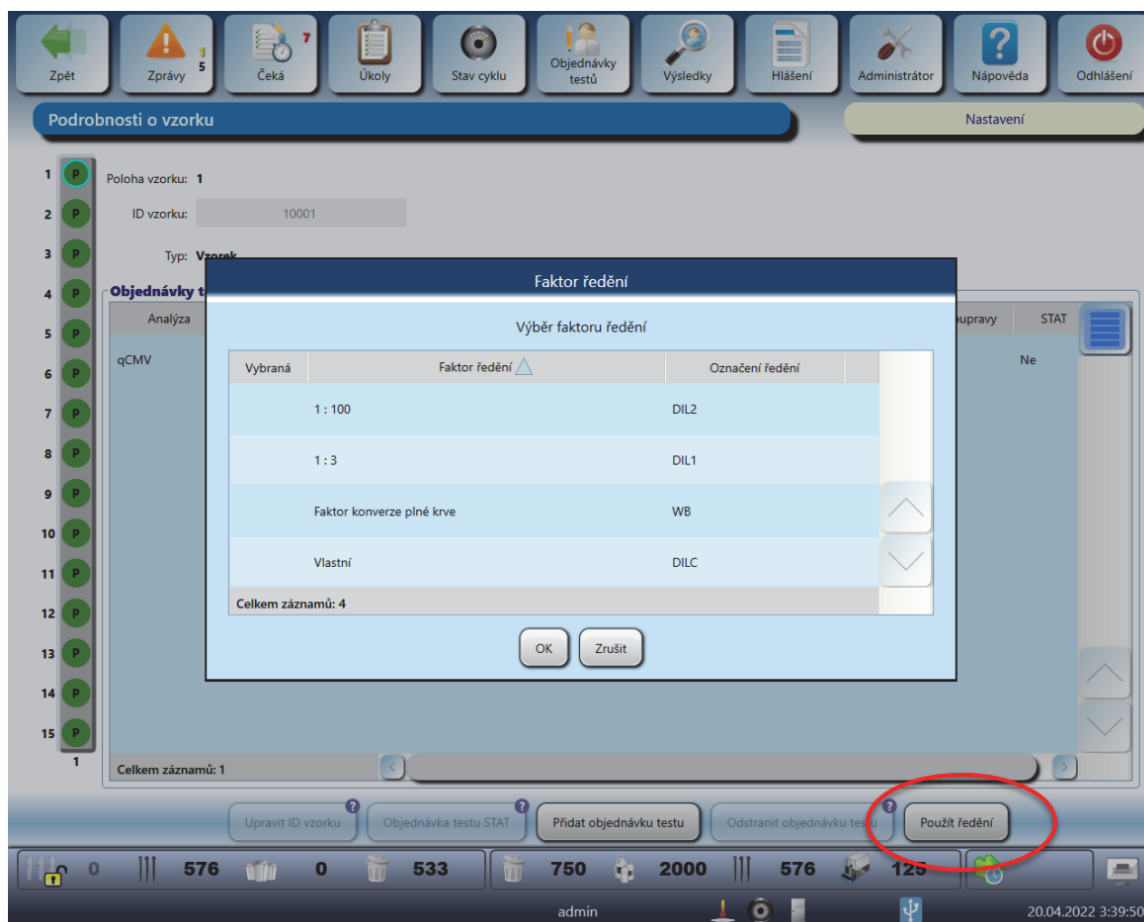
- a. Na obrazovce *Sample Rack Bay* (Nosič stojanů na vzorky) poklepejte na založený stojan s příslušnými patientskými vzorky.

Pro vybraný stojan na vzorky se otevře obrazovka *Sample Rack Loading* (Zakládání stojanů na vzorky).

- b. Na obrazovce *Sample Rack Loading* (Zakládání stojanů na vzorky) poklepejte na příslušný patientský vzorek.

Otevře se obrazovka *Sample Details* (Podrobnosti o vzorku) s aktuálními objednávkami testů pro zvolený patientský vzorek.

- c. Vyberte příslušnou objednávku testu z panelu *Test Orders* (Objednávky testů).
- d. Klepněte na tlačítko **Apply Dilution** (Použít ředění).



Obrázek 6. Okno Dilution Factor (Faktor ředění) na obrazovce Sample Details (Podrobnosti o vzorku) (příklad)

- e. Vyberte možnost **Whole Blood Conversion Factor** (Faktor konverze plné krve).
 - f. Klepnutím na tlačítko **OK** použijete příznak faktoru konverze plné krve na všechny vybrané objednávky testů.
4. V případě potřeby lze faktor plné krve z objednávek testů před zahájením zpracování odstranit.

Postup odstranění faktoru konverze plné krve z celého stojanu:

1. Na obrazovce *Sample Rack Bay* (Nosič stojanů na vzorky) poklepejte na příslušný založený stojan.
Pro vybraný stojan se otevře obrazovka *Sample Rack Loading* (Zakládání stojanů na vzorky).
2. Vyberte možnost **Dilute All** (Ředit vše).
3. V okně *Dilution Factor* (Faktor ředění) zrušte výběr možnosti **Whole Blood Conversion Factor** (Faktor konverze plné krve).
4. Stiskněte tlačítko **OK**.
Zobrazí se okno *Set Dilution Factor for Rack* (Nastavení faktoru ředění pro stojan).
5. Výběrem možnosti **Yes** (Ano) faktor konverze plné krve odstraníte z celého stojanu.

Postup odstranění faktoru konverze plné krve z objednávek analýz:

1. Na obrazovce *Sample Rack Bay* (Nosič stojanů na vzorky) poklepejte na založený stojan s příslušnými patientskými vzorky.
Pro vybraný stojan na vzorky se otevře obrazovka *Sample Rack Loading* (Zakládání stojanů na vzorky).
2. Na obrazovce *Sample Rack Loading* (Zakládání stojanů na vzorky) poklepejte na příslušný patientský vzorek.
Otevře se obrazovka *Sample Details* (Podrobnosti o vzorku) s aktuálními objednávkami testů pro zvolený patientský vzorek.
3. Vyberte příslušnou objednávku testu z panelu *Test Orders* (Objednávky testů).
4. Klepněte na tlačítko **Apply Dilution** (Použít ředění).
5. V okně *Dilution Factor* (Faktor ředění) zrušte výběr možnosti **Whole Blood Conversion Factor** (Faktor konverze plné krve).
6. Klepnutím na tlačítko **OK** odstraníte faktor konverze plné krve z objednávky testu.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Zkumavky s pozitivním kalibrátorem qCMV, nízkou pozitivní kontrolou qCMV, vysokou pozitivní kontrolou qCMV a negativní kontrolou qCMV mohou být vloženy v libovolné poloze stojanu na vzorky a do kteréhokoli dráhy prostoru na vzorky v systému Panther. Pipetování vzorků bude zahájeno, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Kalibrátor a kontroly jsou aktuálně zpracovávány v systému.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kalibrátoru a kontrol.

2. Jakmile proběhne pipetování a zpracování zkumavek s kalibrátorem a kontrolami pro soupravu reagensů analýzy Aptima CMV Quant Assay, můžete otestovat patientské vzorky pomocí přiřazené rekonstituční soupravy v průběhu 24 hodin, **pokud nenastane následující:**
 - a. Výsledky kalibrátoru nebo kontroly jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagensů analýzy je vyjmuta ze systému.
 - c. Přiřazená souprava reagensů analýzy překročila limity stability.
 3. Kalibrátor a každou zkumavku kontroly lze použít jednou. Pokusy o vícenásobné použití zkumavky mohou vést k chybám zpracování.
- B. Pudr z rukavic
- Stejně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

Kontrola kvality

Pokud jsou při provádění analýzy zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy na straně přístroje, může obsluha zrušit výsledek série měření nebo vzorku. V takovém případě je nutné zopakovat testování vzorků.

Pacientské vzorky s neplatnými výsledky je nutné testovat znovu, aby se získal platný výsledek.

Kalibrace analýzy

Aby byly generovány platné výsledky, musí být dokončena kalibrace analýzy. Při každém vložení soupravy reagensů do systému Panther se třikrát zpracuje jeden pozitivní kalibrátor. Po potvrzení bude kalibrátor platný až 24 hodin. Pokud bude nutná kalibrace, software v systému Panther upozorní obsluhu. Obsluha naskenuje kalibrační koeficient na listu s čárovým kódem hlavní šarže dodávaném s každou soupravou reagensů.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kalibrátoru. Pokud budou platné méně než dva replikáty kalibrátoru, software automaticky zruší platnost zpracování. Vzorky v neplatném zpracování bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontrol analýzy. Vždy, když je reagenční souprava vložena do systému Panther, musí být testován jeden replikát negativní kontroly, nízké pozitivní kontroly a vysoké pozitivní kontroly. Po stanovení jsou kontroly platné po dobu maximálně 24 hodin. Pokud budou vyžadovány kontroly, software v systému Panther upozorní obsluhu.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kontrol. Aby byly výsledky platné, negativní kontrola musí poskytnout výsledek „Nedetekováno“ a výsledky pozitivních kontrol musí být v předem definovaném rozmezí. Pokud kterákoli z kontrol poskytne neplatný výsledek, software automaticky zruší platnost zpracování. Vzorky v neplatném zpracování bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola

Každý vzorek obsahuje vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC). Během zpracování automaticky ověří software systému Panther kritéria přijatelnosti kontroly IC. Pokud je výsledek kontroly IC neplatný, výsledky vzorku budou zneplatněny. Každý vzorek s neplatným výsledkem kontroly IC je nutné znovu otestovat, abyste získali platný výsledek.

Software systému Panther je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *uživatelské příručce systému Panther / Panther Fusion*.

Interpretace výsledků

Systém Panther automaticky stanoví koncentraci DNA viru CMV pro patientské vzorky a kontroly porovnáním výsledků s kalibrační křivkou. Koncentrace DNA viru CMV jsou uvedeny v jednotkách IU/ml a \log_{10} IU/ml. Interpretaci výsledků uvádí Tabulka 1 a Tabulka 2.

Tabulka 1: Interpretace výsledků pro plazmu

Ohlášený výsledek analýzy Aptima CMV Quant Assay		Interpretace
IU/ml	Hodnota \log_{10}	
Nedetekováno	Nedetekováno	DNA viru CMV nedetekována.
Detekováno < 53	< 1,72	DNA viru CMV je detekována, ale na úrovni pod dolní mezí kvantifikace (LLOQ).
53 až 10 000 000	1,72 až 7,00	Koncentrace DNA viru CMV je v kvantitativním rozmezí od LLOQ do ULOQ (IU/ml).
> 10 000 000	> 7,00	Koncentrace DNA viru CMV je nad horní mezí kvantifikace (ULOQ).
Neplatné ^a	Neplatné ^a	Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu.

^aNeplatné výsledky se zobrazí modrým fontem.

Tabulka 2: Interpretace výsledků pro plnou krev

Ohlášený výsledek analýzy Aptima CMV Quant Assay		Interpretace
IU/ml	Hodnota \log_{10}	
Nedetekováno	Nedetekováno	DNA viru CMV nedetekována.
Detekováno < 176	< 2,24	DNA viru CMV je detekována, ale na úrovni pod dolní mezí kvantifikace (LLOQ).
176 až 10 000 000	2,24 až 7,00	Koncentrace DNA viru CMV je v kvantitativním rozmezí od LLOQ do ULOQ (IU/ml).
> 10 000 000	> 7,00	Koncentrace DNA viru CMV je nad horní mezí kvantifikace (ULOQ).
Neplatné ^a	Neplatné ^a	Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu.

^aNeplatné výsledky se zobrazí modrým fontem.

Omezení

- A. Analýzu mohou používat pouze osoby vyškolené v provádění příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Ačkoli je to vzácné, mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu pokryté primery a/nebo sondami v analýze Aptima CMV Quant Assay mohou vést k nedostatečné kvantifikaci nebo selhání detekce viru.

Analytická funkční způsobilost

Mez detekce s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO

Mez detekce (LoD) této analýzy je definována jako koncentrace DNA viru CMV, která je detekována s 95 % nebo vyšší pravděpodobností podle normy CLSI EP17-A2.¹⁴

Mez detekce s použitím 1. mezinárodních etalonů WHO v plazmě

LoD byla stanovena pomocí testovacích panelů 1. mezinárodního etalonu WHO (kód NIBSC 09/162)²¹ pro CMV zředěný v lidské plazmě negativní na CMV. Šedesát (60) replikátů každého ředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagensů, tedy minimálně 180 replikátů na každé ředění. Byla provedena probit analýza za účelem generování předpokládaných mezí detekce. Tabulka 3 uvádí hodnoty LoD, které jsou výsledky ze šarže reagensů s nejvyšším předpokládaným limitem detekce. LoD pro analýzu Aptima CMV Quant Assay s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO je 40,7 IU/ml pro plazmu.

Tabulka 3: Mez detekce pro plazmu s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV

Předvídaná mez detekce	Koncentrace (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

Mez detekce při použití etalonů WHO v plné krvi

LoD byla stanovena pomocí testovacích panelů 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV zředěný v plné krvi negativní na CMV. Šedesát (60) replikátů každého ředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagensů, tedy minimálně 180 replikátů na každé ředění. Byla provedena probit analýza za účelem generování předpokládaných mezí detekce. Tabulka 4 uvádí hodnoty LoD, které jsou výsledky ze šarže reagensů s nejvyšším předpokládaným limitem detekce. LoD pro analýzu Aptima CMV Quant Assay s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO je 131,0 IU/ml pro plnou krev.

Tabulka 4: Mez detekce pro plnou krev s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV

Předvídaná mez detekce	Koncentrace (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

Mez detekce genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům

Mez detekce genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům v plazmě

LoD byla ověřena pro tři různé genotypy založené na sekvenci glykoproteinu B⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) a mutanty rezistentní vůči léčivům testováním různých koncentrací CMV kolem LoD stanovené pro plazmu pomocí etalonu WHO (genotyp gB-1). Testování bylo provedeno s 30 replikáty na každého člena panelu a na každou šarži reagentie za použití dvou šarží reagentií Aptima CMV Quant. Nejvyšší LoD ověřená pro všechny tři genotypy a mutanty rezistentní vůči léčivům byla 40 IU/ml při použití obou šarží reagentií.

Poznámka: Účinnost analýzy Aptima CMV Quant Assay s mutacemi CMV rezistentními vůči lékům byla hodnocena pouze u vzorků plazmy.

Tabulka 5: Mez detekce genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům v plazmě

Genotyp	Koncentrace (IU/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Mutantní UL54 a UL97 rezistentní vůči lékům*	35
Mutantní UL56 rezistentní vůči lékům**	35

*Mutace genu UL54 mohou vést ke zkřížené rezistenci k několika antivirotikům pro léčbu infekce CMV, jako je ganciklovir (GCV), cidofovir (CDV) a foskarnet (PFA). Mutace genu UL97 vedou také k rezistenci na ganciklovir (GCV).

**Mutace genu UL56 vedou k rezistenci na letermovir (LET).

Celková hodnota LoD v plazmě je 40,7 IU/ml.

Mez detekce u jednotlivých genotypů CMV v plné krvi

LoD byla ověřena pro tři různé genotypy založené glykoproteinu B (gB-2, gB-3, gB-4) testováním různých koncentrací CMV kolem LoD stanovené pro plnou krev pomocí etalonu CMV WHO (genotyp gB-1). Testování bylo provedeno s 30 replikáty na každého člena panelu a na každou šarži reagentie za použití dvou šarží reagentie Aptima CMV Quant. Nejvyšší LoD ověřená pro všechny tři genotypy byla 150 IU/ml při použití obou šarží reagentie.

Tabulka 6: Mez detekce u jednotlivých genotypů CMV v plné krvi

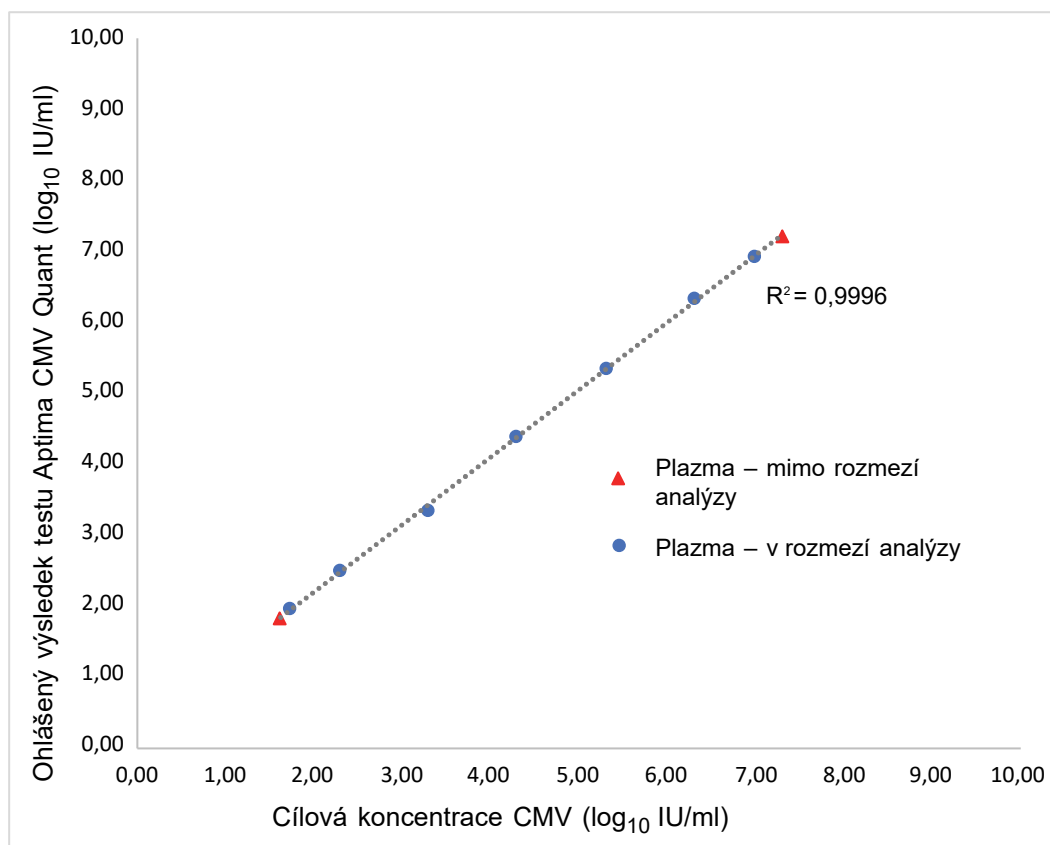
Genotyp	Koncentrace (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Celková LoD v plné krvi je 150 IU/ml.

Lineární rozsah

Lineární rozsah v plazmě

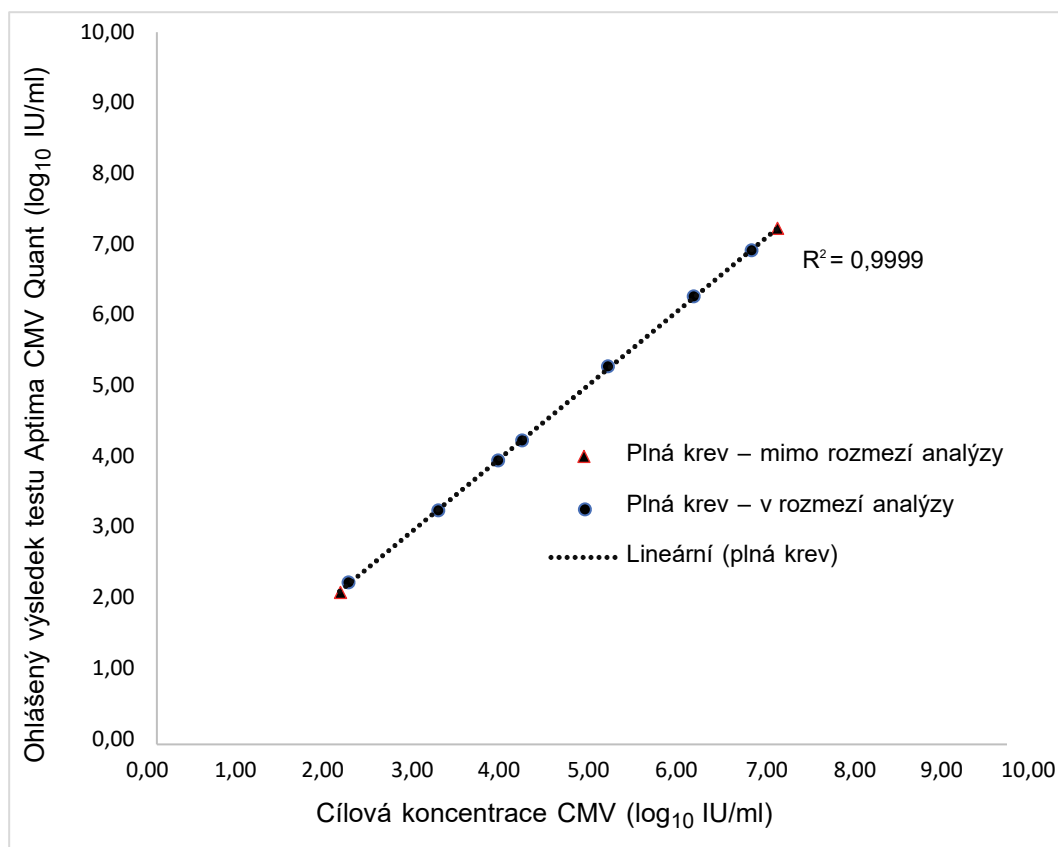
Lineární rozsah byl stanoven testováním panelů s CMV zředěným v lidské plazmě negativní na CMV v souladu s dokumentem EP06-A institutu CLSI.¹⁵ Koncentrace panelů se pohybovala v rozmezí od 1,62 log₁₀ IU/ml do 7,30 log₁₀ IU/ml. Analýza Aptima CMV Quant Assay prokázala linearitu v celém testovaném rozsahu. Horní mez stanovitelnosti (ULoQ) analýzy je 7 log₁₀ IU/ml, jak uvádí Obrázek 7.



Obrázek 7. Linearita v plazmě

Lineární rozsah v plné krvi

Lineární rozsah byl stanoven testováním panelů s CMV zředěným v lidské plné krvi negativní na CMV v souladu s dokumentem EP06-A institutu CLSI.¹⁵ Koncentrace panelů se pohybovala v rozmezí od 2,15 log₁₀ IU/ml do 7,3 log₁₀ IU/ml pro plnou krev. Analýza Aptima CMV Quant Assay prokázala linearitu v celém testovaném rozsahu. Horní mez stanovitelnosti (ULoQ) analýzy je 7 log₁₀ IU/ml, jak uvádí Obrázek 8.

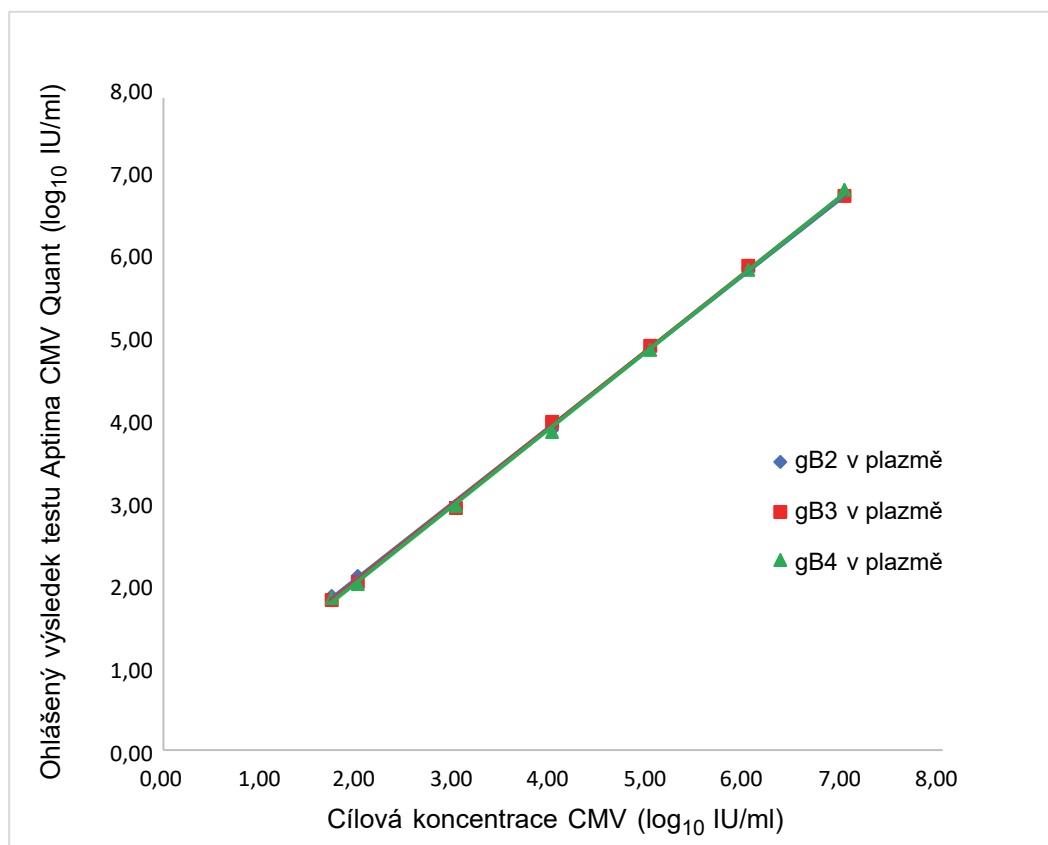


Obrázek 8. Linearita v plné krvi

Linearita u jednotlivých genotypů CMV

Linearita u jednotlivých genotypů CMV v plazmě

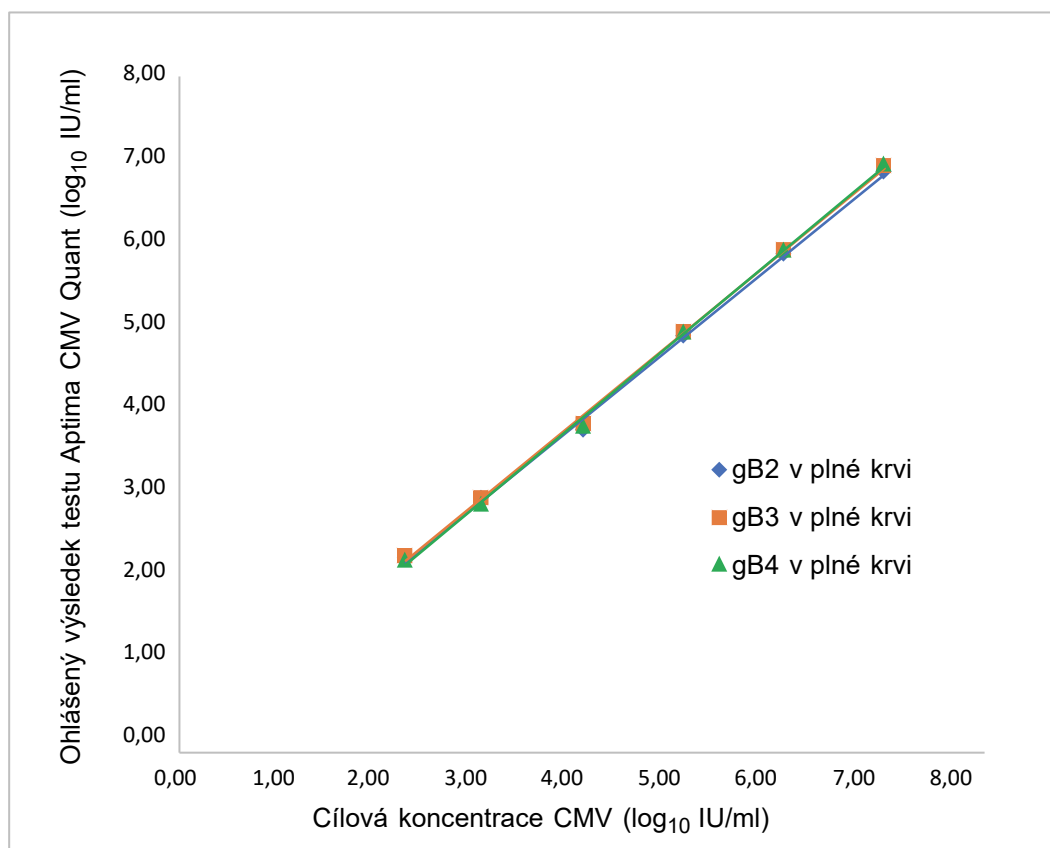
Linearita pro glykoproteinové genotypy gB-2, gB-3 a gB-4 byla ověřena testováním panelů s CMV zředěným v lidské plazmě negativní na CMV, a to při koncentracích pohybujících se v rozmezí od 1,72 log₁₀ IU/ml do 7,00 log₁₀ IU/ml. U všech testovaných genotypů byla prokázána linearita v celém testovaném rozsahu, viz Obrázek 9.



Obrázek 9. Linearita u jednotlivých genotypů CMV gB-2, gB-3 a gB-4v plazmě

Linearita u jednotlivých genotypů CMV v plné krvi

Lineární odpověď na glykoproteinové genotypy gB-2, gB-3 a gB-4 byla ověřena testováním panelů s CMV zředěným v plné krvi negativní na CMV, a to při koncentracích pohybujících se v rozmezí od 2,25 log₁₀ IU/ml do 7,00 log₁₀ IU/ml. U všech tří testovaných genotypů byla prokázána linearita v celém testovaném rozsahu, viz Obrázek 10.



Obrázek 10. Linearita u jednotlivých genotypů CMV gB-2, gB-3 a gB-4 v plné krvi

Dolní mez stanovitelnosti s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO

Dolní mez stanovitelnosti (LLoQ) je definována jako nejnižší koncentrace, při které je DNA CMV spolehlivě kvantifikována s celkovou chybou dle dokumentu EP17-A2 institutu CLSI.¹⁴ Celková chyba byla odhadnuta pomocí Westgardova modelu: Celková chyba (TE) = |vychýlení měření| + 2SD. Aby byla zajištěna preciznost měření, byla celková chyba analýzy Aptima CMV Quant Assay nastavena na 1 log IU/ml (tj. při LLoQ je rozdíl mezi dvěma měřeními více než 1 log IU/ml statisticky významný).

Dolní mez stanovitelnosti s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO v plazmě

LLoQ byla stanovena pomocí testovacích panelů 1. mezinárodního etalonu WHO (kód NIBSC 09/162, genotyp gB-1)²¹ pro DNA viru CMV zředěnou v lidské plazmě negativní na CMV. Šedesát (60) replikátů každého ředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagensů, tedy minimálně 180 replikátů na každé ředění. Výsledky LLoQ všech tří šarží reagensů uvádí Tabulka 7. Výsledky ze šarže reagensů s nejvyšší koncentrací, která splňuje požadavky na TE a detekci $\geq 95\%$ shrnuje Tabulka 8. LLoQ vygenerovaná s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV v plazmě je 53 IU/ml.

Tabulka 7: Stanovení LLoQ s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV zředěný v plazmě

Šarže reagensie	Počet	Počet detekovaných	Cílová koncentrace	Aptima CMV Quant	SD	Odchylka	Vypočtená TE
			(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
3	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SD = směrodatná odchylka

Prvky panelu, které splnily cíl přesnosti (TE ≤ 1) a detekci $\geq 95\%$ pro šarže reagensů 1, 2 a 3, jsou zobrazeny šedě.

Tabulka 8: Souhrn LLoQ pro plazmu s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV

Šarže reagentie	(IU/ml)	(log IU/ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Dolní mez stanovitelnosti s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO v plné krvi

LLoQ byla stanovena pomocí testovacích panelů 1. mezinárodního etalonu WHO pro DNA viru CMV zředěnou v lidské plné krvi negativní na CMV. Šedesát (60) replikátů každého ředění bylo testováno s každou ze tří šarží reagentií, tedy minimálně 180 replikátů na každé ředění. Výsledky všech tří šarží reagentií uvádí Tabulka 9. Výsledky ze šarže reagentií s nejvyšší koncentrací, která splňuje požadavky na TE a detekci $\geq 95\%$ shrnuje Tabulka 10. LLoQ vygenerovaná s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV v plné krvi je 176 IU/ml.

Tabulka 9: Stanovení LLoQ s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV zředěný v plné krvi

Šarže reagentie	Počet	Počet detekovaných	Cílová koncentrace	Aptima CMV Quant	SD	Odchylka	Vypočtená TE
			(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)	(log IU/ml)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

SD = směrodatná odchylka

Prvky panelu, které splnily cíl přesnosti ($TE \leq 1$) a detekci $\geq 95\%$ pro šarže reagentií 1, 2 a 3, jsou zobrazeny šedě.

Tabulka 10: Souhrn LLoQ pro plnou krev s použitím 1. mezinárodního etalonu WHO pro CMV

Šarže reagentie	(IU/ml)	(log IU/ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Stanovení dolní meze stanovitelnosti u genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům

Dolní mez stanovitelnosti u genotypů CMV a mutantů rezistentních vůči lékům v plazmě

LLoQ stanovená pomocí etalonu WHO byla ověřena testováním ředění CMV genotypů gB-2, gB-3, gB-4 a mutantů rezistentních vůči léčivům v lidské plazmě negativní na CMV. Jednou šarží reagentie bylo otestováno 60 replikátů každého prvku z panelu. Výsledky uvádí Tabulka 11. Vypočtenou LLoQ pro genotypy gB-2, gB-3, gB-4 a mutanty rezistentní vůči léčivům ze šarže reagentie s nejvyšší koncentrací splňující požadavky na TE a detekci $\geq 95\%$ shrnuje Tabulka 12. Celková LLoQ pro plazmu v této analýze je 53 IU/ml.

Poznámka: Účinnost analýzy Aptima CMV Quant Assay s mutacemi CMV rezistentními vůči lékům byla hodnocena pouze u vzorků plazmy.

Tabulka 11: Stanovení LLoQ u genotypů a mutantů rezistentních vůči lékům v plazmě

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

Tabulka 11: Stanovení LLoQ u genotypů a mutantů rezistentních vůči lékům v plazmě (pokračování)

Genotyp	Počet	% detekovaných	Cílová koncentrace	Aptima CMV Quant	SD	Odchylka	Vypočtená TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(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
Mutant rezistentní vůči lékům (UL54 a 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
Mutant rezistentní vůči lékům (UL56)	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
	60	96,7	1,54	1,60	0,30	0,06	0,65
	60	100,0	1,60	1,69	0,26	0,08	0,60
	60	100,0	1,65	1,78	0,29	0,12	0,71
	60	100,0	1,70	1,74	0,27	0,05	0,58

SD = směrodatná odchylka

Prvky panelu, které splnily cíl přesnosti (TE ≤ 1) a detekci ≥ 95 % pro šarže reagentů 1, 2 a 3, jsou zobrazeny šedě.

Tabulka 12: Souhrn LLoQ u genotypů a mutantů rezistentních vůči lékům v plazmě

Genotyp	LLoQ	
	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Mutant rezistentní vůči lékům UL54 a UL97*	38	1,57
Mutant rezistentní vůči lékům UL56**	35	1,54

*Mutace genu UL54 mohou vést ke zkřížené rezistenci k několika antivirotikům pro léčbu infekce CMV, jako je ganciklovir (GCV), cidofovir (CDV) a foskarnet (PFA). Mutace genu UL97 vedou také k rezistenci na ganciklovir (GCV).

**Mutace genu UL56 vedou k rezistenci na letermovir (LET).

Dolní mez stanovitelnosti u jednotlivých genotypů v plné krvi

LLoQ stanovená pomocí 1. mezinárodního etalonu WHO byla ověřena testováním ředění CMV genotypů gB-2, gB-3, gB-4 v lidské plné krvi negativní na CMV. Jednou šarží reagensů bylo otestováno 60 replikátů každého prvku z panelu. Výsledky uvádí Tabulka 13. LLoQ pro genotypy gB-2, gB-3 a gB-4 ze šarže reagensie s nejvyšší koncentrací splňující požadavky na TE a detekci $\geq 95\%$ shrnuje Tabulka 14. Celková LLoQ pro plnou krev v této analýze je 176 IU/ml.

Tabulka 13: Stanovení LLoQ u jednotlivých genotypů v plné krvi

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

SD = směrodatná odchylka

Tabulka 14: Souhrn LLoQ u jednotlivých genotypů v plné krvi

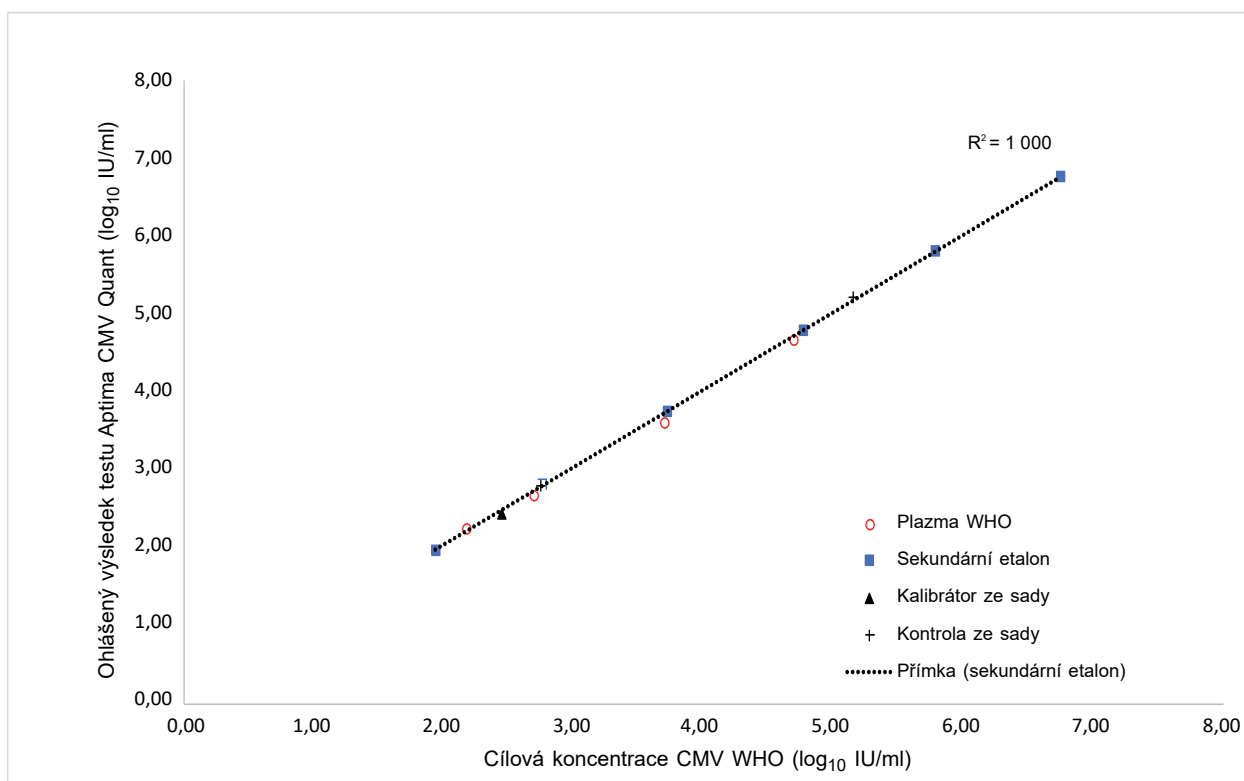
Genotyp	LLoQ	
	(IU/ml)	(log IU/ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Návaznost na 1. mezinárodní etalon WHO

Při vývoji a výrobě tohoto výrobku byly použity série sekundárních etalonů se známými koncentracemi, které zajišťují návaznost na etalon WHO. Etalon WHO pro CMV byl naředěn a testován spolu se sekundárními etalony, jakož i kontrolami analýzy a kalibrátory používanými v analýze Aptima CMV Quant Assay k vyhodnocení návaznosti podle dokumentu EP32-R institutu CLSI.¹⁶ Koncentrace sekundárních etalonů se pohybovala v rozmezí od 1,80 do 6,60 log₁₀ IU/ml.

Návaznost na etalon WHO s použitím plazmy

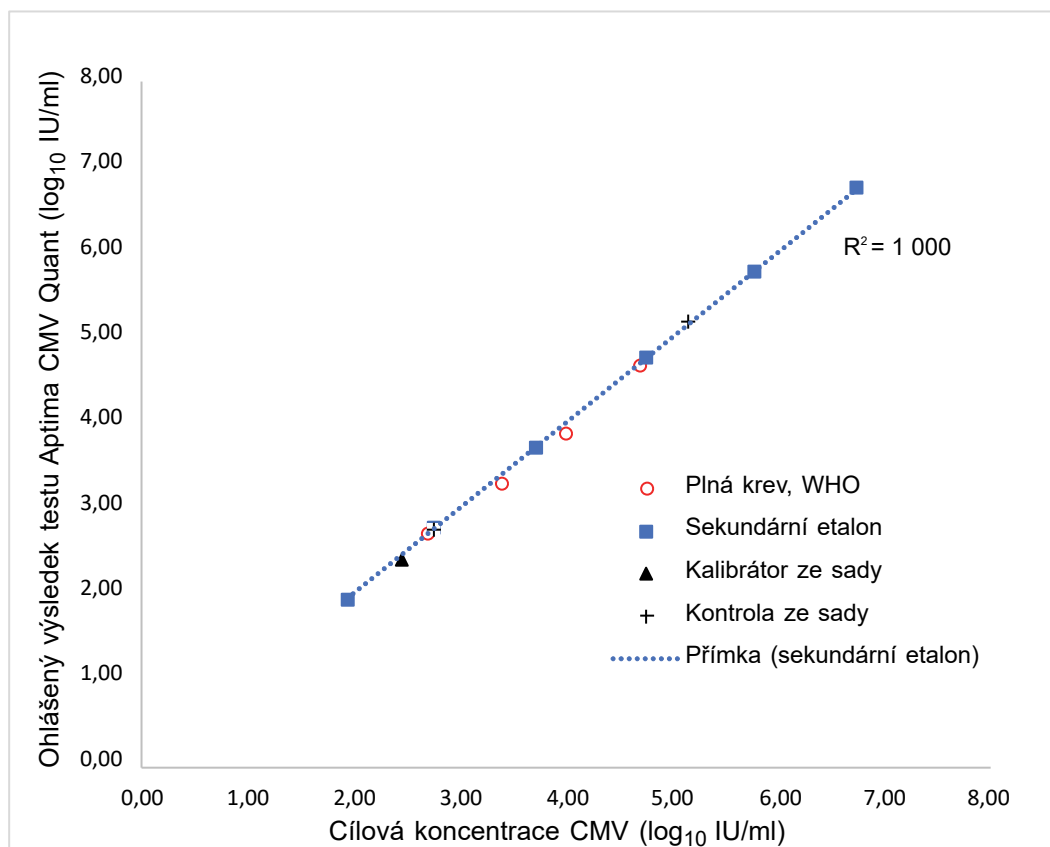
Testované koncentrace etalonu WHO pro CMV se pohybovaly v rozmezí od 2,18 do 4,70 log₁₀ IU/ml. Panely plazmy WHO, sekundární etalony, kontroly analýzy a kalibrátory analýzy se, jak uvádí Obrázek 11, regenerovaly podle očekávání v celém lineárním rozsahu.



Obrázek 11. Návaznost mezi cílovými koncentracemi 1. etalonu WHO pro CMV a uváděnými koncentracemi v analýze Aptima CMV Quant Assay (etalon WHO zředěný v plazmě)

Návaznost na etalon WHO s použitím plné krve

Testované koncentrace etalonu WHO pro CMV v plné krvi se pohybovaly v rozmezí od 2,70 do 4,70 \log_{10} IU/ml. Panely plné krve s etalony WHO, sekundární etalony, kontroly analýzy a kalibrátory analýzy se, jak uvádí Obrázek 12, regenerovaly podle očekávání v celém lineárním rozsahu.



Obrázek 12. Návaznost mezi cílovými koncentracemi 1. etalonu WHO pro CMV a uváděnými koncentracemi v analýze Aptima CMV Quant Assay (etalon WHO zředěný v plné krvi)

Preciznost

Plazma

Pro posouzení preciznosti byl připraven panel o 6 prvcích, a to zředěním klinických vzorků pozitivních na CMV, případně kultivovaného CMV v plazmě negativní na CMV. Panel byl testován třemi technikami za použití tří šarží reagensů na třech systémech Panther po dobu 20 nebo více testovacích dnů. Každý operátor provedl dva cykly denně a každý prvek panelu byl v každém cyklu testován duplicitně. Studie byla navržena a analyzována podle doporučení dokumentu EP-05-A3 institutu CLSI.¹⁷

Tabulka 15 ukazuje preciznost výsledků analýzy (v log IU/ml) mezi přístroji, operátory, šaržemi reagensů, cykly, dny, v rámci cyklů a celkově. Celková variabilita byla primárně způsobena variabilitou v rámci cyklu (tj. náhodná chyba).

Tabulka 15: Preciznost analýzy Aptima CMV Quant Assay v plazmě

Počet	Střední koncentrace (log IU/ml)	Mezi šaržemi SD	Mezi přístroji SD	Mezi operátory SD	Mezi dny SD	Mezi cykly SD	V rámci cyklu SD	Celkem SD
108	2,28	0,02	0,04	0,00	0,00	0,06	0,16	0,18
108	2,82	0,06	0,00	0,00	0,04	0,07	0,11	0,14
108	3,49	0,07	0,00	0,01	0,06	0,06	0,11	0,15
108	4,53	0,04	0,02	0,04	0,00	0,07	0,07	0,11
108	5,57	0,06	0,00	< 0,001	0,04	0,02	0,09	0,12
108	6,67	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,10	0,12

SD = směrodatná odchylka

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobena těmito faktory velmi malá. Když k tomu dojde, hodnota SD je uvedena jako 0.

Plná krev

Pro posouzení preciznosti byl připraven panel o 6 prvcích, a to zředěním klinických vzorků pozitivních na CMV, případně přidáním kultivovaného CMV do plné krve negativní na CMV. Panel byl testován třemi technikami za použití tří šarží reagensů na třech systémech Panther po dobu 20 nebo více testovacích dnů. Každý operátor provedl dva cykly denně a každý prvek panelu byl v každém cyklu testován duplicitně.

Tabulka 16 ukazuje preciznost výsledků analýzy (v log IU/ml) mezi přístroji, operátory, šaržemi, cykly, dny, v rámci cyklů a celkově. Celková variabilita byla primárně způsobena variabilitou v rámci cyklu (tj. náhodná chyba).

Tabulka 16: Preciznost analýzy Aptima CMV Quant Assay v plné krvi

Počet	Střední koncentrace (log IU/ml)	Mezi šaržemi SD	Mezi přístroji SD	Mezi operátory SD	Mezi dny SD	Mezi cykly SD	V rámci cyklu SD	Celkem SD
108	2,78	0,00	0,01	0,05	0,00	0,08	0,14	0,17
108	3,38	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,13	0,14
108	3,95	0,06	0,00	0,07	0,05	0,05	0,13	0,18
108	4,76	0,03	0,01	0,08	0,00	0,07	0,12	0,16
108	5,64	0,01	0,00	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13
108	6,74	0,03	0,00	0,05	0,00	0,04	0,09	0,12

SD = směrodatná odchylka

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Když k tomu dojde, hodnota SD je uvedena jako 0.

Potenciálně interferující látky

U analýzy Aptima CMV Quant Assay byla hodnocena citlivost na interferenci se zvýšenými hladinami endogenních látek, antikoagulantů a léčivých přípravků, které se pacientům po transplantaci běžně předepisují. Testovací koncentrace pro každou z rušivých látek byly vybrány na základě dostupných referencí v literatuře a pokynů poskytnutých dokumentech EP07¹⁸ a EP37¹⁹ institutu CLSI. Byly testovány vzorky plazmy negativní na CMV a vzorky obohacené CMV na koncentraci 2,22 log IU/ml a 3,30 log IU/ml. Vzorky plné krve negativní na CMV a vzorky obohacené CMV na koncentraci 2,72 a 4,00 log IU/ml DNA CMV byly testovány na hemoglobin.

V přítomnosti albuminu (60 mg/ml), hemoglobinu (10 mg/ml), triglyceridů (15 mg/ml), nekonjugovaného bilirubinu (0,4 mg/ml) či lidské genomové DNA (2 µg/ml) žádná interference s analýzou ve vzorcích plazmy pozorována nebyla. V přítomnosti 100 mg/ml hemoglobinu přidaného do vzorků plné krve nebyla při provádění analýzy ve vzorcích plné krve pozorována žádná interference.

Pomocí analýzy Aptima CMV Quant Assay byly testovány klinické vzorky plazmy od pacientů se zvýšenými hladinami specifických látek nebo od pacientů s chorobami, které uvádí Tabulka 17. Během provádění analýzy nebyla pozorována žádná interference.

Tabulka 17: Typy testovaných klinických vzorků

	Typy klinických vzorků	Počet testovaných klinických vzorků
1	Antinukleární protilátky (ANA)	10
2	Systémový lupus erythematoses (SLE)	10
3	Revmatoidní artritida (RA)	10

K interferenci s analýzou nedocházelo ani v přítomnosti exogenních látek v koncentracích představujících nejméně trojnásobek C_{\max} léčivých přípravků v lidské plazmě. Seznam měřených látek uvádí Tabulka 18.

Tabulka 18: Exogenní látky

Pool exogenních látek	Testované exogenní látky
1	Cefotetan, klavulanát draselný, tikarcilin disodný, vankomycin
2	Piperacillin
3	Sulfamethoxazol
4	Sodná sůl tazobaktamu, trimetoprim, flukonazol
5	Ganciklovir, valganciklovir, cidofovir, Foscarnet, valaciclovir, aciklovir, letermovir
6	Azathioprin, cyklosporin, mykofenolát mofetil, kyselina mykofenolová
7	Sirolimus, takrolimus, prednison, everolimus
8	Citrát sodný, EDTA, heparin

Specificita

Specificita byla stanovena testováním 780 zmrazených klinických vzorků negativních na CMV. Specificita byla vypočtena jako procento vzorků negativních na CMV s výsledky „Nedetekováno“ versus celkový počet vzorků testovaných u jednotlivých typů vzorků.

DNA viru CMV nebyla zjištěna u 389 vzorků plazmy a 390 vzorků plné krve. Specificita byla 99,7 % (389/390, 95 % CI: 98,6–100 %) pro plazmu a 100 % (390/390, 95 % CI: 99,3–100 %). Kombinovaná specificita analýzy Aptima CMV Quant Assay pro plazmu a plnou krev byla 99,9 % (779/780, 95 % CI: 99,3–100 %).

Tabulka 19: Specificita ve vzorcích plazmy a plné krve

	Plazma	Plná krev	Plazma a plná krev
Platných replikátů (n)	390	390	780
Nedetekováno	389	390	779
Specificita	99,7 %	100 %	99,9 %
(95 % CI)	(98,6–100)	(99,3–100)	(99,3–100)

CI = interval spolehlivosti

Analytická specifická

Potenciální zkřížená reaktivita na patogeny, které uvádí Tabulka 20, byla vyhodnocena v lidské plazmě negativní na CMV v přítomnosti nebo nepřítomnosti 2,2 log₁₀ IU/ml a 3,3 log₁₀ IU/ml CMV. V plné krvi negativní na CMV byly hodnoceny také tři krevní paraziti nacházející se ve vzorcích plné krve a to v přítomnosti nebo nepřítomnosti 2,7 log₁₀ IU/ml a 4,0 log₁₀ IU/ml CMV. Patogeny byly testovány v nejvyšší dostupné koncentraci. Nebyla pozorována žádná zkřížená reaktivita či interference.

Tabulka 20: Patogeny testované na analytickou specificku

Mikroorganismus/patogen	Koncentrace	Mikroorganismus/patogen	Koncentrace
Adenovirus typu 4	1 886	TCID50/ml ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>
BK polyomavirus	1 000 000	kopie/ml ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>
Epstein-Barr virus	1 000 000	kopie/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
Virus hepatitidy B	1 000 000	IU/ml ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Virus hepatitidy C	1 000 000	kopie/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>
Herpes Simplex virus, typ 1	1 428 571	TCID50/ml	<i>Salmonella enterica</i> sérotyp Typhimurium
Herpes Simplex virus, typ 2	147 143	TCID50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>
HIV-1, subtyp B	1 000 000	kopie/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Lidský herpesvirus 6A	1 000 000	kopie/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Lidský herpesvirus 7	1 428 571	TCID50/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Lidský herpesvirus 8	1 000 000	kopie/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Lidský metapneumovirus	192 857	TCID50/ml	<i>Aspergillus niger</i>
Lidský papilomavirus, typ 18	1 000 000	kopie/ml	<i>Candida albicans</i>
Virus lidské parainfluenzy	944	TCID50/ml	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus influenzy	3 857	TCID50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>
Rhinovirus	7 257	TCID50/ml	<i>Leishmania major</i> *
Virus varicella zoster	1 000 000	kopie/ml	<i>Babesia microti</i> *
Virus Zika	29 286	TCID50/ml	<i>Plasmodium falciparum</i> *
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	CFU/ml ^d	^a TCID50/ml = infekční dávkové jednotky tkáňové kultury na ml
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	CFU/ml	^b kopie/ml = počet kopií viru na ml
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml	^c IU/ml = mezinárodní jednotky na ml
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	CFU/ml	^d CFU/ml = kolonie tvořící jednotky na ml
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	CFU/ml	*testováno s typem vzorku plné krve
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml	
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	CFU/ml	

Přenos

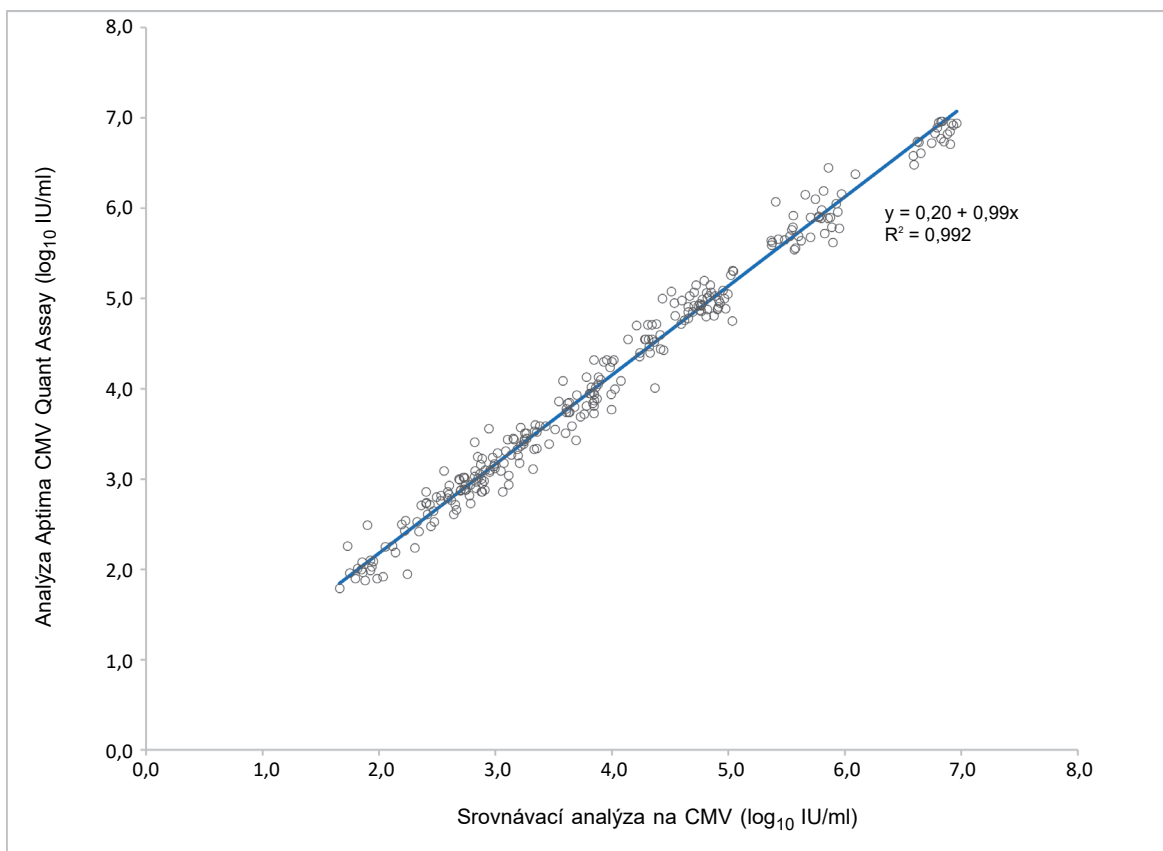
Kontaminace přenosem byla u systému Panther hodnocena při použití plazmy jako typu vzorku pomocí jiných analýz virové nálože (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay). Při předchozím testování nebyla zjištěna žádná kontaminace přenosem. Aby se prokázalo, že systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z kontaminace přenosem ve vzorku typu plné krve, byla provedena studie s použitím obohacených panelů vzorků na třech systémech Panther. Přenos byl hodnocen pomocí vzorků plné krve obohacené o DNA s vysokým titrem CMV (6 log IU/ml) rozptýlených mezi vzorky negativními na CMV v šachovnicovém vzoru. Testování proběhlo ve dvanácti cyklech. Celková míra přenosu byla 0,24 % (1/423).

Korelace metod

Tato studie byla navržena v souladu s dokumentem EP09c institutu CLSI.¹⁹

Korelace metod v případě plazmy

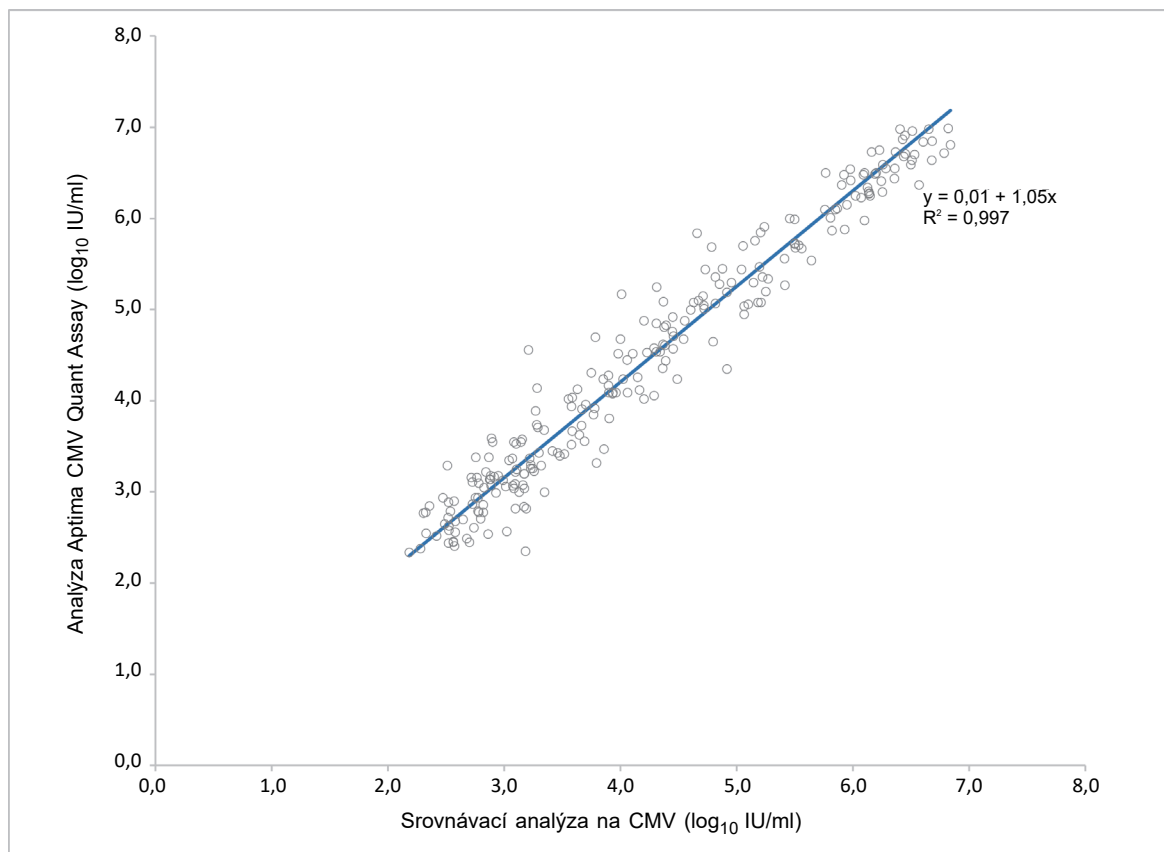
Účinnost analýzy Aptima CMV Quant Assay byla hodnocena oproti srovnávací analýze na CMV testováním neřaděných klinických vzorků od pacientů pozitivních na CMV a vzorků uměle připravených z různých kmenů kultivovaného viru, náležejících ke všem čtyřem genotypům, které byly vloženy do negativní EDTA plazmy od jednotlivých dárců. Na Demingovu regresi bylo použito celkem 160 klinických vzorků a 115 uměle připravených vzorků v lineárním rozmezí společném pro obě analýzy, jak znázorňuje Obrázek 13.



Obrázek 13. Korelace mezi virovou náloží CMV v analýze Aptima CMV Quant Assay a srovnávací analýze na CMV na testovaných vzorcích plazmy

Korelace metod v případě plné krve

Účinnost analýzy Aptima CMV Quant Assay byla hodnocena oproti srovnávací analýze na CMV testováním neředěných klinických vzorků od pacientů pozitivních na CMV a vzorků uměle připravených z kultivovaného viru doplněného do negativní EDTA plné krve od jednotlivých dárců. Na Demingovu regresi bylo použito celkem 159 klinických vzorků a 83 uměle připravených vzorků v lineárním rozmezí společném pro obě analýzy, jak znázorňuje Obrázek 14.



Obrázek 14. Korelace mezi virovou náloží CMV v analýze Aptima CMV Quant Assay a srovnávací analýze na CMV na testovaných vzorcích plné krve

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost u vzorků plazmy

Reprodukovatelnost analýzy Aptima CMV Quant Assay v plazmě byla hodnocena na třech externích pracovištích. Na každém pracovišti testy prováděli dva laboranti. Každý operátor prováděl jeden cyklus denně po dobu 5 dnů, přičemž v průběhu testování použil jednu šarži reagentie. Každá série měření zahrnovala tři replikáty každého vzorku z panelu.

Reprodukovatelnost byla testována pomocí prvků panelu připravených ředěním klinických vzorků pozitivních na CMV nebo kultivovaného CMV do EDTA plazmy negativní na CMV. Koncentrace DNA viru CMV pokrývaly celý lineární rozsah této analýzy.

Tabulka 21 ukazuje reprodukovatelnost a preciznost výsledků analýzy u jednotlivých pozitivních prvků panelu mezi pracovišti, mezi operátory, jednotlivými dny, mezi cykly, v rámci cyklů a celkově. Variační koeficient byl vypočítán následující rovnicí, kde σ^2 představuje výběrový rozptyl souboru dat po transformaci \log_{10} .

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

Tabulka 21: Reprodukovatelnost stanovení koncentrací DNA CMV v plazmě u pozitivních prvků panelu analýzou Aptima CMV Quant Assay v systému Panther

Počet	Pozorovaný průměr		Podíl na celkovém rozptylu SD (%CV ²)					Celkový rozptyl SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Mezi pracovišti	Mezi operátory	Mezi dny	Mezi cykly	V rámci cyklů	
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	27 623,02	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	28 4107,74	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	3 821 364,62	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 = logaritmičticky normální variační koeficient, SD = směrodatná odchylka (log₁₀ IU/ml)

Poznámka: Variabilita některých koeficientů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V takových případech je hodnota SD a %CV uvedena jako 0.

Reprodukovatelnost u vzorků plné krve

Reprodukovatelnost analýzy Aptima CMV Quant Assay v plné krvi byla hodnocena na třech externích pracovištích. Na každém pracovišti testy prováděli dva laboranti. Každý operátor prováděl jeden cyklus denně po dobu 5 dnů, přičemž v průběhu testování použil jednu šarži reagentie. Každá série měření zahrnovala tři replikáty každého vzorku z panelu.

Reprodukovatelnost byla testována pomocí prvků panelu připravených řaděm klinických vzorků pozitivních na CMV nebo kultivovaného CMV do EDTA plné krve negativní na CMV. Koncentrace DNA viru CMV pokrývaly celý lineární rozsah této analýzy.

Tabulka 22 ukazuje reprodukovatelnost a preciznost výsledků testu u jednotlivých pozitivních prvků panelu mezi pracovišti, mezi operátory, jednotlivými dny, mezi cykly, v rámci cyklů a celkově, s výjimkou jedné pozorované odlehle hodnoty (0,2 %, 1/533). Variační koeficient byl vypočítán následující rovnicí, kde σ^2 představuje výběrový rozptyl souboru dat po transformaci \log_{10} .

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

U všech prvků panelu pozitivních na CMV i negativních na CMV byly hodnoty shody 100 %.

Tabulka 22: Reprodukovatelnost stanovení koncentrací DNA CMV v plné krvi u pozitivních prvků panelu analýzou Aptima CMV Quant Assay v systému Panther

Počet	Pozorovaný průměr		Podíl na celkovém rozptylu SD (%CV ²)					Celkový rozptyl SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Mezi pracovišti	Mezi operátory	Mezi dny	Mezi cykly	V rámci cyklů	
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	48 897,12	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	375 626,91	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	4 609 046,44	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 = logaritmsky normální variační koeficient, SD = směrodatná odchylka (log₁₀ IU/ml)

Poznámka: Variabilita některých koeficientů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V takových případech je hodnota SD a %CV uvedena jako 0.

^aCelkový výsledek rozptylu s vyloučením odlehle hodnoty, která by mohla být důsledkem problému s přípravou vzorku.

Klinická funkčnost

Klinická shoda

Cílem studie klinické funkčnosti bylo posoudit klinickou shodu mezi analýzou Aptima CMV Quant Assay a schváleným srovnávacím testem. Během prospektivní multicentrické studie na osmi klinických pracovištích byly odebrány vzorky plazmy od příjemců po transplantaci solidních orgánů (SOTR) a příjemců po transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCTR), kteří se podrobují sledování CMV v běžné klinické praxi. Kromě toho byly od dodavatelů klinických vzorků získány zbytkové zmrazené vzorky od SOTR a HSCTR.

Z 88 subjektů, které byly zařazeny do prospektivní studie, nebylo šest subjektů hodnotitelných z důvodu odstoupení ze studie (n = 5) nebo z důvodu, že nebyly k dispozici platné výsledky vzorků s analýzou Aptima CMV Quant Assay a schváleným testem (n = 1). Tabulka 23 uvádí demografické údaje a základní klinické charakteristiky 82 subjektů, které bylo možné hodnotit.

Tabulka 23: Demografické údaje a výchozí klinické charakteristiky hodnotitelných subjektů celkově a podle typu transplantátu

Charakteristiky		SOTR	HSCTR	Vše
Celkem, N		62	20	82
Pohlaví, n (%)	Muži	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Ženy	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Věk (roky)	Střední hodnota ± (SD)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Medián	53,0	54,5	54,0
	Minimum	20	22	20
	Maximum	81	69	81
Etnikum, n (%)	Hispánské či latinskoamerické	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Jiné než hispánské či latinskoamerické	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Neznámé	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Rasa, n (%)	Původní obyvatelé USA a Aljašky	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiaté	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Černoši a afroameričané	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Původní Havajci a Pacifičtí ostrované	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Bílá	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Jiné	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Neznámé	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Typ orgánu, n (%)	Ledvina	25 (40,3)	–	–
	Játra	15 (24,2)	–	–
	Plíce	10 (16,1)	–	–
	Srdce	12 (19,4)	–	–

Tabulka 23: Demografické údaje a výchozí klinické charakteristiky hodnotitelných subjektů celkově a podle typu transplantátu (*pokračování*)

Charakteristiky		SOTR	HSCTR	Vše
Typ kmenových buněk, n (%)	Alogenní	–	18 (90,0)	–
	Autologní	–	2 (10,0)	–
Sérologický stav CMV, n (%)	Dárce pozitivní / příjemce negativní	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Dárce negativní / příjemce pozitivní	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Dárce pozitivní / příjemce pozitivní	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
Na antivirové léčbě CMV, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Dny antivirové léčby CMV až do zařazení do studie				
n		41	12	53
Průměr		13,6	13,3	13,5
Medián		11	9,5	11
Minimum		1	1	1
Maximum		47	45	47

HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk, SD = směrodatná odchylka,
SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů.

V prospektivní studii bylo odebráno 365 vzorků plazmy od 82 hodnotitelných subjektů. Kromě toho byly od dodavatelů klinických vzorků získány 261 zbytkových zmrazených vzorků. Z 626 klinických vzorků plazmy (tj. vzorků odebraných v rámci prospektivní studie a zbytkových zmrazených vzorků dohromady) bylo do analýz shody zahrnuto 597 párových (tj. s platným výsledkem analýzy Aptima CMV Quant Assay i schváleného testu) klinických vzorků plazmy. Z 597 párových klinických vzorků bylo 339 vzorků odebráno v rámci prospektivní studie a 258 vzorků bylo zbytkových zmrazených. Samostatně byly provedeny analýzy shody u 181 párových vzorků odebraných subjektům po zahájení antivirové léčby CMV v rámci běžné péče během prospektivní studie.

Tabulka 24 ukazuje analýzu shody a procentuální shodu mezi analýzou Aptima CMV Quant Assay a schváleným testem při různých prahových hodnotách (celkově a podle transplantačních skupin). Analýzu shody v různých intervalech virové nálože (celkově a podle transplantačních skupin) uvádí Tabulka 25. U čtyř z 597 celkových výsledků byly zjištěny rozdíly ve více než bezprostředně sousedících kategoriích, z toho 3 byly od příjemců HSCTR.

Tabulka 24: Analýza shody a procentuální shoda při různých prahových hodnotách (celkově a podle transplantačních skupin)

Prahová hodnota pro transplantační skupinu	N ^a	Výsledky srovnávacího testu ^b a testu Aptima CMV Quant Assay				PPA % (n/N) [95 % CI] ^c	NPA % (n/N) [95 % CI] ^c
		Srovn. ≥ ACMV ≥	Srovn. < ACMV ≥	Srovn. < ACMV <	Srovn. ≥ ACMV <		
		Celkově					
CND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2, 99,8]	86,0 (295/343) [81,9, 89,3]
2,7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	597	158	37	397	5	96,9 (158/163) [93,0, 98,7]	91,5 (397/434) [88,5, 93,8]
3,3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2, 99,8]	96,0 (483/503) [93,9, 97,4]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7 943,3 IU/ml)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTR							
CND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4, 99,7]	87,3 (178/204) [82,0, 91,2]
2,7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	403	129	25	245	4	97,0 (129/133) [92,5, 98,8]	90,7 (245/270) [86,7, 93,6]
3,3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2, 99,8]	95,1 (308/324) [92,1, 96,9]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7 943,3 IU/ml)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTR							
CND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5, 100]	84,2 (117/139) [77,2, 89,3]
2,7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	194	29	12	152	1	96,7 (29/30) [83,3, 99,4]	92,7 (152/164) [87,6, 95,8]
3,3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7 943,3 IU/ml)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV = Aptima CMV Quant Assay, CI = interval spolehlivosti, Srovn. = srovnávací analýza, HSCTR = příjemci transplantátů hematopoetických buněk, NPA = negativní procentuální shoda, PPA = pozitivní procentuální shoda, SOTR = příjemci transplantátů solidních orgánů, CND = cíl nebyl detekován.

Poznámky:

≥: Výsledek je vyšší nebo roven zadané prahové hodnotě.

<: Výsledek je nižší než zadaná prahová hodnota.

PPA shrnuje výsledky vyšší nebo rovné dané prahové hodnotě; NPA shrnuje výsledky nižší než daná prahová hodnota.

^a Počet párových klinických vzorků (vzorky odebrané v rámci prospektivní studie a zmrazené zbytkové vzorky získané od dodavatelů klinických vzorků dohromady).

^b schválený test

^c Hodnota CI

^d LLoQ alternativního schváleného testu

Tabulka 25: Analýza shody v různých intervalech virové nálože (celkově a podle transplantačních skupin)

Transplantační skupina Výsledek analýzy Aptima CMV Assay	Výsledek srovnávacího testu ^b (log ₁₀ IU/ml)						
	Celkem ^a , N	CND	Detekováno, < 2,1	≥ 2,1 až < 2,7	≥ 2,7 až < 3,3	≥ 3,3 až < 3,9	≥ 3,9
Celkově							
Celkový počet párových vzorků, N	597	149	194	91	69	49	45
CND	157	136	21	0	0	0	0
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥ 2,1 až < 2,7 log ₁₀ IU/ml	105	0	46	54	5	0	0
≥ 2,7 až < 3,3 log ₁₀ IU/ml	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥ 3,3 až < 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							
Celkový počet párových vzorků, N	403	94	110	66	54	38	41
CND	99	85	14	0	0	0	0
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥ 2,1 až < 2,7 log ₁₀ IU/ml	69	0	26	39	4	0	0
≥ 2,7 až < 3,3 log ₁₀ IU/ml	60	0	0	25	34	1	0
≥ 3,3 až < 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							
Celkový počet párových vzorků, N	194	55	84	25	15	11	4
CND	58	51	7	0	0	0	0
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥ 2,1 až < 2,7 log ₁₀ IU/ml	36	0	20	15	1	0	0
≥ 2,7 až < 3,3 log ₁₀ IU/ml	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥ 3,3 až < 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 = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů, CND = cíl nebyl detekován

^a Počet párových klinických vzorků (vzorky odebrané v rámci prospektivní studie a zmrazené zbytkové vzorky získané od dodavatelů klinických vzorků dohromady).

^b schválený test

^c LLoQ alternativního schváleného testu

^d U 4 z 597 celkových výsledků byly zjištěny rozdíly ve více než bezprostředně sousedících kategoriích; 1 z těchto 4 výsledků byl od příjemce SOTR a 3 z těchto 4 výsledků byly od příjemců HSCTR. Ze 2 příjemců HSCTR, kteří byli testováni alternativním NAAT, byla u 1 zjištěna shoda s výsledky analýzy Aptima CMV Quant Assay.

Tabulka 26 ukazuje analýzu shody a procentuální shodu při různých prahových hodnotách (celkově a podle transplantačních skupin) pro vzorky odebrané subjektům po zahájení antivirové léčby pro CMV v rámci běžné péče v prospektivní studii. Analýzu shody v různých intervalech virové nálože při použití všech časových bodů po zahájení léčby dohromady (celkově a podle transplantačních skupin) ukazuje Tabulka 27. U jednoho ze 181 celkových výsledků byly zjištěny rozdíly ve více než bezprostředně sousedících kategoriích, což bylo pozorováno u příjemce SOTR.

Tabulka 26: Analýza shody a procentuální shoda při různých prahových hodnotách s použitím všech časových bodů po zahájení léčby dohromady (celkově a podle transplantačních skupin)

Prahová hodnota pro transplantační skupinu	N ^a	Výsledky srovnávacího testu ^b a testu Aptima CMV Quant Assay				PPA % (n/N) [95 % CI] ^c	NPA % (n/N) [95 % CI] ^c
		Srovn. ≥ ACMV ≥	Srovn. < ACMV ≥	Srovn. < ACMV <	Srovn. ≥ ACMV <		
Celkově							
CND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
2,7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	181	42	9	129	1	97,7 (42/43) [87,9, 99,6]	93,5 (129/138) [88,1, 96,5]
3,3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7 943,3 IU/ml)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTR							
CND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
2,7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	136	34	8	93	1	97,1 (34/35) [85,5, 99,5]	92,1 (93/101) [85,1, 95,9]
3,3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7 943,3 IU/ml)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTR							
CND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
3,3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
3,9 log ₁₀ IU/ml (7 943,3 IU/ml)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

ACMV = Aptima CMV Quant Assay, CI = interval spolehlivosti, Srovn. = srovnávací analýza, HSCTR = příjemci transplantátů hematopoetických buněk, NPA = negativní procentuální shoda, PPA = pozitivní procentuální shoda, SOTR = příjemci transplantátů solidních orgánů, CND = cíl nebyl detekován.

Poznámky:

- ≥: Výsledek je vyšší nebo roven zadané prahové hodnotě.
- <: Výsledek je nižší než zadaná prahová hodnota.
- PPA shrnuje výsledky vyšší nebo rovné dané prahové hodnotě; NPA shrnuje výsledky nižší než daná prahová hodnota.

^a Počet párových vzorků, které byly odebrány od subjektů, které při zařazení do studie užívaly antivirovou léčbu pro CMV nebo zahájily antivirovou léčbu pro CMV během prospektivní studie.

^b schválený test

^c Hodnota CI

^d LLoQ alternativního schváleného testu

Tabulka 27: Analýza shody v různých intervalech virové nálože s využitím všech časových bodů po zahájení léčby dohromady (celkově a podle transplantačních skupin)

Transplantační skupina Výsledek testu Aptima CMV Quant Assay	Výsledek srovnávacího testu ^b (log ₁₀ IU/ml)						
	Celkem ^a , N	CND	Detekováno, < 2,1	≥ 2,1 až < 2,7	≥ 2,7 až < 3,3	≥ 3,3 až < 3,9	≥ 3,9
Celkově							
Celkový počet párových vzorků, N	181	51	61	26	20	11	12
CND	56	47	9	0	0	0	0
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥ 2,1 až < 2,7 log ₁₀ IU/ml	33	0	15	17	1	0	0
≥ 2,7 až < 3,3 log ₁₀ IU/ml	23	0	0	9	14	0	0
≥ 3,3 až < 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							
Celkový počet párových vzorků, N	136	28	51	22	17	8	10
CND	32	26	6	0	0	0	0
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥ 2,1 až < 2,7 log ₁₀ IU/ml	30	0	15	14	1	0	0
≥ 2,7 až < 3,3 log ₁₀ IU/ml	19	0	0	8	11	0	0
≥ 3,3 až < 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							
Celkový počet párových vzorků, N	45	23	10	4	3	3	2
CND	24	21	3	0	0	0	0
Detekováno, < 2,1 log ₁₀ IU/ml ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥ 2,1 až < 2,7 log ₁₀ IU/ml	3	0	0	3	0	0	0
≥ 2,7 až < 3,3 log ₁₀ IU/ml	4	0	0	1	3	0	0
≥ 3,3 až < 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 = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů, CND = cíl nebyl detekován

^a Počet párových vzorků, které byly odebrány od subjektů, které při zařazení do studie užívaly antivirovou léčbu pro CMV nebo zahájily antivirovou léčbu pro CMV během prospektivní studie.

^b schválená analýza

^c LLoQ alternativního schváleného testu

^d U 1 ze 181 celkových výsledků byly zjištěny rozdíly ve více než bezprostředně sousedících kategoriích.

Srovnání metod

Studie srovnání metod byla provedena za účelem posouzení účinnosti analýzy Aptima CMV Quant Assay ve srovnání se schváleným testem. Do analýzy srovnání metod bylo zahrnuto celkem 309 párových klinických vzorků pozitivních na CMV, které sestávaly ze 165 vzorků odebraných v prospektivní studii a 144 zbytkových zmrazených vzorků s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy. Kromě toho bylo uměle připraveno celkem 105 vzorků, a to přidáním kultivovaného viru CMV do EDTA plazmy negativní na CMV, z nichž 103 bylo ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy. Uměle připravené vzorky byly analyzovány odděleně.

Tabulka 28 uvádí odhady parametrů Demingovy regrese (\log_{10} IU/ml). Obrázek 15 až Obrázek 18 ukazují Demingovu regresi výsledků virové nálože (\log_{10} IU/ml) z analýzy Aptima CMV Quant Assay a schváleného testu.

Tabulka 28: Odhady parametrů Demingovy regrese podle typu vzorku a transplantační skupiny

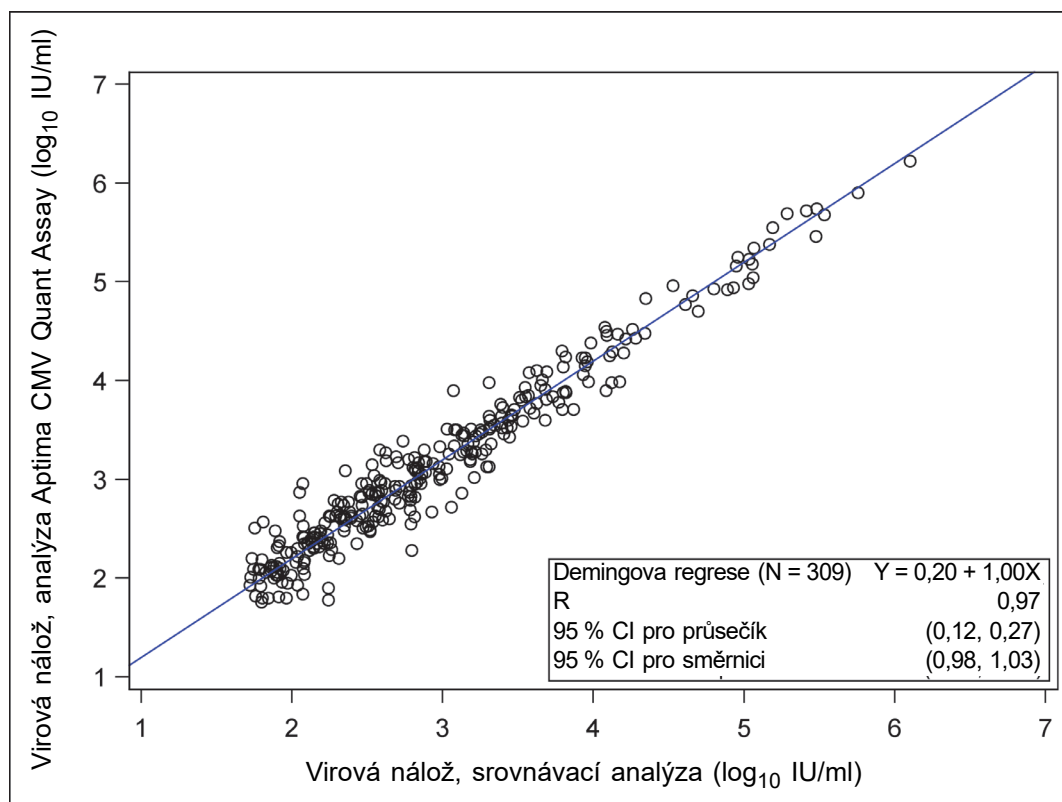
Typ vzorku	Transplantační skupina	Jednotka virové nálože	Parametr	N ^a	Odhad	Metoda jackknife ^b		Metoda bootstrap ^c		r
						SE	95 % CI	SE	95 % CI	
Klinický	Celkově	\log_{10} IU/ml	Průsečík	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Sklon		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTR	\log_{10} IU/ml	Průsečík	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Sklon		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	
	HSCTR	\log_{10} IU/ml	Průsečík	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Sklon		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	
Uměle připravený	–	\log_{10} IU/ml	Průsečík	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Sklon		1,01	0,011	(0,98, 1,03)	0,012	(0,98, 1,03)	

CI = interval spolehlivosti, HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických buněk, r = korelační koeficient, SE = standardní chyba, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů.

^a Počet párových vzorků s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.

^b Předpokládaná nezávislost všech vzorků; k odhadu SE a CI použita metoda jackknife.

^c Klinické vzorky byly upraveny pro korelaci u jednoho subjektu pomocí metody převzorkování bootstrap s 500 iteracemi; tato metoda byla použita také pro uměle připravené vzorky, ale bez stratifikace podle subjektu.

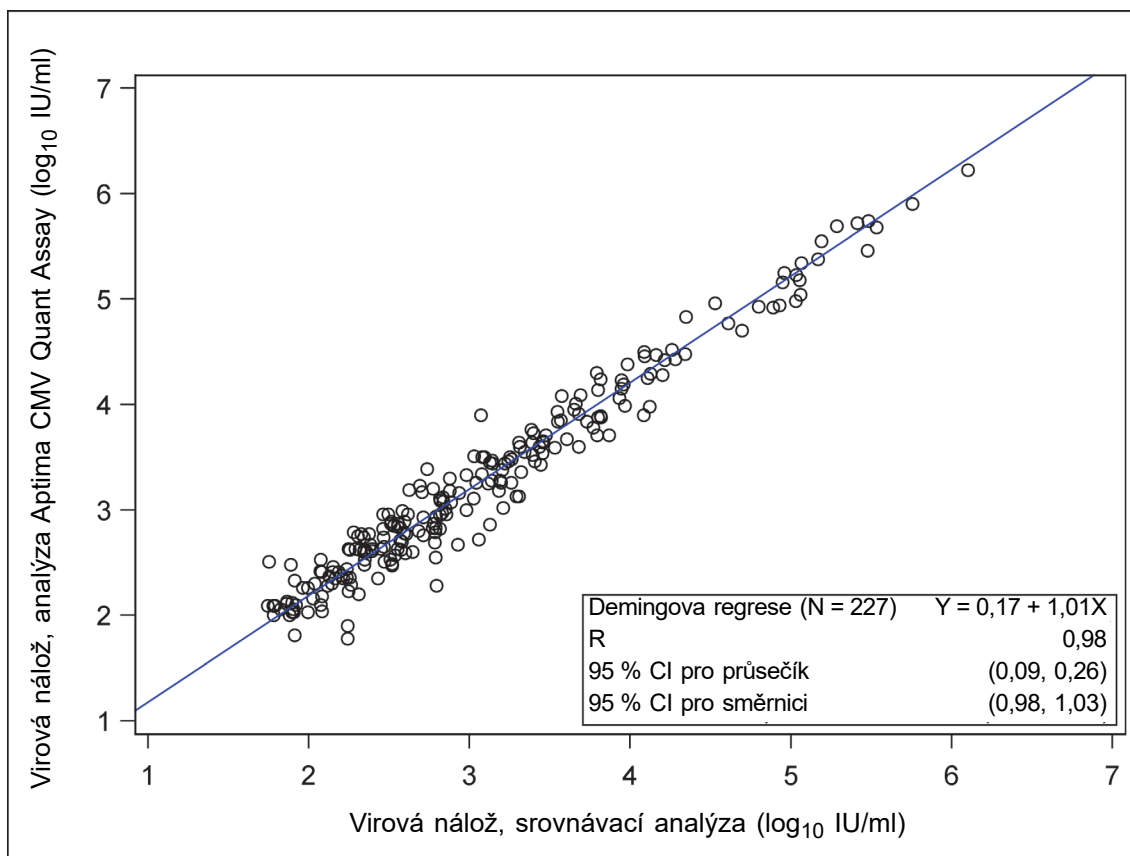


Obrázek 15. Graf Demingovy lineární regrese (klinické vzorky: SOTR a HSCTR dohromady)

CI = interval spolehlivosti, HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických buněk, R = korelační koeficient, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů

Poznámky:

- Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.
- Demingův regresní model předpokládá nezávislost všech vzorků; k odhadu hodnot CI se používá metoda jackknife.

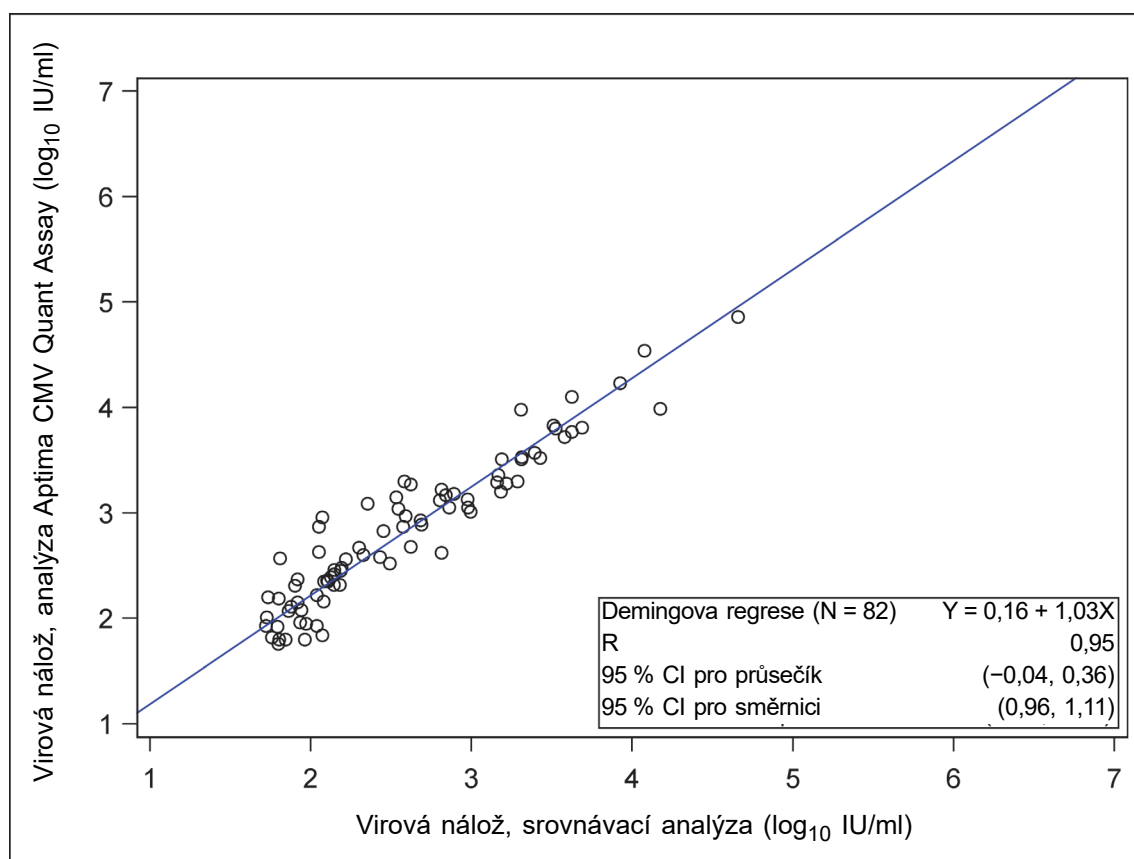


Obrázek 16. Graf Demingovy lineární regrese u virové nálože (klinické vzorky: pouze SOTR)

CI = interval spolehlivosti, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů, R = korelační koeficient

Poznámky:

- Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.
- Demingův regresní model předpokládá nezávislost všech vzorků; k odhadu hodnot CI se používá metoda jackknife.

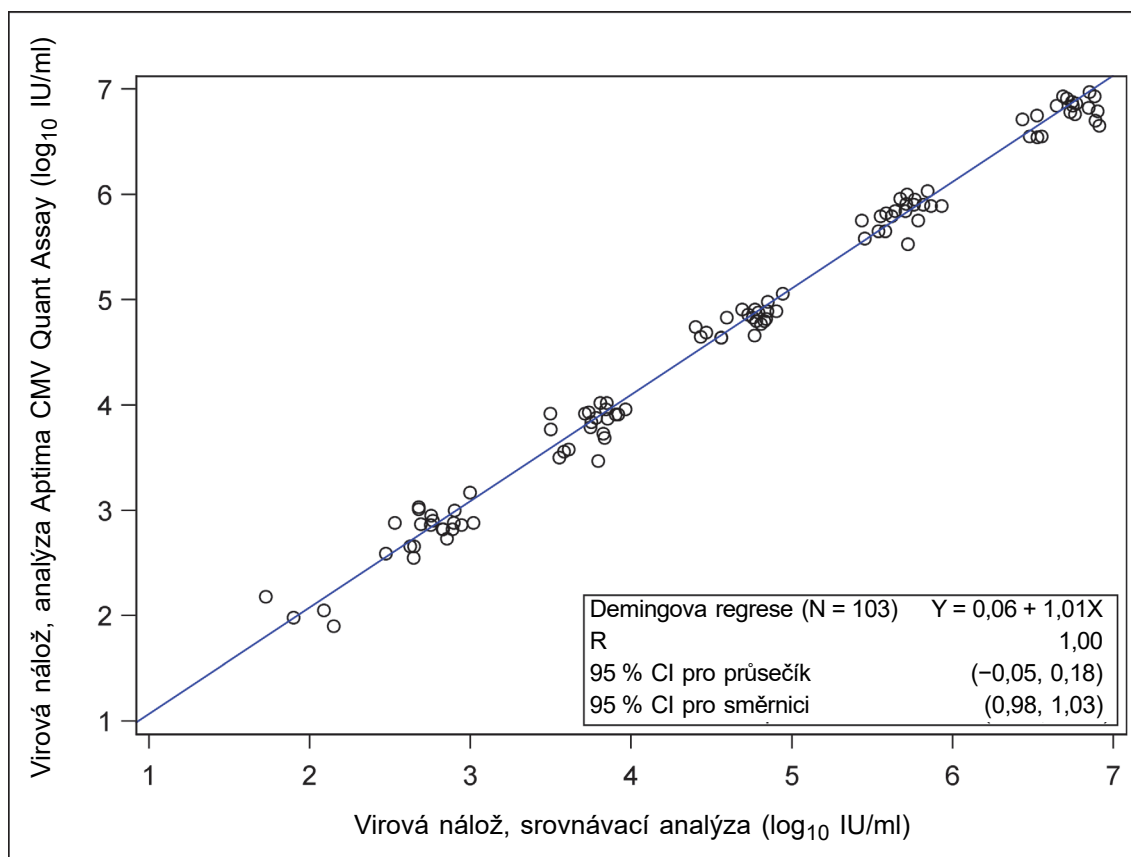


Obrázek 17. Graf Demingovy lineární regrese u virové nálože (klinické vzorky: pouze HSCTR)

CI = interval spolehlivosti, HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických buněk, R = korelační koeficient

Poznámky:

- Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.
- Demingův regresní model předpokládá nezávislost všech vzorků; k odhadu hodnot CI se používá metoda jackknife.



Obrázek 18. Graf Demingovy lineární regrese u virové nálože (uměle připravené vzorky)

CI = interval spolehlivosti, R = korelační koeficient

Poznámky:

- Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.
- Demingův regresní model předpokládá nezávislost všech vzorků; k odhadu hodnot CI se používá metoda jackknife.

Střední párový rozdíl

Tabulka 29 níže ukazuje střední párový rozdíl mezi analýzou Aptima CMV Quant Assay a schváleným testem v reprezentativních rozhodovacích intervalech.

Tabulka 29: Střední hodnota párových rozdílů virové nálože v reprezentativních rozhodovacích intervalech podle typu vzorku a transplantační skupiny

Typ vzorku	Transplantační skupina	Reprezentativní rozhodovací intervaly ^a (log ₁₀ IU/ml)	Celkový počet párových vzorků ^b (N)	Střední hodnota (SE)	95 % CI
Klinický	Celkově	Vše	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		≥ 2,1 až < 3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		≥ 3,0 až < 4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		≥ 4,0 až < 5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	SOTR	Vše	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		≥ 2,1 až < 3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		≥ 3,0 až < 4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		≥ 4,0 až < 5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	HSCTR	Vše	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		≥ 2,1 až < 3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		≥ 3,0 až < 4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		≥ 4,0 až < 5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥ 5,0	0	NV (NV)	NC
Uměle připravený	–	Vše	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		≥ 2,1 až < 3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		≥ 3,0 až < 4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		≥ 4,0 až < 5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥ 5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

CI = interval spolehlivosti, HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických buněk, NV = nelze vypočítat, SE = standardní chyba, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů.

^a Párové vzorky jsou rozděleny do rozhodovacích intervalů na základě výsledku schváleného testu.

^b Počet párových vzorků s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.

Zkreslení u vybraných úrovní virové nálože

Tabulka 30 níže uvádí zkreslení mezi analýzou Aptima CMV Quant Assay a schváleným testem u pěti vybraných hladin virové nálože od 2,1 log₁₀ IU/ml do 7,0 log₁₀ IU/ml s příslušnými netrtransformovanými ekvivalenty.

Tabulka 30: Zkreslení / systematický rozdíl u vybraných hladin virové nálože podle typu vzorku a transplantační skupiny

Typ vzorku	Transplantační skupina	Výběr úrovní virové nálože log ₁₀ IU/ml (IU/ml)	Systematický rozdíl ^a log ₁₀ IU/ml (IU/ml)
Klinický	Celkově	2,1 (137)	0,20 (1 797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1 948,2)
		3,3 (1 800)	0,21 (2 489,1)
		3,9 (7 943,3)	0,21 (5 045,3)
		7,0 (10 000 000)	0,22 (4 162 789,2)
	SOTR	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2 402,4)
		3,3 (1 800)	0,19 (2 941,7)
		3,9 (7 943,3)	0,19 (5 490,5)
		7,0 (10 000 000)	0,21 (4 151 107,2)
	HSCTR	2,1 (137)	0,23 (180,1)
		2,7 (500)	0,25 (430,5)
		3,3 (1 800)	0,27 (1 327,2)
		3,9 (7 943,3)	0,29 (5 564,7)
		7,0 (10 000 000)	0,40 (6 897 935,4)
Uměle připravený	–	2,1 (137)	0,07 (33 420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33 467,9)
		3,3 (1 800)	0,08 (33 638,0)
		3,9 (7 943,3)	0,08 (34 442,0)
		7,0 (10 000 000)	0,10 (1 342 167,4)

HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů

^aSystematický rozdíl je rozdíl mezi výslednou proměnnou (Y) a virovou náloží (X) odvozený pro každou z vybraných úrovní virové nálože pomocí Demingových regresních odhadů pro směrnici a průsečík.

Přípustný celkový rozdíl (ATD)

Tabulka 31 spolu s Obrázek 19 až Obrázek 22 níže prezentují výsledky ATD pomocí párových rozdílů mezi analýzou Aptima CMV Quant Assay a schváleným testem oproti jejich průměru při reprezentativních prahových hodnotách a procentu párových výsledků v oblasti ATD.

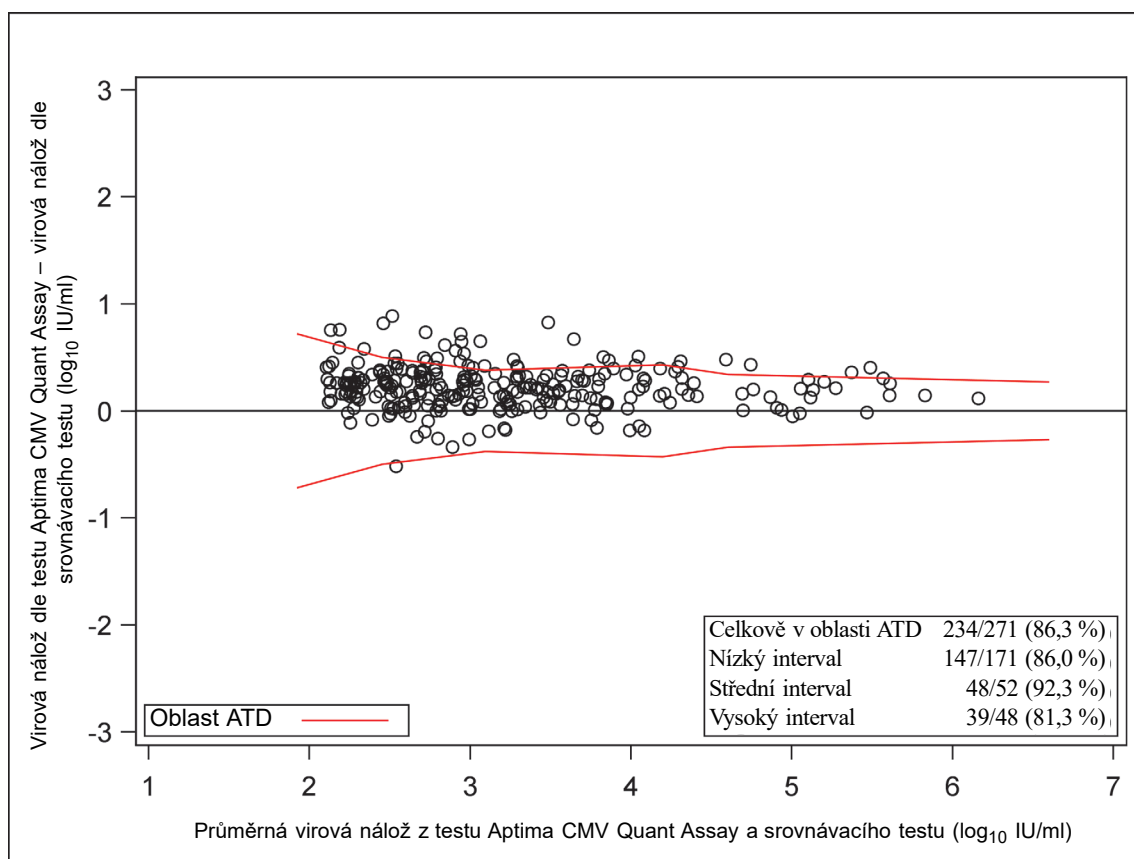
Tabulka 31: Procento rozdílů párových vzorků v oblasti přípustného celkového rozdílu (ATD) v různých intervalech virové nálože podle typu vzorku a transplantační skupiny

Typ vzorku	Transplantační skupina	Intervaly virové nálože ^a (log ₁₀ IU/ml)	N ^b	Rozdíly mezi párovými vzorky v oblasti ATD				
				n (%)	Percentily			
					2,5 %	5 %	95 %	97,5 %
Klinický	Celkově	Vše	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Nízká (≥ 2,1 až < 3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Střední (≥ 3,3 až < 3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Vysoká (≥ 3,9 až < 7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
	SOTR	Vše	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Nízká (≥ 2,1 až < 3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Střední (≥ 3,3 až < 3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Vysoká (≥ 3,9 až < 7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
	HSCTR	Vše	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Nízká (≥ 2,1 až < 3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Střední (≥ 3,3 až < 3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Vysoká (≥ 3,9 až < 7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Uměle připravený	–	Vše	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Nízká (≥ 2,1 až < 3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Střední (≥ 3,3 až < 3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Vysoká (≥ 3,9 až < 7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů

^a Párové vzorky jsou rozděleny do rozhodovacích intervalů na základě výsledku schváleného testu.

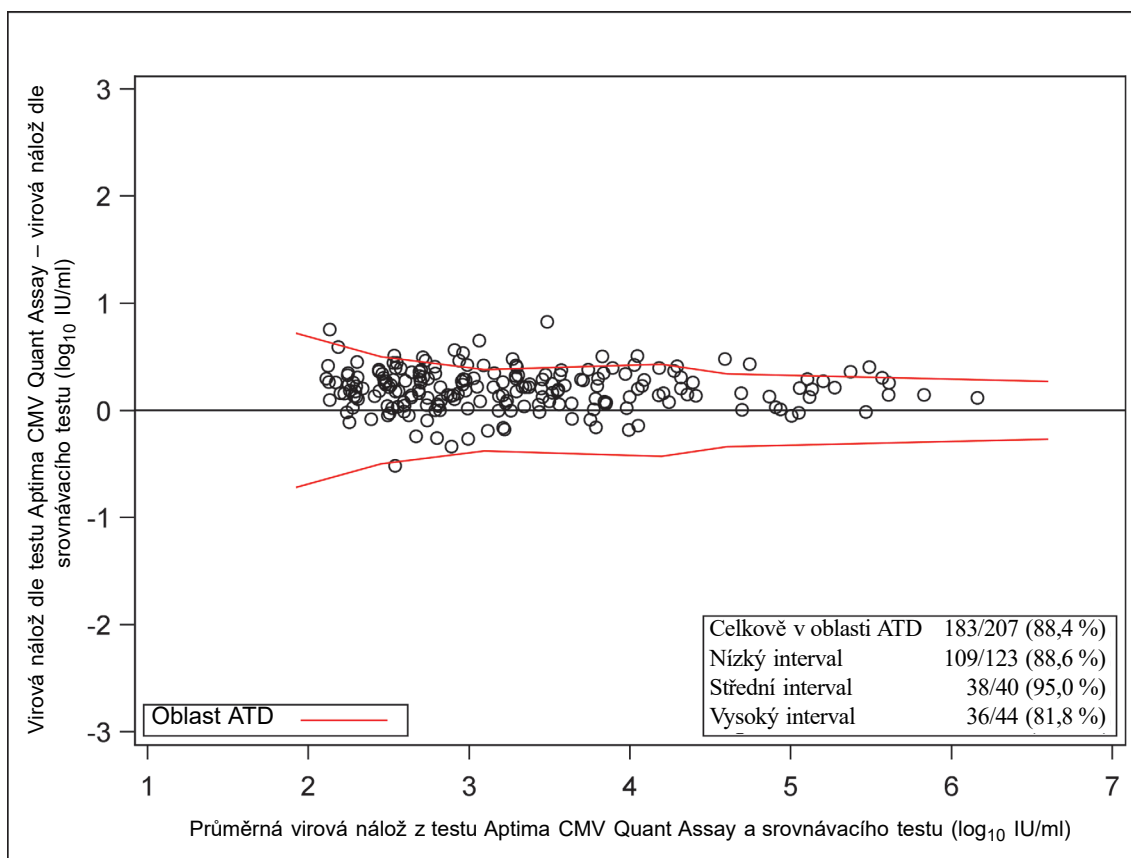
^b Počet párových vzorků s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.



Obrázek 19. Graf rozdílů mezi párovými vzorky a oblasti ATD (klinické vzorky: SOTR a HSCTR dohromady)

ATD = přípustný celkový rozdíl, HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů

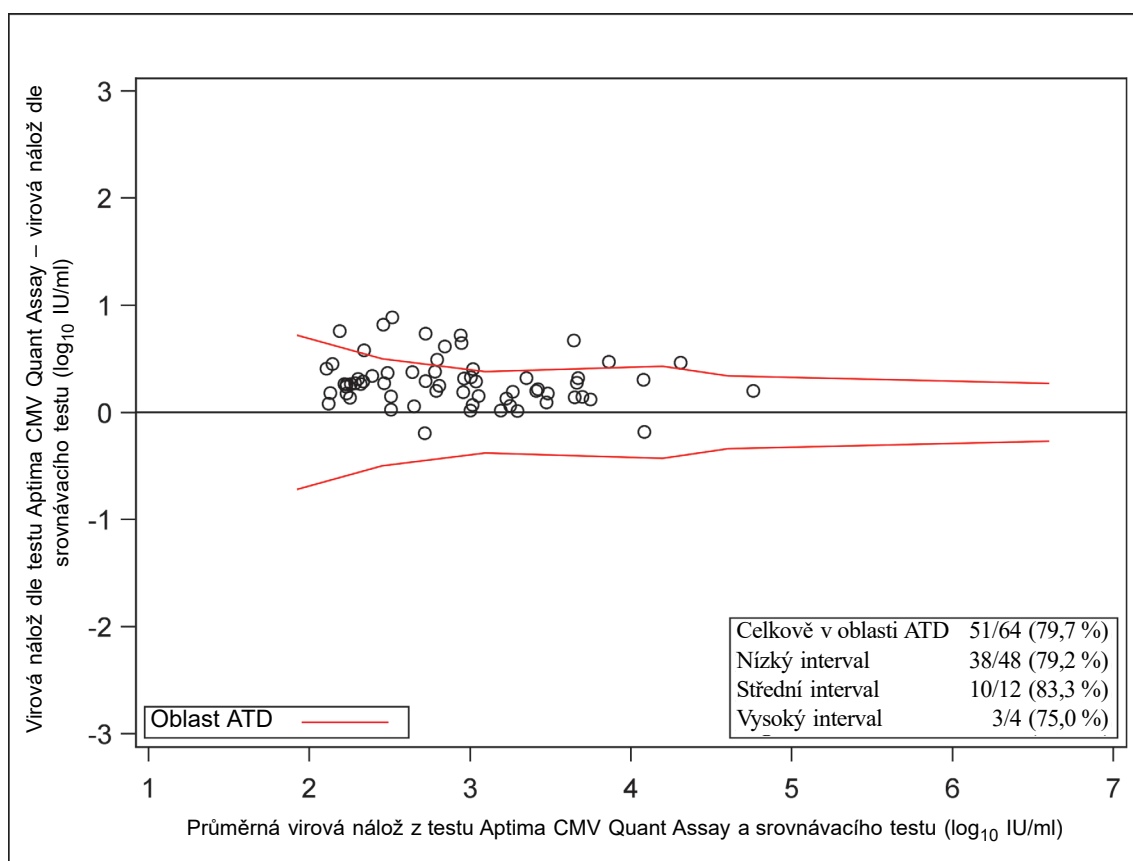
Poznámka: Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.



Obrázek 20. Graf rozdílů mezi párovými vzorky a oblasti ATD (klinické vzorky: pouze SOTR)

ATD = přípustný celkový rozdíl, SOTR = příjemci transplantace solidních orgánů

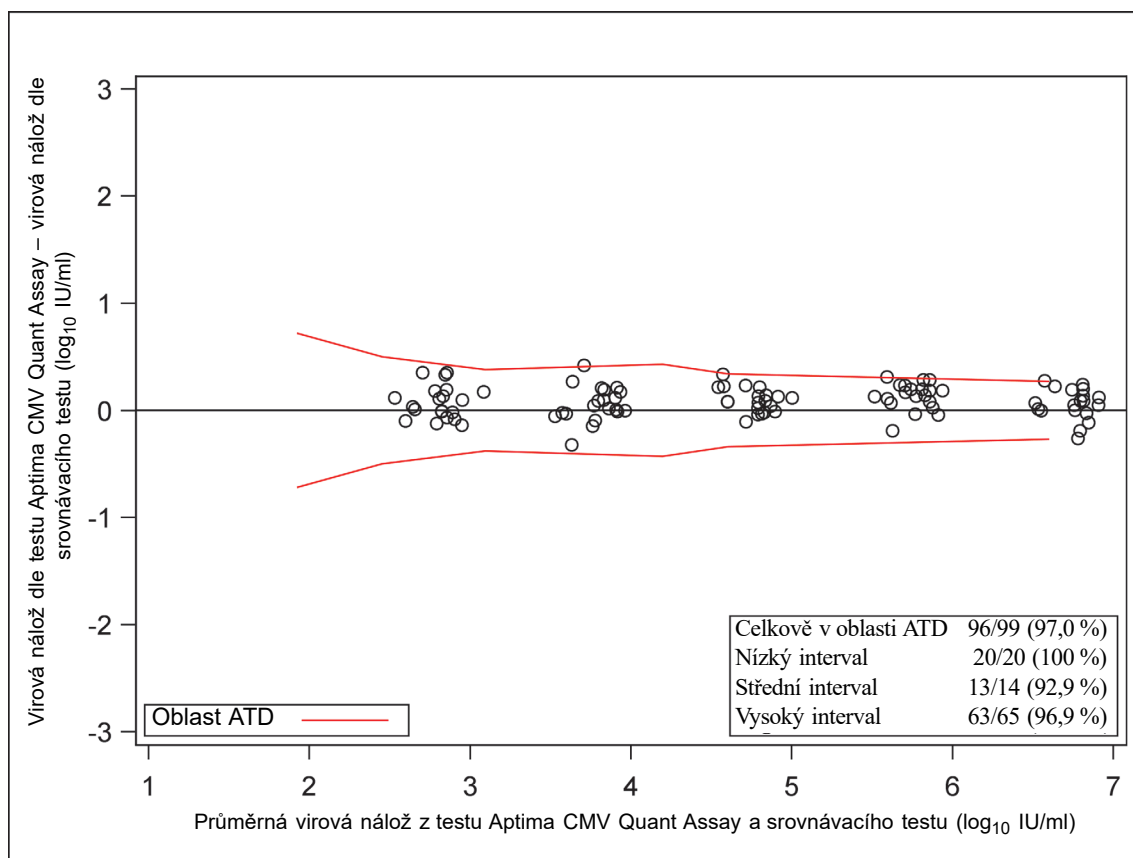
Poznámka: Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.



Obrázek 21. Graf rozdílů mezi párovými vzorky a oblasti ATD (klinické vzorky: pouze HSCTR)

ATD = přípustný celkový rozdíl, HSCTR = příjemci transplantace hematopoetických kmenových buněk

Poznámka: Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.



Obrázek 22. Graf rozdílů mezi párovými vzorky a oblasti ATD (uměle připravené vzorky)

ATD = přípustný celkový rozdíl

Poznámka: Párové vzorky s výsledky ve společném lineárním rozsahu pro obě analýzy.

Literatura

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.** The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA
11. **29 CFR Part 1910,1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. 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

Kontaktní údaje a historie revizí



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

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb požadované země najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné události, ke kterým dojde v souvislosti s prostředkem v Evropské unii, by měly být hlášeny výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, Panther Fusion jsou ochranné známky a/nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc. a/nebo jejích dceřiných společností v USA a/nebo v jiných zemích.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

© 2021–2023 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-27747-2601 Rev. 001

2023-06

Historie revizí	Datum	Popis
AW-27747 Rev. 001	Červen 2023	<ul style="list-style-type: none"> Vytvořen návod k použití analýzy Aptima CMV Quant Assay AW-27747 Rev. 001 na základě AW-25509 Rev. 003 tak, aby byly splněny požadavky nařízení IVDR Přidán Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti Aktualizace oddílu Obecné informace Aktualizace informací o nebezpečí Aktualizace oddílů Analytická funkčnost a tabulka Dodávané materiály Doplněna Klinická funkčnost: Klinická shoda, Srovnání metod, Střední párový rozdíl, Zkreslení u vybraných hladin virové nálože a Přípustný celkový rozdíl (ATD). Aktualizovány kontaktní údaje včetně: zástupce pro ES, označení CE, informací o zástupci v Austrálii a oddělení technické podpory. Různé aktualizace týkající se stylu a formátování.