

Aptima® CMV Quant Assay

Instrukcja użycia
Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*
Tylko na eksport poza USA

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	2
Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	3
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	8
Pobieranie i przechowywanie próbek	9
Próbki w systemie Panther System	12
Transport próbek	12
Panther System	12
Dostarczone odczynniki i materiały	12
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	14
Materiały opcjonalne	15
Procedura testu w systemie Panther System	15
Uwagi dotyczące procedury	23
Kontrola jakości	24
Kalibracja testu	24
Kontrole ujemne i dodatnie	24
Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna	24
Interpretacja wyników	25
Ograniczenia	27
Skuteczność analityczna	28
Granica wykrywalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO	28
Granica wykrywalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV	29
Zakres liniowy	31
Liniowość według genotypów wirusa CMV	33
Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO	35
Określenie dolnej granicy oznaczalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV	37
Identyfikowalność względem 1. międzynarodowego wzorca WHO	40
Precyzja	42
Potencjalne substancje zakłócające	43
Swoistość	44
Swoistość analityczna	45
Rozcieńczanie próbek osocza przy użyciu kontroli ujemnej CMV Aptima (1:3)	46
Potwierdzenie granic LoD i LLoQ przy użyciu 1. międzynarodowych wzorców WHO dla wirusa CMV rozcieńczonych w kontroli ujemnej CMV Aptima	47
Przenoszenie	47
Korelacja metod	48
Powtarzalność	50
Skuteczność kliniczna	52
Zgodność kliniczna	52
Porównanie metod	58
Średnia różnica par	63
Obciążenie (bias) przy wybranych poziomach obciążenia wirusem	64
Dopuszczalna różnica całkowita (ATD)	65
Bibliografia	70
Dane kontaktowe i historia wersji	71

Informacje ogólne

Przeznaczenie

Aptima® CMV Quant to test amplifikacji kwasów nukleinowych in vitro przeznaczony do ilościowego oznaczania DNA ludzkiego cytomegalowirusa w ludzkiej krwi pełnej i ludzkim osoczu EDTA w całkowicie zautomatyzowanym systemie Panther® System.

Test Aptima CMV Quant jest przeznaczony do użycia pomocniczo podczas diagnozowania i zarządzania leczeniem pacjentów po przeszczepie narządów łitych oraz pacjentów po przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych.

Test Aptima CMV Quant nie jest przeznaczony do stosowania jako test przesiewowy na obecność wirusa CMV w krwi lub produktach krwiopochodnych.

Podsumowanie i objaśnienie testu

CMV to wszechobecny wirus ludzki o liniowym, dwuniciowym DNA o wielkości 240 pz, należący do rodziny herpeswirusów. W zależności od badanej populacji i regionu geograficznego seroprewalencja wirusa CMV wynosi od 45 do 100% na całym świecie^{1,2}. U osób z prawidłową odpornością zakażenie wirusem CMV jest zazwyczaj bezobjawowe i ustępuje samoistnie. W przypadku osób o obniżonej odporności, np. u biorców przeszczepów i osób zakażonych ludzkim wirusem niedoboru odporności, zakażenie wirusem CMV jest jednak istotną przyczyną zachorowalności i śmiertelności.

Podobnie jak w przypadku innych herpeswirusów, CMV po zakażeniu pierwotnym przechodzi w utajone zakażenie trwające całe życie, które może się sporadycznie uaktywniać. U biorców przeszczepów przeniesienie utajonego wirusa CMV do przeszczepu lub reaktywacja utajonego zakażenia wirusem CMV u gospodarza może skutkować rozległą replikacją wirusa i jego rozprzestrzenieniem się do wielu narządów, co często zagraża życiu³.

Ilościowe oznaczenie oparte na amplifikacji kwasów nukleinowych jest preferowaną metodą monitorowania zakażenia i choroby spowodowanych wirusem CMV u biorców przeszczepów, ponieważ jest szybkie i czułe⁴. Zgodnie z najnowszymi wytycznymi zalecane jest, aby obciążenie wirusem CMV było sprawdzane co najmniej co tydzień w celu podjęcia decyzji o rozpoczęciu terapii skierowanej przeciwko wirusowi CMV oraz monitorowania odpowiedzi na terapię^{5,6,7,8}. Zazwyczaj wyższe obciążenie wirusem jest skorelowane z podniesionym ryzykiem wystąpienia choroby spowodowanej wirusem CMV^{4,9}. Z tego względu ilościowe oznaczenie DNA wirusa CMV w połączeniu z obrazem klinicznym i innymi markerami laboratoryjnymi jest kluczowe w leczeniu pacjentów zakażonych wirusem CMV.

Zasady procedury

Test Aptima CMV Quant jest testem amplifikacji kwasów nukleinowych in vitro, który wykorzystuje technologię amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA) w czasie rzeczywistym w systemie Panther System* do ilościowego oznaczania DNA wirusa CMV, genotypów 1, 2, 3 i 4. Starter zaprojektowano w taki sposób, aby był ukierunkowany na wysoce konserwatywny gen UL56 w celu zapewnienia dokładnego, ilościowego oznaczenia DNA wirusa CMV. Test jest standaryzowany względem 1. międzynarodowego wzorca WHO dla ludzkiego cytomegalowirusa (kod NIBSC: 09/162)²¹.

Test Aptima CMV Quant można podzielić na trzy podstawowe etapy, przy czym wszystkie odbywają się w jednej próbce w systemie Panther System: wychwytywanie cząsteczek

* W tym warianty systemu Panther System.

szukanych (target capture), amplifikacja cząsteczek szukanych metodą TMA oraz wykrywanie produktów amplifikacji (amplikonów) wyznakowanymi fluorescencyjnie sondami (typu torch).

Podczas wychwytywania cząsteczek szukanych z próbek izolowany jest DNA wirusa. Próbka jest poddawana działaniu detergentu w celu solubilizacji otoczki wirusowej, denaturacji białek i uwolnienia genomowego DNA wirusa. Oligonukleotydy wychwytyjące hybrydują do wysoce konserwatywnych regionów DNA wirusa CMV, jeśli są one obecne w badanej próbce. Po hybrydyzacji cząsteczka szukana jest wychwytywana przez mikrocząsteczki magnetyczne, które następnie są oddzielane od próbki w polu magnetycznym. W celu usunięcia zbędnych składników z próbki reakcyjnej wykonywane są etapy płukania.

Amplifikacja cząsteczek szukanych jest wykonywana metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych z mediacją transkrypcji, w której wykorzystywane są dwa enzymy — odwrotna transkryptaza wirusa białaczki mysiej Moloneya (Moloney murine leukemia virus, MMLV) oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA (zawierającej sekwencję promotora dla polimerazy RNA bakteriofaga T7) sekwencji szukanej. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA.

Wykrywanie następuje dzięki zastosowaniu sond jednoniciowego kwasu nukleinowego, które są obecne w czasie amplifikacji cząstki szukanej i ulegają swoistej hybrydyzacji z amplikonem w czasie rzeczywistym. Każda sonda typu torch składa się z fluoroforu i wygaszacza. Gdy sonda typu torch nie hybryduje do amplikonu, wygaszacz znajduje się w pobliżu fluoroforu i tłumi fluorescencję. Gdy sonda typu torch wiąże się z amplikonem, wygaszacz jest odsuwany dalej od fluoroforu, który po wzbudzeniu przez źródło światła emituje sygnał o swoistej długości fali. Gdy więcej sond typu torch hybryduje do amplikonu, generowany jest wyższy sygnał fluorescencyjny. Czas potrzebny do osiągnięcia przez sygnał fluorescencyjny określonego progu jest proporcjonalny do wyjściowego stężenia wirusa CMV. Każda reakcja ma wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC), która kontroluje zmiany w przetwarzaniu próbki, amplifikacji i wykrywaniu. Stężenie próbki jest określone przez oprogramowanie systemu Panther System przy użyciu sygnałów wirusa CMV i IC dla każdej reakcji i porównanie ich z informacjami o kalibracji.

Wyniki testu są przeliczane z liczby kopii/ml na j.m./ml przy użyciu równania współczynnika konwersji wbudowanego w oprogramowaniu Panther. To samo równanie współczynnika konwersji jest stosowane zarówno względem próbek krwi pełnej, jak i próbek osocza. Jeśli w systemie Panther System zostanie wybrany współczynnik konwersji dla krwi pełnej, w przypadku próbek krwi pełnej dla wyników obciążenia wirusem CMV stosowany jest współczynnik rozcieńczenia o wartości 4.

Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności

SSP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobów (Basic UDI-DI). W celu zlokalizowania dokumentu SSP testu Aptima CMV Quant należy użyć podstawowego unikalnego identyfikatora wyrobu (Basic Unique Device Identifier, BUDI): **54200455DIAGAPTCMVAP**.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.

- C. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę dołączoną do opakowania oraz odpowiednią *Instrukcję obsługi systemu Panther/Panther Fusion System*.

Kwestie związane z laboratorium

- D. PRZESTROGA: Kontrole dla tego testu zawierają ludzkie osocze. Osocze jest ujemne w kierunku antygeny powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), przeciwciał HCV, przeciwciał HIV-1 i HIV-2 oraz antygeny HIV podczas testowania zgodnie z procedurami zatwierdzonymi przez US Food and Drug Administration. Ponadto osocze jest niereaktywne dla DNA wirusa CMV, DNA wirusa HBV, RNA wirusa HCV i RNA wirusa HIV-1 podczas testowania licencjonowanymi testami kwasów nukleinowych z wykorzystaniem pul próbek. Wszystkie materiały pochodzące z krwi ludzkiej powinny być uważane za potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane z zachowaniem uniwersalnych środków ostrożności^{10,11,12}.
- E. Procedurę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima CMV Quant oraz postępowania z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować zgodnie z odpowiednimi procedurami w miejscu pracy.
- F. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- G. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpudrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- H. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).
- I. Wszelkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami, należy usunąć zgodnie z miejscowymi przepisami^{10,11,12,13}. Należy dokładnie wyczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.
- J. Kontrole zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie należy używać metalowych przewodów rurowych do przenoszenia odczynników. Jeżeli roztwory zawierające związki azydku sodu są usuwane do instalacji wodociągowej, należy je rozcieńczyć i spłukać dużą ilością bieżącej wody. Te środki ostrożności są zalecane w celu uniknięcia gromadzenia się osadów w metalowych przewodach rurowych, w których mogłyby powstać warunki wybuchowe.
- K. Dobre standardowe praktyki dla laboratoriów molekularnych obejmują monitorowanie środowiska. Aby monitorować środowisko laboratorium, sugeruje się następującą procedurę:
1. Przygotować wymazówkę z końcówką bawełnianą i dołączyć do próbki do porcjowania próbek Aptima (SAT).
 2. Odpowiednio oznakować każdą SAT.
 3. Nappełnić każdą SAT 1 ml rozcieńczalnika do próbek Aptima.
 4. Aby pobrać próbki powierzchniowe, należy lekko zwilżyć wymazówkę wolną od nukleaz dejonizowaną wodą.
 5. Wymazać wybraną powierzchnię, wykonując pionowe ruchy z góry na dół. Obrócić wymazówkę o około pół obrotu podczas wymazywania miejsca.

6. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w probówce i delikatnie odwirować wymazówkę w rozcieńczalniku w celu wyodrębnienia potencjalnych materiałów wymazowych. Przycisnąć wymazówkę do boku probówki transportowej, aby wydobyć jak najwięcej cieczy. Wyrzucić wymazówkę i zakręcić probówkę.
7. Powtórzyć czynności dla pozostałych próbek wymazu.
8. Zbadać wymaz przy pomocy testu molekularnego.

Kwestie dotyczące próbek

- L. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu należy przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności^{10,11,12}. Właściwą pracę oraz metody usuwania należy określić na podstawie lokalnych przepisów¹¹. Procedurę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima CMV Quant oraz postępowania z materiałami zakaźnymi.
- M. Podczas transportu próbek należy utrzymywać właściwe warunki przechowywania, aby zapewnić integralność próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- N. Nie dopuszczać do zanieczyszczenia krzyżowego podczas etapów pracy z próbkami. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć zanieczyszczenia poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie odkręcania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Dopilnować, aby pojemniki na próbki nie dotykały się wzajemnie i wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

Kwestie dotyczące testu

- O. W przypadku uzyskania nieprawidłowego wyniku z powodu błędu ML2 próbki czystego osocza nie należy ponownie badać. W celu uzyskania instrukcji na temat rozcieńczenia próbki osocza należy przejść do etapu E.5 w sekcji *Procedura testu w systemie Panther System* ulotki dołączonej do opakowania.
Uwaga: W przypadku błędu ML2 należy zapoznać się z odpowiednią instrukcją obsługi systemu Panther/Panther Fusion System, aby uzyskać informacje dotyczące czyszczenia myjni magnetycznej.
- P. Nie używać zestawu odczynników, kalibratora lub kontroli po upływie ich terminu ważności.
- Q. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach partii głównej. Płyny do testu mogą pochodzić z partii o różnych numerach. Kontrole i kalibrator mogą pochodzić z partii o różnych numerach.
- R. Unikać zanieczyszczenia odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- S. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku zastosowania odczynników analitycznych przechowywanych w niewłaściwych warunkach charakterystyka testu może być zmieniona. Zobacz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* oraz *Procedura testu w systemie Panther System*, aby uzyskać więcej informacji.

- T. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. System Panther System weryfikuje poziom odczynników.
- U. Unikać kontaktu TER ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. W przypadku zetknięcia z tym odczynnikiem przemyć miejsce kontaktu wodą. Jeśli dojdzie do rozlania tego odczynnika, należy rozcieńczyć go wodą i postępować zgodnie z odpowiednimi lokalnie obowiązującymi procedurami.
- V. Niektóre odczynniki w tym zestawie są oznakowane symbolami zagrożenia i bezpieczeństwa.

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń odzwierciedlają klasyfikacje z kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheet, SDS) obowiązujących w UE. Informacje dotyczące sposobu komunikowania zagrożeń w konkretnym regionie opisano w kartach charakterystyki substancji (SDS) właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com. Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem <http://www.hologic.com/package-inserts>

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
—	Odczynnik do amplifikacji Chlorek magnezu 65-70% — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Odczynnik enzymatyczny Triton x-100 1–5% HEPES 1–5% — H402 – Działa toksycznie na organizmy wodne. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego Glicerol 20–25% Triton x-100 5–10% HEPES 1–5% — H402 – Działa toksycznie na organizmy wodne. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Promoter Reagent Chlorek magnezu 55-60% — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

—	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych HEPES 15–20% Sól litowa siarczanu laurylowego 5–10% Kwas bursztynowy 1–5% Wodorotlenek litu, monohydrat 1-5% — H402 – Działa toksycznie na organizmy wodne. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
 	Odczynnik do wzmacniania cząstek szukanych Wodorotlenek litu, monohydrat 5–10% NIEBEZPIECZEŃSTWO H302 – Działa szkodliwie po połknięciu H314 – Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu P264 – Dokładnie umyć twarz, ręce i każdą odsłoniętą skórę po użyciu. P270 – Nie jeść, nie pić ani nie palić podczas używania produktu. P301 + P312 – W PRZYPADKU POŁKNIECIA: W przypadku złego samopoczucia należy skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. P330 – Wypłukać usta. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów. P260 – Nie wdychać pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P280 – Stosować rękawice ochronne / odzież ochronną / ochronę oczu / ochronę twarzy. P301 + P330 + P331 – W PRZYPADKU POŁKNIECIA: Wypłukać jamę ustną. NIE wywoływać wymiotów. P303 + P361 + P353 – W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody [lub prysznicem]. P304 + P340 – W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: Wyprowadzić lub wynieść osobę na świeże powietrze i zapewnić jej warunki do swobodnego oddychania. P305 + P351 + P338 – W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie P310 – Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem. P321 – Zastosować określone leczenie (patrz dodatkowa instrukcja w zakresie pierwszej pomocy na etykiecie). P363 – Wyprać zanieczyszczoną odzież przed ponownym użyciem. P405 – Przechowywać pod zamknięciem.
	Sterowanie zestawu CMV Ludzka surowica / ludzkie osocze 95–100% Azydek sodu < 1% — H412 – Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu usuwania opadów. P273 – Unikać uwolnienia do środowiska.
—	Zestaw kalibratorów Sól litowa siarczanu laurylowego 0–10% Kwas bursztynowy 0–10% — H402 – Działa toksycznie na organizmy wodne P273 – Unikać uwolnienia do środowiska. P501 – Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

- A. W poniższej tabeli przedstawiono warunki przechowywania i stabilność odczynników, kontroli i kalibratora.

Odczynnik	Przechowywanie nieotwartych odczynników	Zestaw po otwarciu (po przygotowaniu odczynników)	
		Przechowywanie	Stabilność
Odczynnik do amplifikacji qCMV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika do amplifikacji qCMV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni ^a
Odczynnik enzymatyczny qCMV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qCMV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni ^a
Odczynnik promotora qCMV	2°C do 8°C		
Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qCMV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni ^a
Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qCMV	2°C do 8°C	2°C do 8°C	30 dni ^a
PCAL (kalibrator dodatni) qCMV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
NC CONTROL — (kontrola ujemna) qCMV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
LPC CONTROL + (kontrola niskododatnia) qCMV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
HPC CONTROL + (kontrola wysokododatnia) qCMV	-15°C do -35°C	15°C do 30°C	Fiolka jednorazowego użytku Zużyć w ciągu 24 godzin
Odczynnik do wzmacniania cząstek szukanych qCMV	15°C do 30°C	15°C do 30°C	30 dni ^a

^a Po wyjęciu odczynników z systemu Panther System należy je niezwłocznie przenieść do miejsca o odpowiedniej temperaturze przechowywania.

- B. Wyrzucić nieużyte pozostałości odczynników po przygotowaniu, odczynnika do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCR) oraz odczynnika do wzmacniania cząstek szukanych (TER) po 30 dniach lub po upływie daty ważności partii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- C. Odczynniki przechowywane w systemie Panther System charakteryzują się stabilnością wynoszącą 96 godz. Odczynniki można ładować do systemu Panther System do 8 razy. Panther System rejestruje każde załadowanie odczynników.
- D. Po rozmrożeniu kalibratora roztwór musi być klarowny, tzn. nie może być mętny ani nie mogą się w nim wytrącać osady. Upewnić się, że osady są rozpuszczone. Nie należy używać kalibratora, w przypadku obecności żelu, osadu lub zmętnienia.

- E. Liofilizowany odczynnik promotora i przygotowany odczynnik promotora są wrażliwe na światło. Te odczynniki należy chronić przed światłem w trakcie przechowywania i przygotowania do stosowania.
- F. Odczynnik do wzmacniania cząstek szukanych qCMV należy przechowywać przed użyciem w temperaturze od 15°C do 30°C.

Pobieranie i przechowywanie próbek

Uwaga: Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.

Uwaga: Należy dopilnować, aby w czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi probówkami.

Uwaga: Do przechowywania próbek zalecane są wyłącznie plastikowe probówki dodatkowe.

Do przygotowania osocza można użyć preparatów krwi pełnej zebranych w poniższych szklanych lub plastikowych probówkach:

- Probówki zawierające antykoagulanty EDTA
- Probówki do przygotowania osocza (PPT)

A. Pobieranie próbek

1. Osocze: Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Oddzielić osocze od skoagulowanych krwinek czerwonych, postępując zgodnie z instrukcjami producenta używanej probówki. Osocze może być badane w systemie Panther System w probówce pierwotnej lub zostać przeniesione do probówki dodatkowej, takiej jak probówka do porcjowania próbek Aptima (SAT). Aby uzyskać objętość próbki 500 µl, minimalna objętość osocza w pierwotnych probówkach do pobierania wynosi do 1200 µl. W przypadku probówek dodatkowych minimalna objętość wynosi 700 µl, aby uzyskać objętość próbki 500 µl. W poniższej tabeli określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki głównej i dodatkowej.

Probówka (rozmiar i typ)	Objętość martwa w systemie Panther System
Probówka do porcjowania próbek Aptima (SAT)	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm z żelem	0,3 ml
16x100 mm z żelem	0,7 ml

Jeśli próbki nie będą testowane natychmiast, osocze można przechować zgodnie z warunkami opisanymi poniżej. Jeśli osocze zostanie przeniesione do dodatkowej probówki, można je zamrozić w temperaturze -20°C lub -70°C. Nie należy przekraczać 3 cykli zamrażania i rozmrażania. Nie zamrażać próbek osocza w probówkach do pobierania pierwotnego z EDTA.

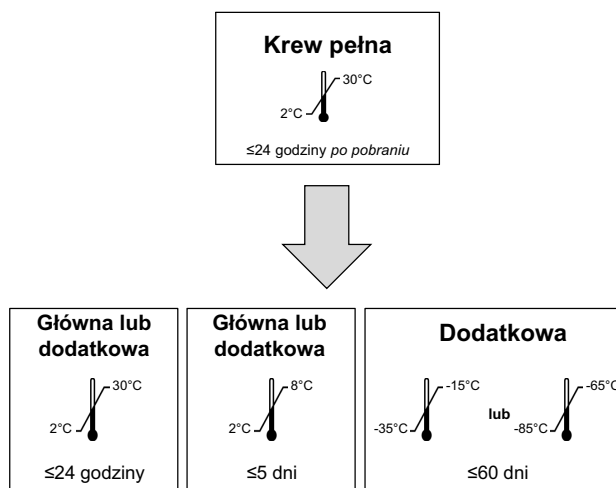
2. Krew pełna przed zbadaniem w systemie Panther System musi zostać przetworzona przy użyciu wstępnie napełnionych probówek z rozcieńczalnikami do krwi pełnej. W przypadku nieprzetworzonych próbek krwi pełnej nie należy przekraczać 3 cykli zamrażania i rozmrażania.

B. Warunki przechowywania próbek

1. Próbkę osocza z EDTA

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Osocze można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

- w pierwotnej probówce do pobierania lub probówce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
- w pierwotnej probówce do pobierania lub probówce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- w probówce dodatkowej w temperaturze -20°C lub -70°C przez okres do 60 dni.

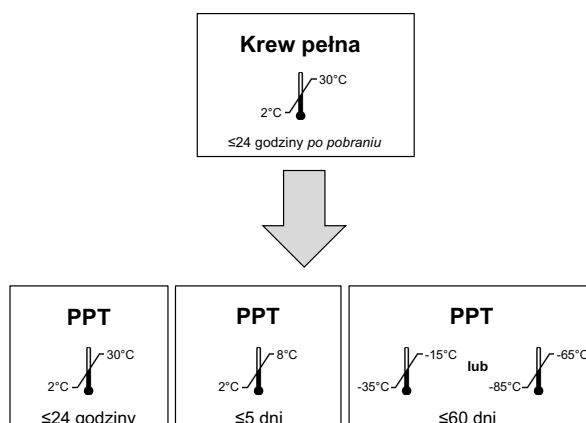


Rysunek 1. Warunki przechowywania próbek z EDTA

2. Próbkę w probówkach PPT

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Osocze można następnie przechowywać w jednym z następujących warunków:

- w probówce PPT w temperaturze od 2°C do 30°C przez okres do 24 godzin,
- w probówce PPT w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- w probówce PPT w temperaturze -20°C lub -70°C przez okres do 60 dni.



Rysunek 2. Warunki przechowywania próbek PPT

3. Rozcieńczanie próbek osocza

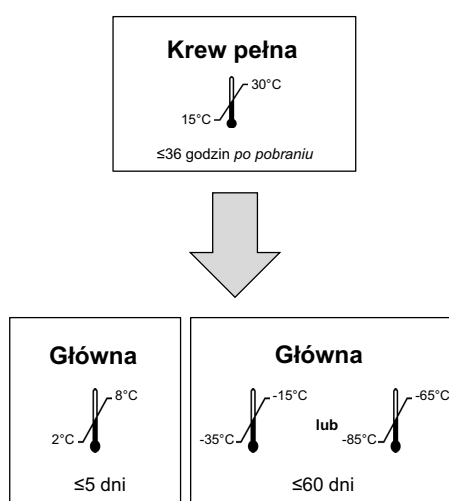
Próbki osocza można rozcieńczać w probówkach SAT lub probówkach dodatkowych w celu wykonania testu w systemie Panther System. W celu uzyskania dodatkowych informacji należy przejść do etapu E.5 w części *Procedura testu w systemie Panther System* poniżej.

Uwaga: Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, powinna być badana natychmiast po rozcieńczeniu. Nie należy zamrażać rozcieńczonej próbki.

4. Próbkę krwi pełnej

Po pobraniu próbkę krwi pełnej można przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C przez okres do 36 godzin. Pobraną krew pełną można przechowywać w następujących warunkach:

- w pierwotnej probówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- w pierwotnej probówce do pobierania w temperaturze -20°C lub -70°C przez okres do 60 dni.



Rysunek 3. Warunki przechowywania próbek krwi pełnej

Próbki w systemie Panther System

Próbki osocza i przetworzonej krwi pełnej można pozostawiać w systemie Panther System bez zamknięcia na okres do 8 godzin. Próbkę można wyjąć z Panther System i poddać badaniu, o ile całkowity czas przebywania w systemie nie przekracza 8 godzin przed pipetowaniem próbki przez Panther System.

Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

Uwaga: *Próbki należy transportować zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami dotyczącymi transportu.*

Panther System

Odczynniki do testu Aptima CMV Quant wykonywanego w systemie Panther System zostały wymienione poniżej. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima CMV Quant, 100 testów (nr kat. PRD-05074)

(1 pudełko z testem, 1 pudełko z odczynnikiem do wzmacniania cząstek szukanych, 1 zestaw kalibratora i 1 zestaw kontroli)

Pudełko z testem Aptima CMV Quant

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

Symbol	Element	Ilość
A	Odczynnik do amplifikacji qCMV <i>Niezakażne kwasy nukleinowe w formie wysuszonej, w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny qCMV <i>Odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w formie wysuszonej, w roztworze buforowanym HEPES.</i>	1 fiolka
PRO	Odczynnik promotora qCMV <i>Niezakażne kwasy nukleinowe w formie wysuszonej, w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika do amplifikacji qCMV <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qCMV <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qCMV <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qCMV <i>Kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze soli z fazą stałą, niezakażne kwasy nukleinowe oraz kalibrator wewnętrzny.</i>	1 x 72,0 ml

	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi partii głównej	1 karta

Pudełko z odczynnikami do wzmacniania cząstek szukanych Aptima CMV Quant
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 15°C do 30°C)

Symbol	Element	Ilość
TER	Odczynnik do wzmacniania cząstek szukanych qCMV <i>Stężony roztwór wodorotlenku litu.</i>	1 × 46,0 ml

Zestaw kalibratora Aptima CMV Quant (nr kat. PRD-05075)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

Symbol	Element	Ilość
PCAL	Kalibrator dodatni qCMV <i>Plazmidowy DNA w roztworze buforowanym.</i>	5 × 2,5 ml
	Etykieta z kodem kreskowym kalibratora	—

Zestaw kontroli Aptima CMV Quant (nr kat. PRD-05076)
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

Symbol	Element	Ilość
NC	Kontrola ujemna qCMV <i>CMV-ujemne defibrynowane osocze ludzkie zawierające gentamycynę i azydek sodu w stężeniu 0,2% jako środki konserwujące.</i>	5 × 0,8 ml
LPC	Kontrola niskododatnia qCMV <i>Defibrynowane osocze ludzkie z inaktywowanym wirusem CMV, zawierające gentamycynę i azydek sodu w stężeniu 0,2% jako środki konserwujące.</i>	5 × 0,8 ml
HPC	Kontrola wysokododatnia qCMV <i>Defibrynowane osocze ludzkie z inaktywowanym wirusem CMV, zawierające gentamycynę i azydek sodu w stężeniu 0,2% jako środki konserwujące.</i>	5 × 0,8 ml
	Etykieta z kodem kreskowym kontroli	—

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Materiały o podanych numerach katalogowych są dostępne w firmie Hologic, o ile nie określono inaczej.

Materiał	Nr kat.
System Panther® System	303095
System Panther Fusion® System	PRD-04172
System Panther System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Zestaw wstępny do aparatu Panther do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)	PRD-03455 (5000 testów)
<i>Zestaw płynów do testu Aptima® (znany także jako zestaw uniwersalnych płynów)</i>	303014 (1000 testów)
<i>zawiera roztwór do płukania Aptima, bufor do płynu dezaktywującego Aptima oraz odczynnik olejowy Aptima</i>	
<i>Zestawy wieloprobówkowe (MTU)</i>	104772-02
<i>Zestaw torby na odpady Panther</i>	902731
<i>Oslona pojemnika na odpady Panther</i>	504405
Albo zestaw wstępny do systemu Panther System	
<i>(podczas przeprowadzania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równolegle z testami TMA w czasie rzeczywistym)</i>	303096 (5000 testów)
<i>zawiera zestawy MTU, torby na odpady, osłony pojemników na odpady, płyny Auto Detect i płyny do testu</i>	
Probówki z rozcieńczalnikiem do krwi pełnej (wyłącznie do przetwarzania próbek krwi pełnej)	PRD-06783 (100 wstępnie napełnionych probówek na opakowanie)
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, przewodzące, z detekcją cieczy, materiał jednorazowego użytku	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem.</i>	
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Zapasowe nakrętki nieprzebijalne	103036A
Wymienne nakrętki stałe firmy Hologic (jednorazowe nakrętki do probówek do przetwarzania krwi pełnej)	PRD-06720
Zakrętki zamienne na odczynniki	
<i>Butelki do przygotowania odczynników do amplifikacji, odczynników enzymatycznych i odczynników promotora</i>	CL0041 (100 zakrętek)
<i>Butelka TCR</i>	CL0040 (100 zakrętek)
<i>Butelka TER</i>	903302 (100 zakrętek)
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Niestrzepiące się ściereczki	—

Material	Nr kat.
Pipetor	—
Końcówki	—
Opcje probówek do pobierania krwi (EDTA i PPT):	—
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
Wirówka	—
Wstrząsarka	—

Materialy opcjonalne

Material	Nr kat.
Probówki dodatkowe w opcjach:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Probówki do porcjowania próbek Aptima (SAT) (opakowanie 100 szt.)</i>	FAB-18184
Zakrętki probówek transportowych (opakowanie 100 szt.)	504415
<i>zakrętki do probówek SAT</i>	
Rozcieńczalnik do próbek Aptima	PRD-03003
Zestaw rozcieńczalnika do próbek Aptima	PRD-03478
<i>zawiera rozcieńczalnik do próbek Aptima, 100 probówek SAT i 100 zakrętek</i>	
Pipety transportowe	—
Wymazówki z bawełnianą końcówką	—
Kołyska do probówek	—

Procedura testu w systemie Panther System

Uwaga: Dodatkowe informacje o procedurze znajdują się w odpowiedniej Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną (DI). Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię stołu czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
3. Wyczyścić wszystkie pipety. Postępować zgodnie z procedurą czyszczenia opisaną powyżej (etap A.1).

B. Przygotowanie kalibratora i kontroli

Przed przystąpieniem do przetwarzania kalibrator i kontrole powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C w sposób opisany poniżej:

1. Wyjąć kalibrator i kontrole z miejsca przechowywania (od -15°C do -35°C) i umieścić je w temperaturze od 15°C do 30°C. Podczas całego procesu rozmrażania delikatnie odwracać każdą probówkę w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość próbówki jest całkowicie rozmrożona.

Opcja. Probówki z kalibratorami i kontrolami można umieścić na kołysce do probówek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość próbówki jest całkowicie rozmrożona.

Uwaga: *Unikać nadmiernego spieniania podczas odwracania kalibratora i kontroli. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez system Panther System.*

2. Po rozmrożeniu zawartości próbówki osuszyć jej zewnętrzną część czystą, suchą ściereczką jednorazowego użytku.
3. Aby zapobiec zanieczyszczeniu, nie należy w tym momencie otwierać probówek.

C. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

Uwaga: *Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem pracy w systemie Panther System.*

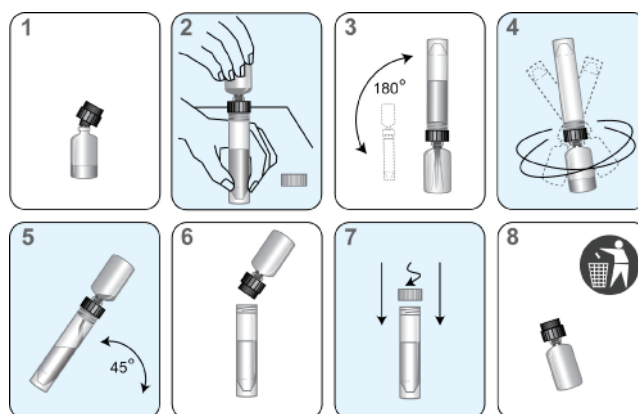
1. Aby przygotować odczynnik do wychwywania cząsteczek szukanych (TCR), należy wykonać poniższe czynności:
 - a. Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Sprawdzić numer partii na butelce z TCR, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównej.
 - b. Natychmiast 10 razy energicznie wstrząsnąć butelką TCR. Pozostawić butelkę TCR w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut. W tym czasie należy odwirować i odwrócić butelkę TCR co najmniej co 10 minut.

Opcja. Butelkę TCR można przygotować na kołysce do probówek, postępując zgodnie z poniższymi instrukcjami: Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C) oraz natychmiast energicznie wstrząsnąć 10 razy. Umieścić butelkę TCR na kołysce do probówek i pozostawić TCR w temperaturze 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut.

- c. Przed użyciem należy upewnić się, że cały osad znajduje się w roztworze, a cząstki magnetyczne są zawieszone.
2. W celu odtworzenia odczynników amplifikacji, enzymatycznych i promotorów należy wykonać następujące czynności:
 - a. Wyjąć liofilizowane odczynniki i odpowiednie roztwory do przygotowania z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Dopasować odpowiedni roztwór do przygotowania do każdego liofilizowanego odczynnika.
 - b. Upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównej, aby mieć pewność, że sparowano odpowiednie odczynniki.
 - i. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem, zdejmując metalową uszczelkę i gumowy korek.
 - ii. Mocno włożyć karbowany koniec kołnierza do przygotowania odczynników (czarnego) na fiolkę (Rysunek 4, etap 1).

- iii. Otworzyć butelkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania odczynników i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- iv. Umieścić butelkę z roztworem do przygotowania na stabilnej powierzchni (np. na stole). Następnie odwrócić fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem nad butelką z roztworem do przygotowania i mocno przymocować kołnierz do butelki z roztworem do przygotowania (Rysunek 4, etap 2).
- v. Powoli odwrócić połączone butelki (fiolka dołączona do butelki z roztworem), aby umożliwić spływanie roztworu do szklanej fiolki (Rysunek 4, etap 3).
- vi. Podnieść połączone butelki i mieszać ich zawartość ruchem wirowym przez co najmniej 10 sekund (Rysunek 4, etap 4).
- vii. Odczekać co najmniej 30 minut, aby liofilizowany odczynnik przeszedł do roztworu.
- viii. Po przejściu liofilizowanego odczynnika do roztworu odwirować połączone butelki przez co najmniej 10 sekund, a następnie lekko wstrząsać roztworem w szklanej fiolce w przód i w tył w celu dokładnego wymieszania.
- c. Ponownie powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników (Rysunek 4, etap 5).
- d. Ostrożnie zdjąć kołnierz do przygotowywania i szklaną fiolkę (Rysunek 4, etap 6).
- e. Nałożyć zakrętkę na butelkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 4, etap 7).
- f. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 4, etap 8).

Ostrzeżenie: Unikać nadmiernego spieniania podczas przygotowywania odczynników. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez system Panther System.



Rysunek 4. Proces przygotowania odczynników

3. Wyjąć odczynnik do wzmacniania cząstek szukanych qCMV z miejsca przechowywania (od 15°C do 30°C). Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę otwarcia. Sprawdzić numer partii na butelce TER, aby upewnić się, że zgadza się z numerem partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównej.

D. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej

1. Wyjąć wcześniej przygotowane odczynniki z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki do amplifikacji, odczynniki enzymatyczne, odczynniki promotora i odczynniki TCR muszą osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C.
2. Wyjąć TER z miejsca przechowywania (15°C do 30°C).
3. W przypadku wcześniej przygotowanego odczynnika TCR przed załadowaniem do systemu należy wykonać etap C.1 opisany powyżej.
4. Odwirować i odwrócić odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i promotora, aby dokładnie wymieszać przed załadowaniem do systemu. Unikać nadmiernego spieniania podczas odwracania odczynników.

Opcja. Wcześniej przygotowane odczynniki można przygotować na kołysce do próbek, postępując zgodnie z następującymi instrukcjami: Wyjąć odczynniki z miejsca przechowywania (od 2°C do 8°C). Umieścić odczynniki na kołysce do próbek i pozostawić w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 30 minut.

5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

E. Obchodzenie się z próbkami osocza

1. Należy upewnić się, że przetworzone próbki w probówkach pierwotnych lub nierozcieńczone próbki w probówkach dodatkowych są odpowiednio przechowywane, zgodnie z *Pobieranie i przechowywanie próbek*.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Rozmrożone próbki należy wytrząsać przez 3 do 5 sekund w celu dokładnego wymieszania.
3. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu zawiera sekcja *Próbki w systemie Panther System*.
4. Należy upewnić się, że każda pierwotna probówka do pobierania próbek zawiera do 1200 µl próbki lub każda probówka dodatkowa zawiera co najmniej 700 µl próbki. W tabeli znajdującej się w sekcji *Pobieranie próbek* określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki pierwotnej i dodatkowej. Jeśli konieczne jest rozcieńczenie próbki osocza, w przypadku małej objętości próbki i/lub konieczności powtórzenia testu, w celu uzyskania dodatkowych informacji należy przejść do etapu E.5 poniżej.
5. Rozcieńczanie próbki osocza

Próbka osocza może zostać rozcieńczona w stosunku 1:3 w probówce SAT lub probówce dodatkowej w celu wykonania testu w systemie Panther System.

a. Rozmrażanie kontroli ujemnej CMV Aptima

- i. Wyjąć jedną probówkę kontroli ujemnej z miejsca przechowywania (od -15°C do -35°C) i umieścić w temperaturze od 15°C do 30°C. Podczas całego procesu rozmrażania delikatnie odwracać probówkę, aby dokładnie wymieszać jej zawartość. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

Opcja: Probówkę z kontrolą można umieścić na kołysce do próbek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

- ii. Po rozmrożeniu zawartości próbki osuszyć jej zewnętrzną powierzchnię czystą, suchą ściereczką jednorazowego użytku.
 - iii. Aby zapobiec zanieczyszczeniu, nie należy w tym momencie otwierać próbek.
- b. Rozcieńczanie próbki osocza

Uwaga: Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, musi zostać zbadana natychmiast po rozcieńczeniu.

- i. Umieścić 240 µl próbki w probówce SAT.
- ii. Dodać 480 µl kontroli ujemnej.
- iii. Zakręcić probówkę.
- iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

Próbki rozcieńczone w stosunku 1:3 mogą być badane przy użyciu opcji 1:3 w systemie Panther System (więcej informacji na ten temat zawiera *Instrukcja obsługi systemu Panther/Panther Fusion*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

6. Tuż przed umieszczeniem próbek w statywie na próbki odwirować każdą próbkę przy 1000–3000 g przez 10 minut. Na tym etapie nie należy zdejmować zakrętek.

Zobacz etap G.2 poniżej, aby uzyskać informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętek.

F. Postępowanie z próbkami krwi pełnej

1. Należy upewnić się, że nieprzetworzone próbki w probówkach pierwotnych są odpowiednio przechowywane, zgodnie z instrukcjami zawartymi w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu zawiera sekcja *Próbki w systemie Panther System*.
3. Delikatnie odwrócić próbki z krwią pełną co najmniej 3 razy lub delikatnie wymieszać na kołysce, aż krew stanie się jednorodna.
4. Przed przetworzeniem próbki należy wykonać następującą procedurę na każdym preparacie.
 - a. Krew w probówkach pierwotnych należy dokładnie wymieszać przez odwrócenie, a próbkę należy natychmiast przenieść do próbki zawierającej rozcieńczalnik do krwi pełnej.
 - b. Dodać 500 µl próbki krwi pełnej do wstępnie napełnionej próbki z rozcieńczalnikiem do krwi pełnej.
 - c. Założyć zakrętkę i wytrząsać próbkę przez co najmniej 5 sekund.

Zobacz etap G.2 poniżej, aby uzyskać informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętek.

G. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System* i sekcji *Uwagi dotyczące procedury*. Upewnić się, że stosowane są statywy na odczynniki i adaptory TCR o odpowiedniej wielkości.

2. Załadowanie próbek do statywów na próbki. Wykonać następujące czynności dla każdej probówki na próbki (próbka oraz, jeśli to konieczne, kalibrator i kontrole):
 - a. Poluzować jedną zakrętkę probówki na próbki, ale jeszcze jej nie zdejmować.

Uwaga: Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć zanieczyszczenia poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu. Delikatnie poluzować zakrętki na probówkach z próbkami.
 - b. Załadować probówki na próbki do statywów na próbki.
 - c. Powtórzyć etapy 2.a i 2.b dla każdej pozostałej próbki.
 - d. Po załadowaniu próbek do statywu na próbki, zdjąć i wyrzucić każdą zakrętkę probówki na próbki z jednego statywu na próbki. Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie przenosić zakrętki nad innymi statywami na próbki lub probówkami na próbki.
 - e. W razie potrzeby użyć nowej, jednorazowej pipety do usuwania pęcherzyków powietrza lub piany. Pęcherzyki powietrza w probówce wpływają negatywnie na wykrywanie poziomu przez Panther System.
 - f. Po zdjęciu ostatniej zakrętki, załadować statyw z próbkami do wnęki na próbki.

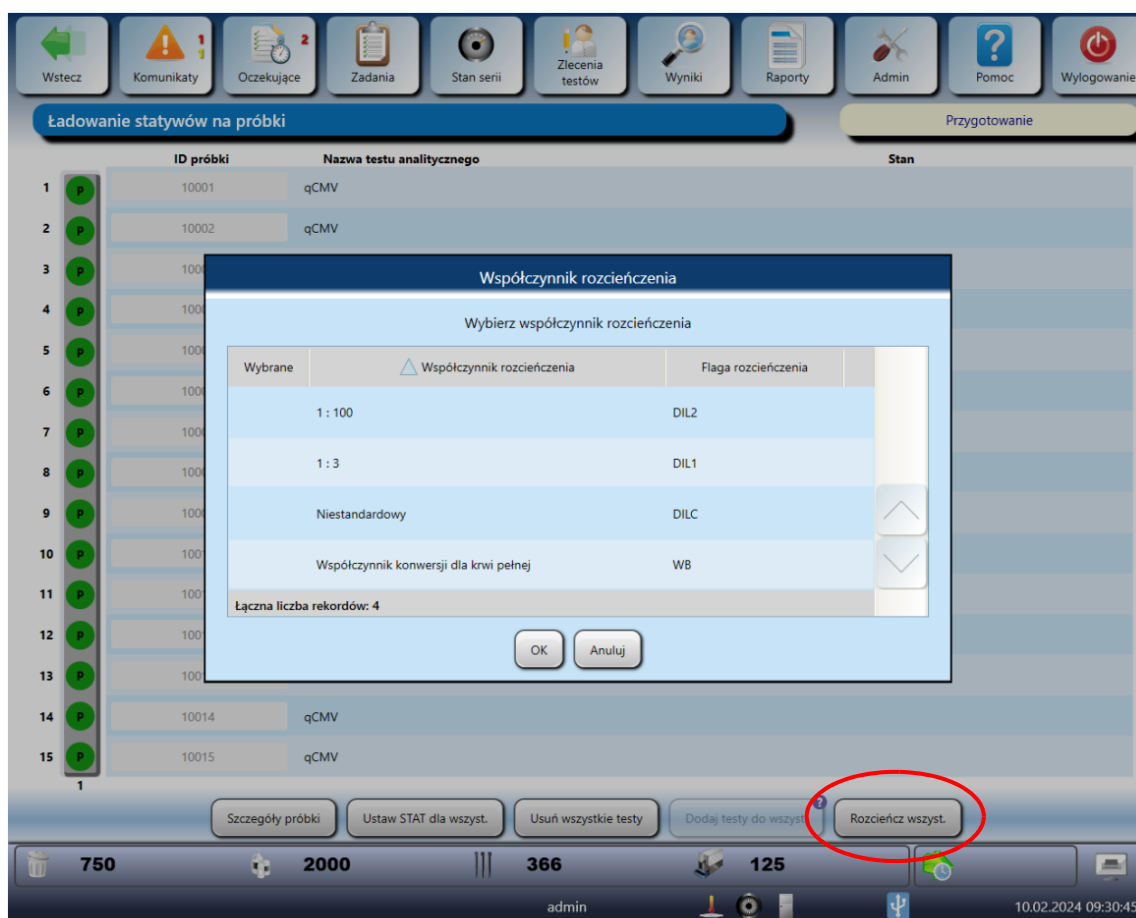
Uwaga: Jeśli jednocześnie przetwarzane są inne testy i typy próbek, należy zabezpieczyć mocowniki próbek przed załadowaniem statywu na próbki do wnęki na próbki.
 - g. Potworzyć etapy 2.a do 2.f dla kolejnego statywu na próbki.
- H. Przygotowanie systemu — zastosowanie współczynnika konwersji dla próbek krwi pełnej.
 1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Instrukcji obsługi systemu Panther/ Panther Fusion System*.
 2. Załadować statyw na próbki.
 3. Zastosować współczynnik konwersji dla krwi pełnej do zleceń testów próbek krwi pełnej.

Uwaga: Współczynnik konwersji dla krwi pełnej można zastosować do całego statywu lub jednego zlecenia testu.

Aby zastosować współczynnik konwersji dla krwi pełnej do całego statywu próbek krwi pełnej:

 - a. Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć żądany załadowany statyw. Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywów na próbki) dla wybranego statywu.
 - b. Wybrać przycisk **Dilute All** (Rozcieńcz wszystkie.).

Pojawi się okno *Dilution Factor* (Współczynnik rozcieńczenia).



Rysunek 5. Okno Dilution Factor (Współczynnik rozcieńczenia) na ekranie Sample Rack Loading (Ładowanie statywów na próbki) (przykład)

- c. Wybrać opcję **Whole Blood Conversion Factor** (Współczynnik konwersji dla krwi pełnej).
- d. Wybrać przycisk **OK**.
Pojawi się okno *Set Dilution Factor for Rack* (Ustaw współczynnik rozcieńczenia dla statywu).
- e. Wybrać przycisk **Yes** (Tak), aby zastosować flagę współczynnika konwersji dla krwi pełnej do całego statywu próbek krwi pełnej.

Aby zastosować współczynnik konwersji dla krwi pełnej do pojedynczego zlecenia testu (patrz ilustracja poniżej):

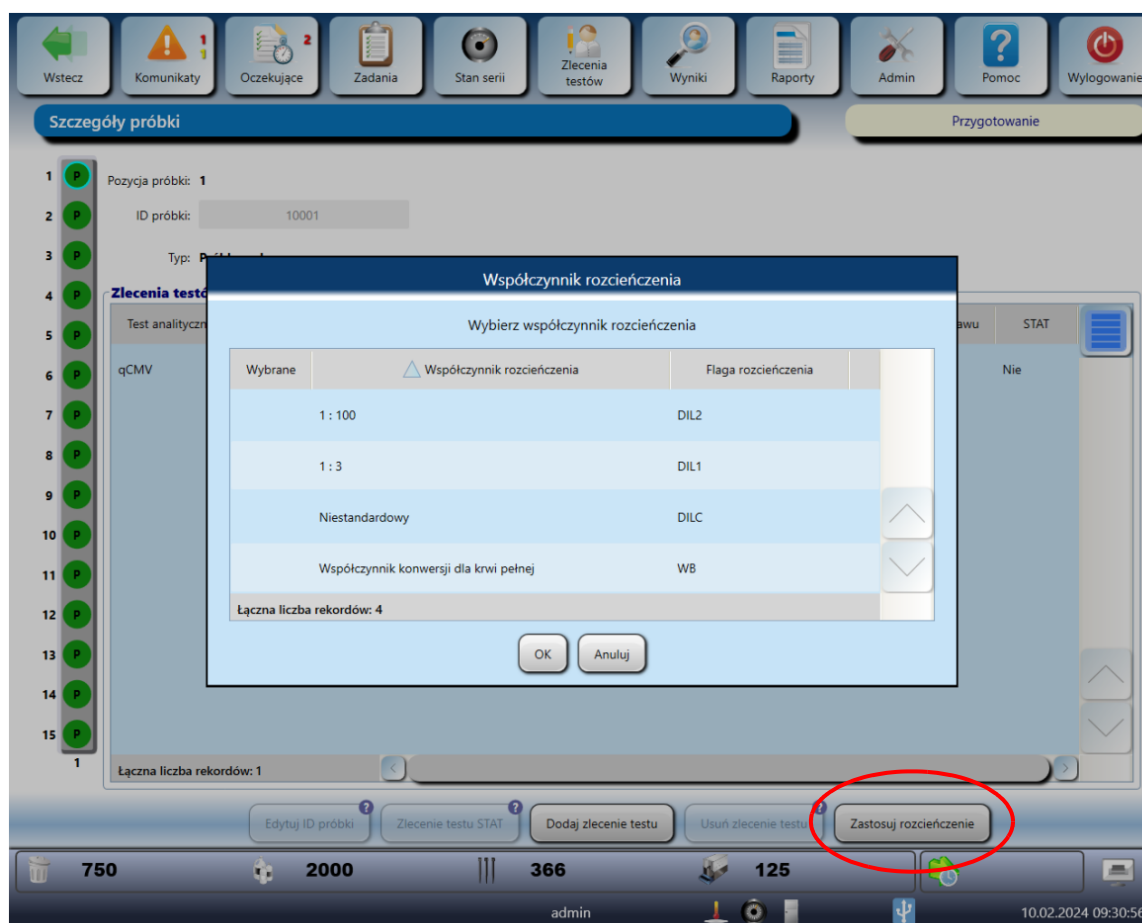
- a. Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć załadowany statyw zawierający odpowiednie próbki.

Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywów na próbki) dla wybranego statywu na próbki.

- b. Na ekranie *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć żadaną próbkę.

Pojawi się ekran *Sample Details* (Szczegóły próbki) z bieżącymi zleceniami testów dla wybranej próbki.

- c. W panelu *Test Orders* (Zlecenia testów) wybrać odpowiednie zlecenie testu.
- d. Wybrać przycisk **Apply Dilution** (Zastosuj rozcieńczenie).



Rysunek 6. Okno Dilution Factor (Współczynnik rozcieńczenia) na ekranie Sample Details (Szczegóły próbki) (przykład)

- e. Wybrać opcję **Whole Blood Conversion Factor** (Współczynnik konwersji dla krwi pełnej).
 - f. Nacisnąć przycisk **OK**, aby zastosować flagę współczynnika konwersji dla krwi pełnej do wszystkich wybranych zleceń testów.
4. W razie potrzeby współczynnik dla krwi pełnej można usunąć ze zleceń testów przed rozpoczęciem przetwarzania.

Aby usunąć współczynnik konwersji dla krwi pełnej z całego statywu:

1. Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć żądany załadowany statyw.
Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywów na próbki) dla wybranego statywu.
2. Wybrać przycisk **Dilute All** (Rozcieńcz wszyst.).
3. W oknie *Dilution Factor* (Współczynnik rozcieńczenia) usunąć wybór opcji **Whole Blood Conversion Factor** (Współczynnik konwersji dla krwi pełnej).

4. Wybrać przycisk **OK**.

Pojawi się okno *Set Dilution Factor for Rack* (Ustaw współczynnik rozcieńczenia dla statywu).

5. Wybrać przycisk **Yes** (Tak), aby usunąć współczynnik konwersji dla krwi pełnej dla całego statywu.

Aby usunąć zlecenia testów dla współczynnika konwersji dla krwi pełnej:

1. Na ekranie *Sample Rack Bay* (Wnęka statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć załadowany statyw zawierający odpowiednie próbki.

Pojawi się ekran *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywów na próbki) dla wybranego statywu na próbki.

2. Na ekranie *Sample Rack Loading* (Ładowanie statywów na próbki) dwukrotnie kliknąć żadaną próbkę.

Pojawi się ekran *Sample Details* (Szczegóły próbki) z bieżącymi zleceniami testów dla wybranej próbki.

3. W panelu *Test Orders* (Zlecenia testów) wybrać odpowiednie zlecenie testu.

4. Wybrać przycisk **Apply Dilution** (Zastosuj rozcieńczenie).

5. W oknie *Dilution Factor* (Współczynnik rozcieńczenia) usunąć wybór opcji **Whole Blood Conversion Factor** (Współczynnik konwersji dla krwi pełnej).

6. Wybrać przycisk **OK**, aby usunąć współczynnik konwersji dla krwi pełnej ze zlecenia testu.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kalibrator i kontrole

1. Probówki z kalibratorem dodatnim qCMV, kontrolą niskododatnią qCMV, kontrolą wysokododatnią qCMV i kontrolą ujemną qCMV można umieścić w dowolnej pozycji w statywie na próbki i w dowolnym torze wnęki na próbki w systemie Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:

- a. Kalibrator i kontrole są w trakcie przetwarzania przez system.
- b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kalibratora i kontroli.

2. Po pipetowaniu kalibratora i kontroli oraz obróbce pod kątem zestawu odczynników analitycznych Aptima CMV Quant próbki można badać przy użyciu powiązanego, przygotowanego zestawu w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**

- a. Wyniki kalibratora lub kontroli są nieważne.
- b. Powiązany zestaw odczynników analitycznych zostaje usunięty z systemu.
- c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.

3. Kalibrator i każda probówka z kontrolą mogą być użyte tylko raz. Próby użycia probówki więcej niż jeden raz mogą prowadzić do błędów przetwarzania.

B. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować zanieczyszczenie otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

Kontrola jakości

Operator może unieważnić wyniki serii lub próbki w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu. W takim przypadku próbki należy ponownie przebadać.

Próbki z nieważnymi wynikami należy ponownie poddać badaniu w celu uzyskania ważnych wyników.

W przypadku uzyskania nieprawidłowego wyniku z powodu błędu ML2 próbki czystego osocza nie należy ponownie badać. W celu uzyskania instrukcji na temat rozcieńczenia próbki należy przejść do etapu E.5 w sekcji *Procedura testu w systemie Panther System* ulotki dołączonej do opakowania.

Uwaga: W przypadku błędu ML2 należy zapoznać się z odpowiednią instrukcją obsługi systemu Panther/Panther Fusion System, aby uzyskać informacje dotyczące czyszczenia myjni magnetycznej.

Kalibracja testu

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pojedynczy kalibrator dodatni jest wykonywany w trzech seriach za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalona kalibracja jest ważna przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagana jest kalibracja. Operator skanuje współczynnik kalibracji znajdujący się w karcie z kodami kreskowymi partii głównej dostarczanej z każdym zestawem odczynników.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kalibratora są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Jeśli ważny jest wynik mniej niż dwóch replikatów kalibratora, oprogramowanie automatycznie unieważnia serię. Próbkę w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

Kontrole ujemne i dodatnie

Aby wygenerować ważne wyniki, należy przetestować zestaw kontroli testu. Należy przetestować jeden replikat kontroli ujemnej, kontroli niskododatniej i kontroli wysokododatniej za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalone kontrole są ważne przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagane są kontrole.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Aby wygenerować ważne wyniki, kontrola ujemna musi dawać wynik „Nie wykryto”, a kontrole dodatnie muszą dawać wyniki mieszczące się we wcześniej zdefiniowanych parametrach. Jeśli którakolwiek z kontroli ma nieważny wynik, oprogramowanie automatycznie unieważnia serię. Próbkę w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna

Każda próbka zawiera wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC). W trakcie przetwarzania kryteria akceptacji IC są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Jeżeli wynik IC jest nieważny, wynik próbki jest unieważniony. Każda próbka z nieważnym wynikiem IC musi zostać ponownie przebadana w celu uzyskania ważnego wyniku.

Oprogramowanie systemu Panther System umożliwia przeprowadzenie dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w tej ulotce dołączonej do opakowania oraz w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System*.

Interpretacja wyników

System Panther System automatycznie określa stężenie DNA wirusa CMV dla próbek i kontroli poprzez porównanie wyników z krzywą kalibracyjną. Stężenia DNA wirusa CMV podawane są w j.m./ml i $\log_{10}$ j.m./ml. Interpretacja wyników przedstawiona jest w Tabeli 1 i Tabela 2. Jeśli w systemie Panther System używana jest opcja rozcieńczania krwi pełnej lub osocza, oprogramowanie automatycznie oblicza stężenie DNA wirusa CMV w czystej próbce, mnożąc rozcieńczone stężenie przez współczynnik rozcieńczenia, a wyniki próbki oznaczane są flagą.

Uwaga: W przypadku rozcieńczonych próbek osocza wyniki oznaczone jako „Nie wykryto” lub „Wykryto <53” mogą być generowane przez rozcieńczenie próbki o stężeniu powyżej, ale blisko, LoD (granicy wykrywalności) lub LLoQ (dolnej granicy oznaczalności). Zaleca się pobranie i przebadanie innej czystej próbki, jeśli nie uzyskano wyniku ilościowego.

Tabela 1: Interpretacja wyników próbek osocza

Zgłaszany wynik testu Aptima CMV Quant		Interpretacja
j.m./ml	Wartość $\log_{10}$	
Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto DNA wirusa CMV.
Wykryto <53	<1,72	Wykryto DNA wirusa CMV, ale na poziomie poniżej dolnej granicy oznaczalności (LLoQ).
53 do 10 000 000	1,72 do 7,00	Stężenie DNA wirusa CMV mieści się w zakresie oznaczalności ilościowej od LLoQ do ULoQ j.m./ml.
>10 000 000	>7,00	Stężenie DNA wirusa CMV jest powyżej górnej granicy oznaczalności (ULoQ).
Nieważny ^a	Nieważny ^a	Wystąpił błąd w czasie generowania wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.

^aNieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

Tabela 2: Interpretacja wyników próbek krwi pełnej

Zgłaszany wynik testu Aptima CMV Quant		Interpretacja
j.m./ml	Wartość $\log_{10}$	
Nie wykryto	Nie wykryto	Nie wykryto DNA wirusa CMV.
Wykryto <176	<2,24	Wykryto DNA wirusa CMV, ale na poziomie poniżej dolnej granicy oznaczalności (LLoQ).
176 do 10 000 000	2,24 do 7,00	Stężenie DNA wirusa CMV mieści się w zakresie oznaczalności ilościowej od LLoQ do ULoQ j.m./ml.
>10 000 000	>7,00	Stężenie DNA wirusa CMV jest powyżej górnej granicy oznaczalności (ULoQ).
Nieważny ^a	Nieważny ^a	Wystąpił błąd w czasie generowania wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.

^aNieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

Uwaga: W przypadku rozcieńczonych próbek osocza system Panther System zgłasza wyniki wyższe niż ULoQ (górna granica oznaczalności) z zastosowaniem notacji naukowej, jeśli wynik rozcieńczonej próbki mieści się w zakresie testu przed użyciem współczynnika rozcieńczenia.

Kryteria akceptacji dla każdej z kontroli testu Aptima CMV Quant przedstawia Tabela 3.

Uwaga: Wymieniony poniżej zakres odzysku zmienia się w zależności od przypisanej wartości każdej konkretnej partii. Należy zapoznać się z przypisanymi stężeniami wymienionymi w ulotce z arkuszem kodów kreskowych kontroli dołączonej do każdego pudełka z kontrolami.

Tabela 3: Kryteria akceptacji zakresu odzysku dla testu Aptima CMV Quant

Element	Zakres odzysku dla ważnych serii
Kontrola ujemna	ND.
Kontrola niskododatnia	+/-0,6 log ₁₀ kopii/ml
Kontrola wysokododatnia	+/-0,5 log ₁₀ kopii/ml

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i obróbki.
- C. Choć rzadko, mutacje w wysoce konserwatywnych regionach genomu wirusowego objętych starterami i/lub sondami w teście Aptima CMV Quant mogą powodować zaniżenie ilości lub niewykrycie wirusa.

Skuteczność analityczna

Granica wykrywalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO

Granica wykrywalności (LoD) testu jest definiowana jako stężenie DNA wirusa CMV, które jest wykrywane z 95-procentowym lub większym prawdopodobieństwem zgodnie z dokumentem EP17-A2 instytutu CLSI¹⁴.

Granica wykrywalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowych wzorców WHO w osoczu

Granice LoD określono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowego wzorca WHO (kod NIBSC: 09/162)²¹ dla wirusa CMV rozcieńczonego w ludzkim osoczu ujemnym względem wirusa CMV. Zbadano 60 replikatów każdego rozcieńczenia przy użyciu każdej z trzech partii odczynników, co dało łącznie 180 replikatów na rozcieńczenie. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD, które przedstawia Tabela 4, to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności. Granica LoD dla testu Aptima CMV Quant przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO wynosi 40,7 j.m./ml dla osocza.

Tabela 4: Granica wykrywalności dla osocza przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV

Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./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

Granica wykrywalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowych wzorców WHO w krwi pełnej

Granice LoD określono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV rozcieńczonego w krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV. Zbadano 60 replikatów każdego rozcieńczenia przy użyciu każdej z trzech partii odczynników, co dało łącznie 180 replikatów na rozcieńczenie. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności. Wartości LoD, które przedstawia Tabela 5, to wyniki z partii odczynnika o najwyższej przewidywanej granicy wykrywalności. Granica LoD dla testu Aptima CMV Quant przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO wynosi 131,0 j.m./ml dla krwi pełnej.

Tabela 5: Granica wykrywalności dla krwi pełnej przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV

Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (j.m./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

Granica wykrywalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV

Granica wykrywalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV w osoczu

Granice LoD zweryfikowano dla trzech różnych genotypów opartych na sekwencji glikoproteiny B⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) i lekoopornych mutantów poprzez zbadanie różnych stężeń wirusa CMV zbliżonych do określonej granicy LoD dla osocza przy użyciu 1. międzynarodowego wzorca WHO (genotyp gB-1). Badanie przeprowadzono w 30 replikatach na każdy element panelu i każdą partię odczynników, wykorzystując dwie partie odczynników Aptima CMV Quant. Najwyższa wartość granicy LoD zweryfikowana dla wszystkich trzech genotypów i lekoopornych mutantów wyniosła 40 j.m./ml przy użyciu obu partii odczynników.

Uwaga: Skuteczność testu Aptima CMV Quant w przypadku lekoopornych mutacji wirusa CMV oceniano wyłącznie w próbkach osocza.

Tabela 6: Granica wykrywalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV w osoczu

Genotypy/mutanty	Stężenie (j.m./ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Lekooporny mutant, UL54 i UL97*	35
Lekooporny mutant, UL56**	35

Tabela 6: Granica wykrywalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV w osoczu (ciąg dalszy)

Genotypy/mutanty	Stężenie (j.m./ml)
*Mutacje genu UL54 mogą prowadzić do krzyżowej oporności na niektóre leki przeciwwirusowe stosowane w leczeniu zakażenia wirusem CMV, takie jak gancyklowir (GCV), cydofowir (CDV) i foscarnet (PFA). Mutacje genu UL97 również prowadzą do oporności na gancyklowir (GCV). **Mutacje genu UL56 prowadzą do oporności na letermowir (LET).	

Ogólna wartość granicy LoD w osoczu wynosi 40,7 j.m./ml.

Granica wykrywalności genotypów wirusa CMV w krwi pełnej

Granice LoD zweryfikowano dla trzech różnych genotypów glikoproteiny B (gB-2, gB-3 i gB-4) poprzez zbadanie różnych stężeń wirusa CMV zbliżonych do określonej granicy LoD dla krwi pełnej przy użyciu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV (genotyp gB-1).

Badanie przeprowadzono w 30 replikatach na każdy element panelu i każdą partię odczynników, wykorzystując dwie partie odczynników Aptima CMV Quant. Najwyższa wartość granicy LoD zweryfikowana dla wszystkich trzech genotypów wyniosła 150 j.m./ml przy użyciu obu partii odczynników.

Tabela 7: Granica wykrywalności genotypów wirusa CMV w krwi pełnej

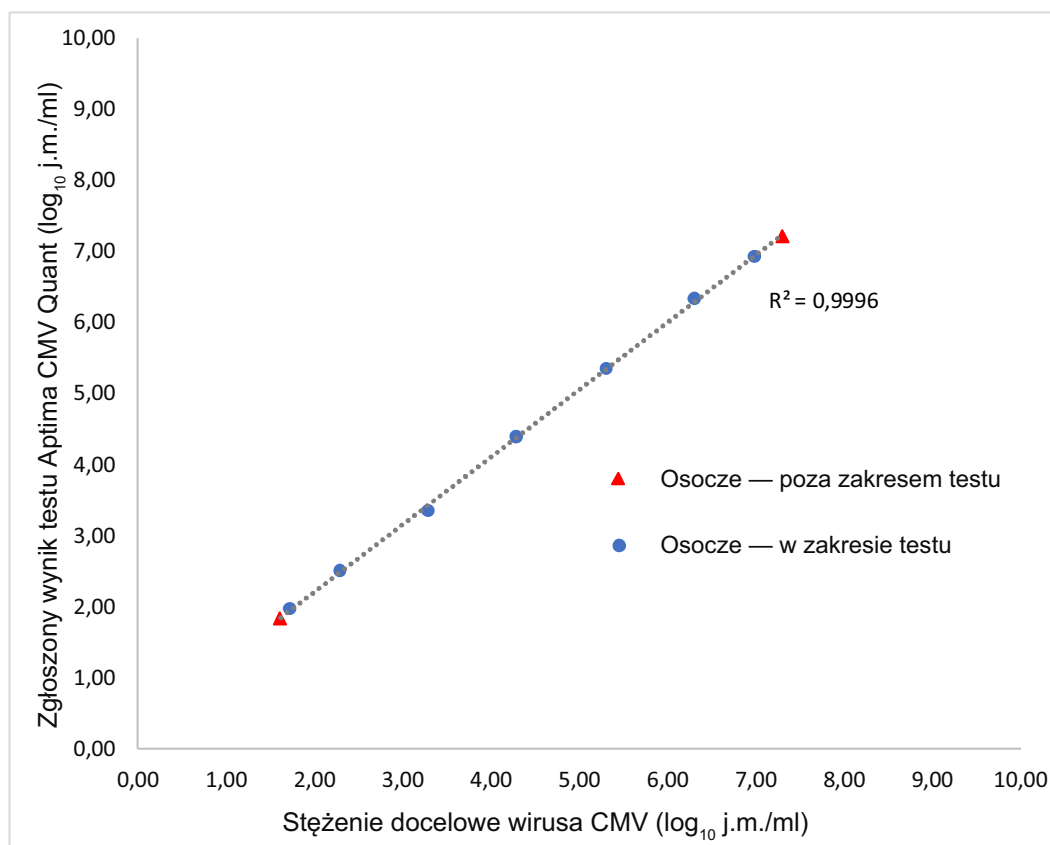
Genotyp	Stężenie (j.m./ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Ogólna wartość granicy LoD w krwi pełnej wynosi 150 j.m./ml.

Zakres liniowy

Zakres liniowy w osoczu

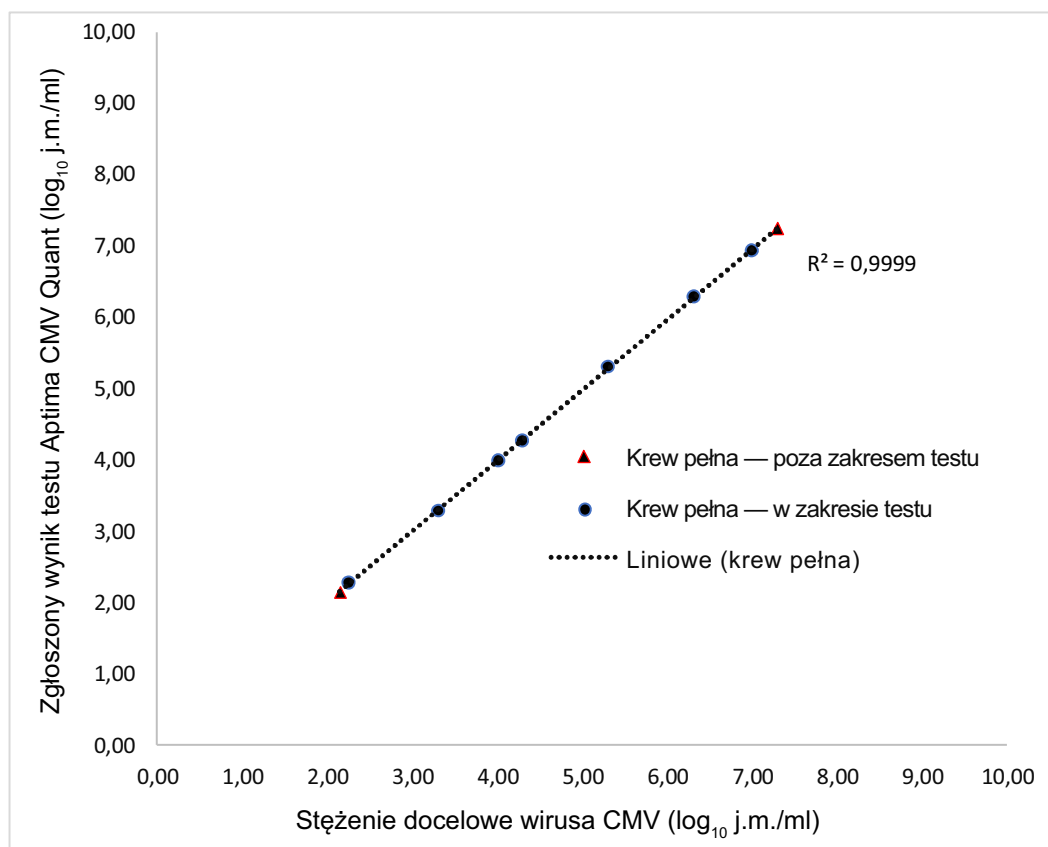
Zakres liniowy został ustalony poprzez badanie paneli wirusa CMV rozcieńczonego w ludzkim osoczu ujemnym względem wirusa CMV zgodnie z dokumentem EP06-A instytutu CLSI¹⁵. Panele miały stężenie od 1,62 log₁₀ j.m./ml do 7,30 log₁₀ j.m./ml. Test Aptima CMV Quant wykazał liniowość w całym badanym zakresie. Górna granica oznaczalności (ULoQ) testu wyniosła 7 log₁₀ j.m./ml, jak pokazuje Rysunek 7.



Rysunek 7. Liniowość w osoczu

Zakres liniowy w krwi pełnej

Zakres liniowy został ustalony poprzez badanie paneli wirusa CMV rozcieńczonego w ludzkiej krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV zgodnie z dokumentem EP06-A instytutu CLSI¹⁵. Panele miały stężenie od 2,15 log₁₀ j.m./ml do 7,3 log₁₀ j.m./ml dla krwi pełnej. Test Aptima CMV Quant wykazał liniowość w całym badanym zakresie. Górna granica oznaczalności (ULoQ) testu wyniosła 7 log₁₀ j.m./ml, jak pokazuje Rysunek 8.

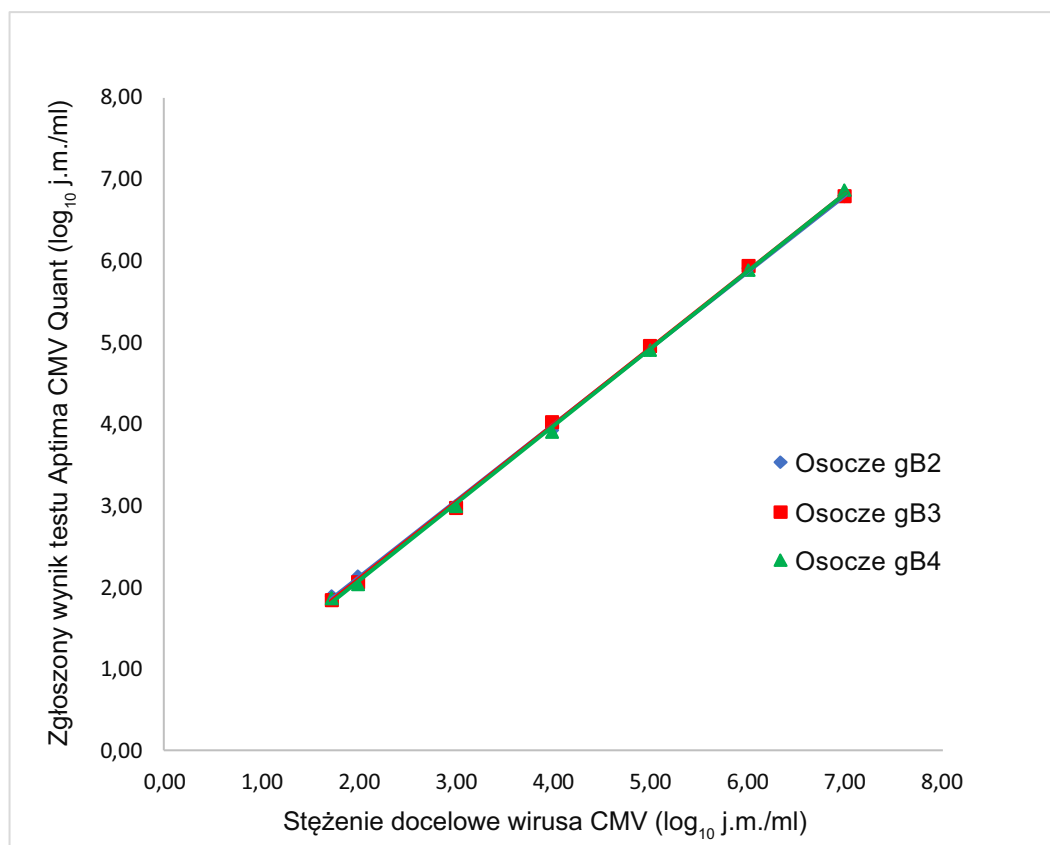


Rysunek 8. Liniowość w krwi pełnej

Liniowość według genotypów wirusa CMV

Liniowość według genotypów wirusa CMV w osoczu

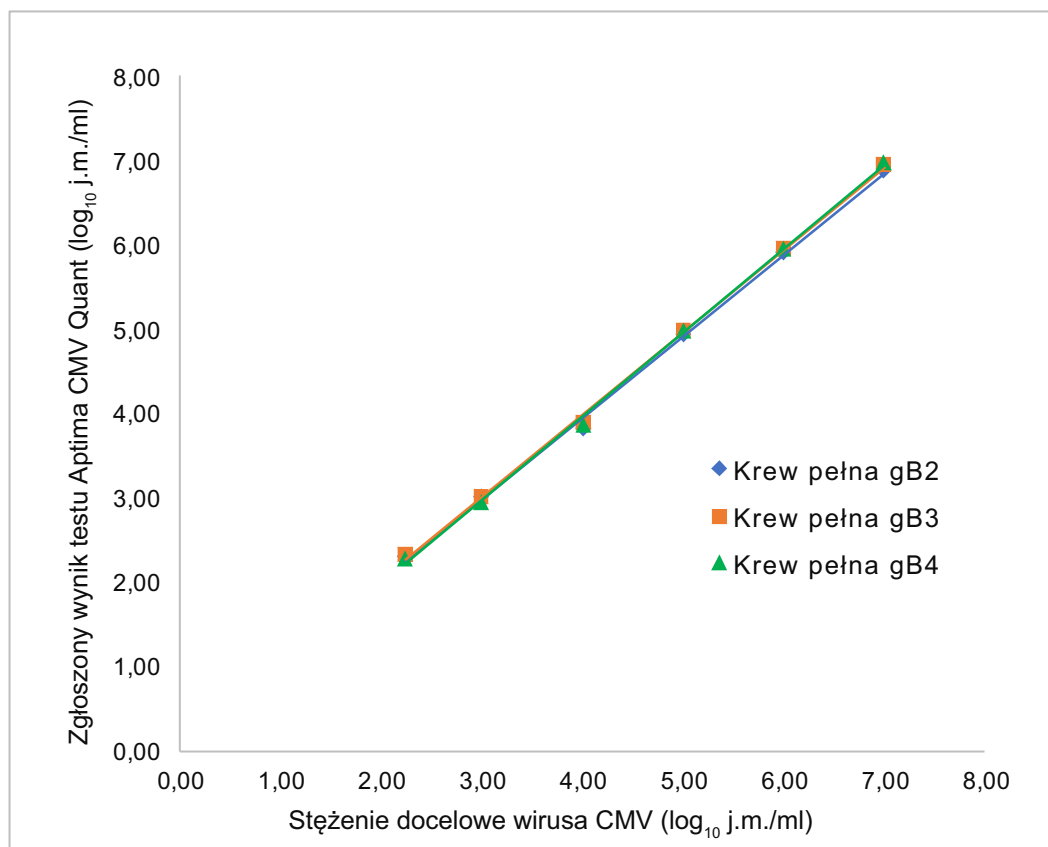
Liniowość dla genotypów glikoproteiny gB-2, gB-3 i gB-4 została zweryfikowana poprzez badanie paneli wirusa CMV rozcieńczonego w ludzkim osoczu ujemnym względem wirusa CMV, których stężenie wynosiło od 1,72 log₁₀ j.m./ml do 7,00 log₁₀ j.m./ml. Liniowość została wykazana w całym zakresie dla wszystkich badanych genotypów, jak pokazuje Rysunek 9.



Rysunek 9. Liniowość według genotypów gB-2, gB-3 i gB-4 wirusa CMV w osoczu

Liniowość według genotypów wirusa CMV w krwi pełnej

Liniowość dla genotypów glikoproteiny gB-2, gB-3 i gB-4 została zweryfikowana poprzez badanie paneli wirusa CMV rozcieńczonego w krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV, których stężenie wynosiło od 2,25 $\log_{10}$ j.m./ml do 7,00 $\log_{10}$ j.m./ml. Liniowość została wykazana w całym zakresie dla wszystkich trzech badanych genotypów, jak pokazuje Rysunek 10.



Rysunek 10. Liniowość według genotypów gB-2, gB-3 i gB-4 wirusa CMV w krwi pełnej

Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO

Dolna granica oznaczalności (LLOQ) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym DNA wirusa CMV jest wiarygodnie oznaczany ilościowo w ramach błędu całkowitego, zgodnie z dokumentem EP17-A2 instytutu CLSI¹⁴. Błąd całkowity został oszacowany przy użyciu modelu Westgarda: błąd całkowity (TE) = |obciążenie| + 2SD. Aby zapewnić dokładność pomiarów, błąd całkowity testu Aptima CMV Quant został ustalony na poziomie $1 \log_{10}$ j.m./ml (tj. przy LLOQ, różnica między dwoma pomiarami większa niż $1 \log_{10}$ j.m./ml jest statystycznie istotna).

Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO w osoczu

Granice LLOQ określono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowego wzorca WHO (kod NIBSC: 09/162, genotyp gB-1)²¹ dla DNA wirusa CMV rozcieńczonego w ludzkim osoczu ujemnym względem wirusa CMV. Zbadano 60 replikatów każdego rozcieńczenia przy użyciu każdej z trzech partii odczynników, co dało łącznie 180 replikatów na rozcieńczenie. Wyniki LLOQ dla trzech partii odczynników przedstawia Tabela 8. Wyniki uzyskane dla partii odczynników, w przypadku których uzyskano najwyższe stężenie spełniające wymagania dotyczące TE oraz detekcję na poziomie $\geq 95\%$, zawiera Tabela 9. Granica LLOQ ustalona na podstawie 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV w osoczu wynosi 53 j.m./ml.

Tabela 8: Oznaczenie granicy LLOQ przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV rozcieńczonego w osoczu

Partia odczynników	N	Liczba (n) wykryć	Stężenie docelowe ($\log_{10}$ j.m./ml)	Test Aptima CMV Quant ($\log_{10}$ j.m./ml)	SD ($\log_{10}$ j.m./ml)	Obciążenie ($\log_{10}$ j.m./ml)	Obliczony TE ($\log_{10}$ j.m./ml)
1	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
2	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
3	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SD = odchylenie standardowe

Elementy panelu, które osiągnęły cel dokładności (TE ≤ 1) oraz $\geq 95\%$ wykrywalności dla partii odczynników 1, 2 i 3, są zacięniowane.

Tabela 9: Podsumowanie dotyczące granicy LLoQ dla osocza przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV

Partia odczynników	(j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO w krwi pełnej

Granice LLoQ określono poprzez badanie paneli 1. międzynarodowego wzorca WHO dla DNA wirusa CMV rozcieńczonego w ludzkiej krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV. Zbadano 60 replikatów każdego rozcieńczenia przy użyciu każdej z trzech partii odczynników, co dało łącznie 180 replikatów na rozcieńczenie. Wyniki dla trzech partii odczynników przedstawia Tabela 10. Wyniki uzyskane dla partii odczynników, w przypadku których uzyskano najwyższe stężenie spełniające wymagania dotyczące TE oraz detekcję na poziomie $\geq 95\%$, zawiera Tabela 11. Granica LLoQ ustalona na podstawie 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV w krwi pełnej wynosi 176 j.m./ml.

Tabela 10: Oznaczenie granicy LLoQ przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV rozcieńczonego w krwi pełnej

Partia odczynników	N	Liczba (n) wykryć	Stężenie docelowe	Test Aptima CMV Quant	SD	Obciążenie	Obliczony TE
			(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./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 = odchylenie standardowe

Elementy panelu, które osiągnęły cel dokładności (TE ≤ 1) oraz $\geq 95\%$ wykrywalności dla partii odczynników 1, 2 i 3, są zacięniowane.

Tabela 11: Podsumowanie dotyczące granicy LLoQ dla krwi pełnej przy zastosowaniu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV

Partia odczynników	(j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Określenie dolnej granicy oznaczalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa CMV

Określenie dolnej granicy oznaczalności genotypów i lekoopornych mutantów wirusa w osoczu

Granice LLoQ określoną przy użyciu 1. międzynarodowego wzorca WHO zweryfikowano poprzez badanie genotypów gB-2, gB-3, gB-4 oraz lekoopornych mutantów wirusa CMV rozcieńczonych w ludzkim osoczu ujemnym względem wirusa CMV. 60 replikatów każdego z elementów panelu przebadano przy użyciu jednej partii odczynników. Wyniki przedstawia Tabela 12. Granice LLoQ obliczane dla genotypów gB-2, gB-3, gB-4 i lekoopornych mutantów przy użyciu partii odczynników, w przypadku których uzyskano najwyższe stężenie spełniające wymagania dotyczące TE oraz detekcję na poziomie $\geq 95\%$, zawiera Tabela 13. Ogólna wartość granicy LLoQ dla osocza w tym badaniu wynosi 53 j.m./ml.

Uwaga: Skuteczność testu Aptima CMV Quant w przypadku lekoopornych mutacji wirusa CMV oceniano wyłącznie w próbkach osocza.

Tabela 12: Określenie granicy LLoQ genotypów i lekoopornych mutantów wirusa w osoczu

Genotypy/ mutanty	N	Odsetek wykrytych	Stężenie docelowe (log ₁₀ j.m./ml)	Test Aptima CMV Quant (log ₁₀ j.m./ml)	SD (log ₁₀ j.m./ml)	[Obciążenie] (log ₁₀ j.m./ml)	Obliczony TE (log ₁₀ j.m./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

Tabela 12: Określenie granicy LLoQ genotypów i lekoopornych mutantów wirusa w osoczu (ciąg dalszy)

Genotypy/ mutanty	N	Odsetek wykrytych	Stężenie docelowe (log ₁₀ j.m./ml)	Test Aptima CMV Quant (log ₁₀ j.m./ml)	SD (log ₁₀ j.m./ml)	Obciążenie (log ₁₀ j.m./ml)	Obliczony TE (log ₁₀ j.m./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
Lekooporny mutant (UL54 i 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
Lekooporny mutant (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 = odchylenie standardowe

Elementy panelu, które osiągnęły cel dokładności (TE ≤1) oraz ≥95% wykrywalności dla partii odczynników 1, 2 i 3, są zacieniowane.

Tabela 13: Podsumowanie dotyczące granicy LLoQ genotypów i lekoopornych mutantów wirusa w osoczu

Genotypy/mutanty	LLoQ	
	(j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Lekooporny mutant UL54 i UL97*	38	1,57
Lekooporny mutant UL56**	35	1,54

*Mutacje genu UL54 mogą prowadzić do krzyżowej oporności na niektóre leki przeciwwirusowe stosowane w leczeniu zakażenia wirusem CMV, takie jak gancyklowir (GCV), cydofowir (CDV) i foskarnet (PFA). Mutacje genu UL97 również prowadzą do oporności na gancyklowir (GCV).

**Mutacje genu UL56 prowadzą do oporności na letermowir (LET).

Dolna granica oznaczalności różnych genotypów w krwi pełnej

Granice LLoQ określoną przy użyciu 1. międzynarodowego wzorca WHO zweryfikowano poprzez badanie genotypów gB-2, gB-3 i gB-4 wirusa CMV rozcieńczonych w ludzkiej krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV. 60 replikatów każdego z elementów panelu przebadano przy użyciu jednej partii odczynników. Wyniki przedstawia Tabela 14. Granice LLoQ dla genotypów gB-2, gB-3 i gB-4 dla partii odczynników, w przypadku których uzyskano najwyższe stężenie spełniające wymagania dotyczące TE oraz detekcję na poziomie $\geq 95\%$, zawiera Tabela 15. Ogólna wartość granicy LLoQ dla krwi pełnej w tym badaniu wynosi 176 j.m./ml.

Tabela 14: Określenie LLoQ w krwi pełnej w zależności od genotypu

Genotyp	N	Liczba (n) wykryć	Stężenie docelowe	Test Aptima CMV Quant	SD	Obciążenie	Obliczony TE
			(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./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 = odchylenie standardowe

Tabela 15: Podsumowanie LLoQ w krwi pełnej w zależności od genotypu

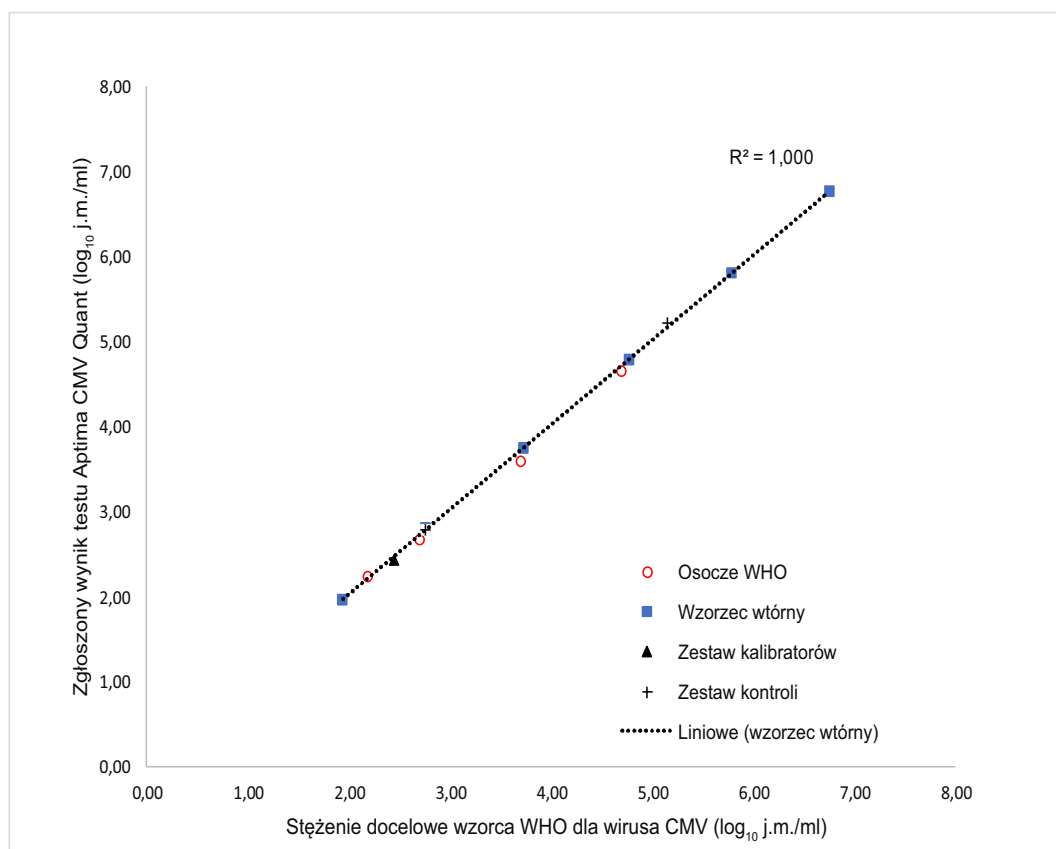
Genotyp	LLoQ	
	(j.m./ml)	(log ₁₀ j.m./ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Identyfikowalność względem 1. międzynarodowego wzorca WHO

W trakcie opracowywania i wytwarzania produktu stosowano serię wzorców wtórnych o znanych stężeniach, aby zapewnić identyfikowalność względem 1. międzynarodowego wzorca WHO. 1. międzynarodowy wzorzec WHO dla wirusa CMV rozcieńczono i przetestowano razem z wzorcami wtórnymi oraz kontrolami i kalibratorami używanymi do testu Aptima CMV Quant w celu oceny identyfikowalności zgodnie z wytycznymi zawartymi w dokumencie EP32-R instytutu CLSI¹⁶. Stężenia wzorców wtórnych wynosiły od 1,80 do 6,60 log₁₀ j.m./ml.

Identyfikowalność względem 1. międzynarodowego wzorca WHO przy użyciu osocza

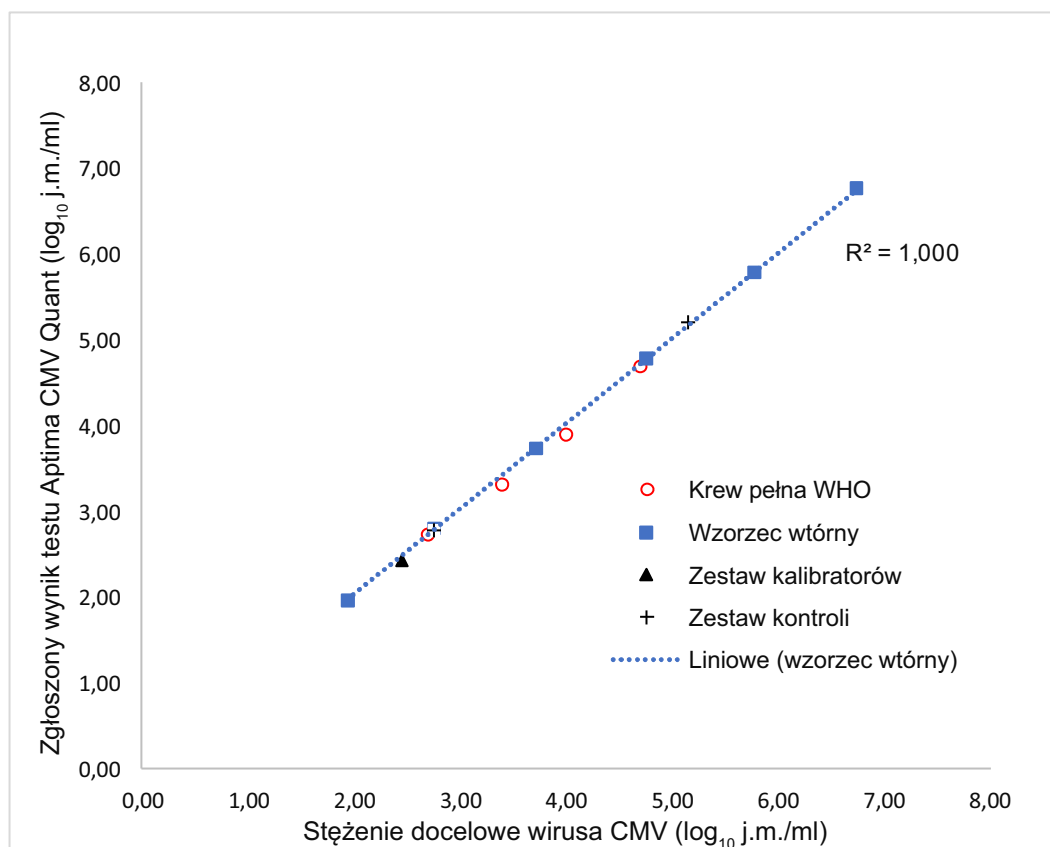
Stężenia zbadane dla 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV mieściły się w zakresie od 2,18 do 4,70 log₁₀ j.m./ml. Wyniki dla paneli osocza WHO, wtórnych próbek wzorcowych, kontroli testu i kalibratorów testu odzyskano zgodnie z oczekiwaniami w całym zakresie liniowym testu, jak widać na Rysunek 11.



Rysunek 11. Identyfikowalność pomiędzy docelowymi stężeniami 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV a zgłaszanymi stężeniami uzyskanymi przy użyciu testu Aptima CMV Quant (wzorzec WHO rozcieńczony w osoczu)

Identyfikowalność względem 1. międzynarodowego wzorca WHO przy użyciu krwi pełnej

Stężenia zbadane dla 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV w krwi pełnej mieściły się w zakresie od 2,70 do 4,70 $\log_{10}$ j.m./ml. Panele krwi pełnej z wzorcami WHO, wzorce wtórne, kontrole testu i kalibratory testu uzyskały oczekiwane wyniki w całym zakresie liniowym testu, co przedstawia Rysunek 12.



Rysunek 12. Identyfikowalność pomiędzy docelowymi stężeniami 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV a zgłaszanymi stężeniami uzyskanymi przy użyciu testu Aptima CMV Quant (wzorzec WHO rozcieńczony w krwi pełnej)

Precyzja

Osocze

Aby ocenić precyzję, utworzono 6-elementowy panel poprzez rozcieńczenie próbek klinicznych dodatnich względem wirusa CMV lub próbek z hodowli wirusa CMV w osoczu ujemnym względem wirusa CMV. Panel był testowany przez trzech operatorów przy użyciu trzech partii odczynników na trzech systemach Panther System w ciągu 20 lub więcej dni testowych. Każdy operator wykonywał dwie serie testów dziennie, a każdy element panelu był testowany dwukrotnie w każdej z serii. Badanie opracowano i poddano analizie zgodnie z zaleceniami zawartymi w dokumencie EP-05-A3 instytutu CLSI¹⁷.

Tabela 16 przedstawia precyzję wyników testów (w $\log_{10}$ j.m./ml) pomiędzy urządzeniami, operatorami, partiami odczynników, seriami, dniami oraz w ramach serii i ogółem. Całkowita zmienność wynikała głównie ze zmienności w ramach serii (tj. błędu losowego).

Tabela 16: Precyzja testu Aptima CMV Quant w osoczu

N	Średnie stężenie	Między partiami	Między urządzeniami	Między operatorami	Między dniami	Między seriami	W ramach serii	Ogółem
	($\log_{10}$ j.m./ml)	SD	SD	SD	SD	SD	SD	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 = odchylenie standardowe

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce, jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD przedstawiono jako 0.

Krew pełna

Aby ocenić precyzję, utworzono 6-elementowy panel poprzez rozcieńczenie próbek klinicznych dodatnich względem wirusa CMV lub dodanie próbek z hodowli wirusa CMV do krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV. Panel był testowany przez trzech operatorów przy użyciu trzech partii odczynników na trzech systemach Panther System w ciągu 20 lub więcej dni testowych. Każdy operator wykonywał dwie serie testów dziennie, a każdy element panelu był testowany dwukrotnie w każdej z serii.

Tabela 17 przedstawia precyzję wyników testów (w $\log_{10}$ j.m./ml) pomiędzy urządzeniami, operatorami, partiami, seriami, dniami oraz w ramach serii i ogółem. Całkowita zmienność wynikała głównie ze zmienności w ramach serii (tj. błędu losowego).

Tabela 17: Precyzja testu Aptima CMV Quant w krwi pełnej

N	Średnie stężenie	Między partiami	Między urządzeniami	Między operatorami	Między dniami	Między seriami	W ramach serii	Ogółem
	(log ₁₀ j.m./ml)	SD	SD	SD	SD	SD	SD	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 = odchylenie standardowe

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce, jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD przedstawiono jako 0.

Potencjalne substancje zakłócające

Oceniono podatność testu Aptima CMV Quant na zakłócenia spowodowane podwyższonymi poziomami substancji endogennych, antykoagulantów i leków powszechnie przepisywanych pacjentom po przeszczepach. Badane stężenia każdej substancji zakłócającej zostały wybrane na podstawie dostępnej literatury i wytycznych zawartych w dokumentach EP07¹⁸ i EP37¹⁹ instytutu CLSI. Badano ujemne względem wirusa CMV próbki osocza oraz próbki, do których dodano wirusa CMV w celu uzyskania stężeń wynoszących 2,22 log₁₀ j.m./ml i 3,30 log₁₀ j.m./ml. Ujemne względem wirusa CMV próbki krwi pełnej oraz próbki, do których dodano wirusa CMV w celu uzyskania stężeń wynoszących 2,72 i 4,00 log₁₀ j.m./ml DNA wirusa CMV badano w obecności hemoglobiny.

W przypadku próbek osocza nie zaobserwowano zakłóceń w wynikach testu w obecności albuminy (60 mg/ml), hemoglobiny (10 mg/ml), trójglicerydów (15 mg/ml), niezwiązanej bilirubiny (0,4 mg/ml) oraz ludzkiego genomowego DNA (2 µg/ml). W przypadku próbek krwi pełnej nie zaobserwowano zakłóceń w wynikach testu w obecności 100 mg/ml hemoglobiny dodanej do tych próbek.

Kliniczne próbki osocza pobrane od pacjentów z podwyższonym poziomem zdefiniowanych substancji lub od pacjentów z chorobami, które przedstawia Tabela 18, zostały przebadane przy użyciu testu Aptima CMV Quant. Nie zaobserwowano żadnych interferencji w przeprowadzaniu testu.

Tabela 18: Badane typy próbek klinicznych

	Typy próbek klinicznych	Liczba badanych próbek klinicznych
1	Przeciwciała przeciwiądrowe (ANA)	10
2	Toczeń rumieniowaty układowy (SLE)	10
3	Artretyzm reumatyczny (RA)	10

Nie zaobserwowano zakłóceń wyników testu w obecności substancji egzogennych, które zawiera Tabela 19, w stężeniach co najmniej trzykrotnie większych niż stężenie $C_{\max}$ leków w ludzkim osoczu.

Tabela 19: Substancje egzogenne

Pula substancji egzogennych	Badane substancje egzogenne
1	Cefotetan, klawulanian potasu, tikarcylina (sól dwusodowa), wankomycyna
2	Piperacylina
3	Sulfametoksazol
4	Tazobaktam sodowy, trimetoprim, flukonazol
5	Gancyklowir, walgancyklowir, cydofowir, foskarnet, walacyklowir, acyklowir, letermowir
6	Azatiopryna, cyklosporyna, mykofenolan mofetylu, kwas mykofenolowy
7	Sirolimus, takrolimus, prednizon, ewerolimus
8	Cytrynian sodu, EDTA, heparyna

Swoistość

Swoistość określono poprzez zbadanie 780 zamrożonych próbek klinicznych ujemnych względem wirusa CMV. Swoistość została obliczona jako odsetek próbek ujemnych względem wirusa CMV z wynikami „Nie wykryto” w stosunku do łącznej liczby próbek zbadanych w przypadku danego typu próbki.

DNA wirusa CMV nie został wykryty w 389 próbkach osocza i 390 próbkach krwi pełnej. Swoistość wyniosła 99,7% (389/390, 95-procentowy CI: 98,6–100%) dla osocza i 100% (390/390, 95-procentowy CI: 99,3–100%). Łączna swoistość testu Aptima CMV Quant dla osocza i krwi pełnej wyniosła 99,9% (779/780, 95-procentowy CI: 99,3–100%).

Tabela 20: Swoistość w próbkach osocza i krwi pełnej

	Osocze	Krew pełna	Osocze i krew pełna
Ważne replikaty (n)	390	390	780
Nie wykryto	389	390	779
Swoistość	99,7%	100%	99,9%
(95% CI)	(98,6–100)	(99,3–100)	(99,3–100)

CI = Przedział ufności

Swoistość analityczna

Potencjalna reaktywność krzyżowa z patogenami, które zawiera Tabela 21, została oceniona w ludzkim osoczu ujemnym względem wirusa CMV w obecności $2,2 \log_{10}$ j.m./ml i $3,3 \log_{10}$ j.m./ml wirusa CMV oraz przy jego braku. Trzy pasożyty krwi występujące w próbkach krwi pełnej zostały również ocenione w krwi pełnej ujemnej względem wirusa CMV w obecności $2,7 \log_{10}$ j.m./ml i $4,0 \log_{10}$ j.m./ml wirusa CMV oraz przy jego braku. Patogeny badano w najwyższym dostępnym stężeniu. Nie zaobserwowano żadnych reakcji krzyżowych ani zakłóceń.

Tabela 21: Patogeny badane podczas oceny swoistości analitycznej

Mikroorganizm/patogen	Stężenie	Mikroorganizm/patogen	Stężenie
Adenowirus typu 4	1886 TCID50/ml ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1 000 000 CFU/ml
Poliomawirus BK	1 000 000 kopii/ml ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 000 000 CFU/ml
Wirus Epsteina-Barr	1 000 000 kopii/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 000 000 CFU/ml
Wirus zapalenia wątroby typu B	1 000 000 j.m./ml ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 CFU/ml
Wirus zapalenia wątroby typu C	1 000 000 kopii/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 CFU/ml
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	1 428 571 TCID50/ml	<i>Salmonella enterica</i> serowar Typhimurium	1 000 000 CFU/ml
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	147 143 TCID50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CFU/ml
Wirus HIV-1 podtyp B	1 000 000 kopii/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 CFU/ml
Ludzki herpeswirus typu 6A	1 000 000 kopii/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 000 000 CFU/ml
Ludzki herpeswirus typu 7	1 428 571 TCID50/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000 CFU/ml
Ludzki herpeswirus typu 8	1 000 000 kopii/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 000 000 CFU/ml
Ludzki metapneumowirus	192 857 TCID50/ml	<i>Aspergillus niger</i>	485 000 CFU/ml
Ludzki wirus brodawczaka typu 18	1 000 000 kopii/ml	<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CFU/ml
Ludzki wirus paragrypy	944 TCID50/ml	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 000 000 CFU/ml
Wirus grypy	3857 TCID50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000 komórek/
Rinowirus	7257 TCID50/ml	<i>Leishmania major</i> *	1 000 000 komórek/
Wirus ospy wietrznej i półpaśca	1 000 000 kopii/ml	<i>Babesia microti</i> *	1 000 000 komórek/
Wirus Zika	29 286 TCID50/ml	<i>Plasmodium falciparum</i> *	1 000 000 komórek/
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000 CFU/ml ^d		
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000 CFU/ml		
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000 CFU/ml		
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000 CFU/ml		
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000 CFU/ml		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000 CFU/ml		
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000 CFU/ml		

^aTCID50/ml = jednostki dawki zakaźnej dla hodowli tkankowej na ml

^bkopie/ml = liczba kopii wirusa na ml

^cj.m./ml = jednostki międzynarodowe na ml

^dCFU/ml = jednostki tworzące kolonie na ml

*badanie przy użyciu próbki krwi pełnej

Rozcieńczanie próbki osocza przy użyciu kontroli ujemnej CMV Aptima (1:3)

W celu oceny dokładności ilościowego oznaczania DNA wirusa CMV w próbkach osocza rozcieńczonych ujemną kontrolą CMV Aptima próbki o stężeniach odpowiadających zakresowi liniowemu rozcieńczono w stosunku 1:3 ujemną kontrolą CMV Aptima (240 µl próbki połączono z 480 µl ujemnej kontroli CMV Aptima). Próbki czyste i rozcieńczone badano trzykrotnie. Testy przeprowadzono przy użyciu jednej partii odczynników i dwóch partii kontroli ujemnych CMV Aptima na jednym systemie Panther System. Różnicę między wynikami testów dla czystej i rozcieńczonej próbki obliczono dla każdego zestawu próbek, jak pokazuje Tabela 22. Stężenia próbek zostały dokładnie odtworzone w rozcieńczonych próbkach po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia.

Tabela 22: Powtarzalność próbek klinicznych osocza rozcieńczonych w kontroli ujemnej

Czysta próbka osocza Średnie zgłaszane stężenie (log₁₀ j.m./ml) n=3	Rozcieńczona próbka osocza Średnie zgłaszane stężenie (log₁₀ j.m./ml) n=6	Różnica (log₁₀ j.m./ml)
2,30	2,42 ^a	0,12
2,50	2,60	0,11
3,03	3,02	-0,01
3,46	3,45	-0,01
3,29	3,29	0,00
4,64	4,43	-0,21
5,32	5,31	-0,01
6,43	6,44	0,01
6,91 ^b	6,95	0,05
>ULoQ ^c	7,41 ^d	ND.

^aWynik z dwóch replikatów. Cztery wyniki „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo.

^bWynik z dwóch replikatów. Jeden wynik „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo z powodu wartości >ULoQ.

^cTrzy wyniki „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo z powodu wartości >ULoQ.

^dWynik z czterech replikatów. Dwa wyniki „Wykryto”, ale nie oznaczono ilościowo z powodu wartości >ULoQ.

Potwierdzenie granic LoD i LLoQ przy użyciu 1. międzynarodowych wzorców WHO dla wirusa CMV rozcieńczonych w kontroli ujemnej CMV Aptima

Granice LoD i LLoQ testu Aptima CMV Quant zostały potwierdzone przy użyciu 1. międzynarodowego wzorca WHO dla wirusa CMV (kod NIBSC: 09/162) w osoczu rozcieńczonym przy użyciu w kontroli ujemnej CMV Aptima w stosunku 1:3. Próbkę przygotowano przy użyciu ludzkiego osocza ujemnego względem wirusa CMV oraz wirusa CMV w stężeniach 90, 105, 120, 135, 150 i 165 j.m./ml. Każdy panel został rozcieńczony w stosunku 1:3 w kontroli ujemnej CMV Aptima tuż przed badaniem, aby uzyskać końcowe stężenia wynoszące około 30, 35, 40, 45, 50 i 55 j.m./ml. W ciągu trzech dni przebadano łącznie 60 replikatów każdego elementu panelu przy użyciu jednej partii odczynników. Błąd całkowity został oszacowany przy użyciu modelu Westgarda: błąd całkowity (TE) = |obciążenie| + 2SD. W przypadku wszystkich próbek o stężeniu ≥ 45 j.m./ml detekcja utrzymywała się na poziomie $\geq 95\%$, a błąd całkowity (TE) wynosił $\leq 1 \log_{10}$ j.m./ml, co przedstawia Tabela 23. Takie wyniki potwierdzają granicę LLoQ wirusa CMV w przypadku próbek rozcieńczonych przy użyciu kontroli ujemnej.

Tabela 23: Granice LoD i LLoQ próbek osocza rozcieńczonych w stosunku 1:3 przy użyciu kontroli ujemnej

N	Odsetek wykrytych	Stężenie docelowe po rozcieńczeniu w stosunku 1:3	Stężenie docelowe po rozcieńczeniu w stosunku 1:3	Aptima CMV Quant dla rozcieńczonej próbki	SD	Obciążenie	Obliczony TE
		(j.m./ml)	($\log_{10}$ j.m./ml)	($\log_{10}$ j.m./ml)	($\log_{10}$ j.m./ml)	($\log_{10}$ j.m./ml)	($\log_{10}$ j.m./ml)
60	98,3%	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

Przenoszenie

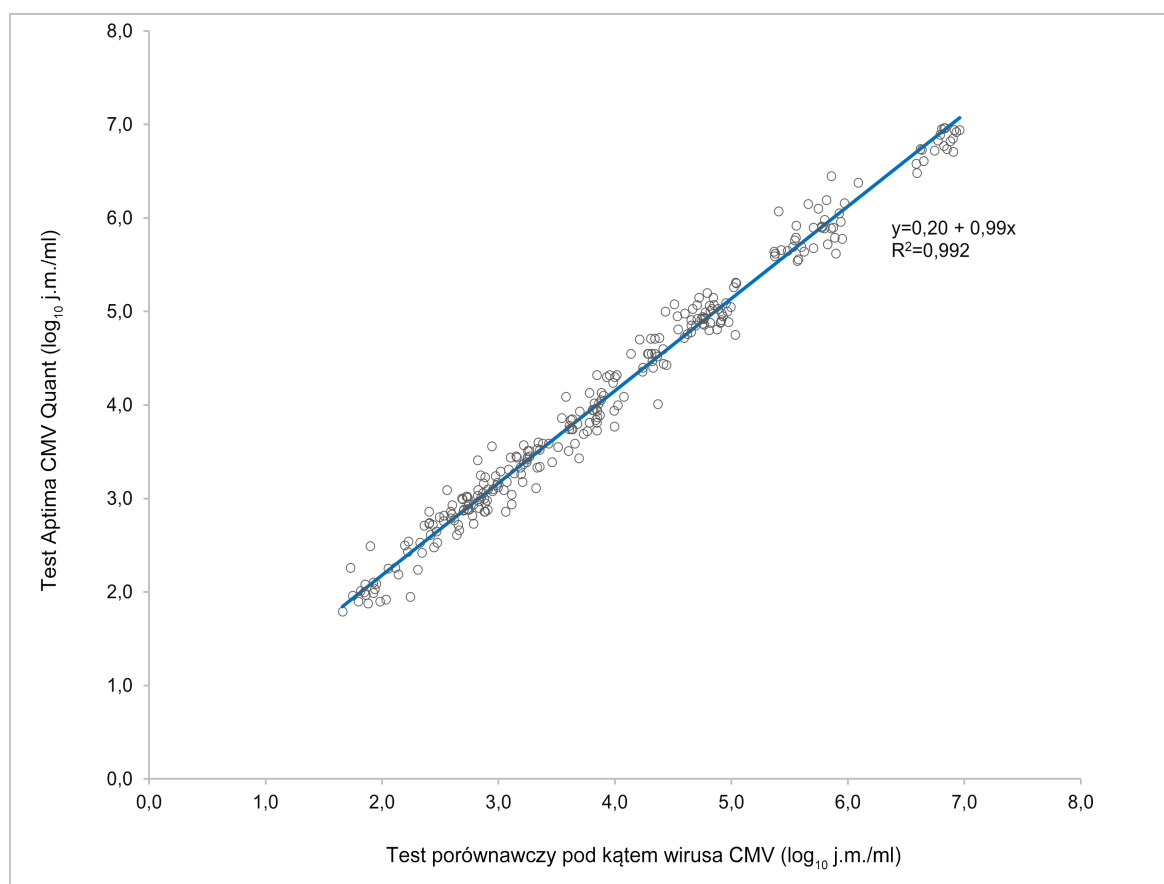
System Panther System został oceniony pod kątem ryzyka kontaminacji przez przeniesienie przy użyciu próbek osocza oraz innych testów przeznaczonych do określania obciążenia wirusem (testy Aptima HIV-1 Quant Dx, Aptima HCV Quant, Aptima HBV Quant). W poprzednich testach nie zaobserwowano kontaminacji przez przeniesienie. Aby ustalić, że system Panther System minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników próbek krwi pełnej wynikających z kontaminacji przez przeniesienie, przeprowadzono badanie z wykorzystaniem paneli z domieszkami na trzech systemach Panther System. Przenoszenie zostało ocenione przy użyciu próbek krwi pełnej, do których dodano wysokie miano DNA wirusa CMV ($6 \log_{10}$ j.m./ml), przeplatanych pomiędzy próbkami ujemnymi względem wirusa CMV w układzie tzw. szachownicy. Testy przeprowadzono w dwunastu seriach. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0,24% (1/423).

Korelacja metod

Badanie zostało zaprojektowane zgodnie z dokumentem CLSI EP09c.¹⁹

Korelacja metod — osocze

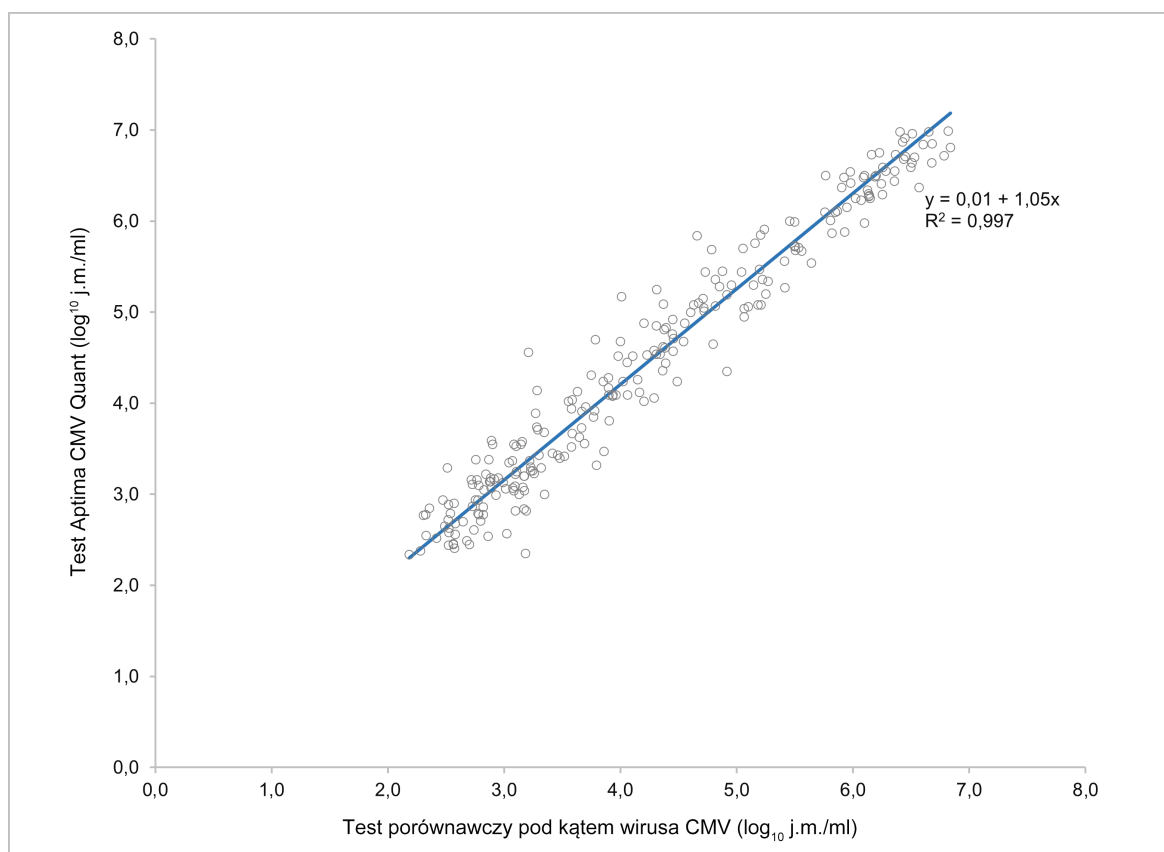
Skuteczność testu Aptima CMV Quant oceniano w porównaniu z testem porównawczym służącym do oznaczania wirusa CMV poprzez zbadanie nierozcieńczonych próbek klinicznych pobranych od pacjentów dodatnich względem wirusa CMV oraz próbek utworzonych sztucznie wskutek dodania różnych szczepów z hodowli wirusa, obejmujących wszystkie cztery genotypy, do ujemnego osocza EDTA poszczególnych dawców. Do regresji Deminga wykorzystano łącznie 160 próbek klinicznych oraz 115 próbek sztucznych reprezentujących zakres liniowy wspólny dla obu testów, jak przedstawia Rysunek 13.



Rysunek 13. Korelacja między wartościami obciążenia wirusem CMV uzyskanymi przy użyciu testu Aptima CMV Quant i testu porównawczego do oznaczania wirusa CMV dla badanych próbek osocza

Korelacja metod — krew pełna

Skuteczność testu Aptima CMV Quant oceniano w porównaniu z testem porównawczym służącym do oznaczania wirusa CMV poprzez zbadanie nierozcieńczonych próbek klinicznych pobranych od pacjentów dodatnich względem wirusa CMV oraz próbek utworzonych sztucznie wskutek dodania próbek z hodowli wirusa do ujemnej krwi pełnej EDTA poszczególnych dawców. Do regresji Deminga wykorzystano łącznie 159 próbek klinicznych oraz 83 próbki sztuczne reprezentujące zakres liniowy wspólny dla obu testów, jak przedstawia Rysunek 14.



Rysunek 14. Korelacja między wartościami obciążenia wirusem CMV uzyskanymi przy użyciu testu Aptima CMV Quant i testu porównawczego do oznaczania wirusa CMV dla badanych próbek krwi pełnej

Powtarzalność

Powtarzalność w próbkach osocza

Powtarzalność testu Aptima CMV Quant w osoczu została oceniona w trzech zewnętrznych ośrodkach. W każdym ośrodku testy przeprowadzało dwóch operatorów. Każdy operator wykonywał jedną serię testów dziennie w okresie 5 dni, korzystając z jednej partii odczynników. W ramach każdej serii testów badano trzy replikaty każdego elementu panelu.

Powtarzalność testowano przy użyciu elementów panelu przygotowanych poprzez rozcieńczenie próbek klinicznych dodatnich względem wirusa CMV lub próbek z hodowli wirusa CMV w osoczu EDTA ujemnym względem wirusa CMV. Stężenia DNA wirusa CMV mieściły się w zakresie liniowym testu.

Tabela 24 przedstawia powtarzalność i precyzję wyników testów dla każdego dodatniego elementu panelu między placówkami, między operatorami, między dniami, między seriami, w ramach serii i ogólnie. Współczynnik zmienności obliczono przy użyciu następującego równania, gdzie σ^2 jest wariancją próby danych po transformacji $\log_{10}$.

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

Tabela 24: Powtarzalność poziomów DNA wirusa CMV w teście Aptima CMV Quant w systemie Panther System dla dodatnich elementów panelu w osoczu

N	Zaobserwowana średnia		Udział w całkowitej wariancji SD (%CV ²)					Całkowita wariancja SD (%CV)
	j.m./ml	Log ₁₀ j.m./ml	Między ośrodkami	Między operatorami	Między dniami	Między seriami	W ramach serii	
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	284 107,74	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 = współczynnik zmienności, rozkład logarytmiczno-normalny, SD = odchylenie standardowe (log₁₀ j.m./ml)

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i %CV przedstawiono jako 0.

Powtarzalność w próbkach krwi pełnej

Powtarzalność testu Aptima CMV Quant w krwi pełnej została oceniona w trzech zewnętrznych ośrodkach. W każdym ośrodku testy przeprowadzało dwóch operatorów. Każdy operator

wykonywał jedną serię testów dziennie w okresie 5 dni, korzystając z jednej partii odczynników. W ramach każdej serii testów badano trzy replikaty każdego elementu panelu.

Powtarzalność testowano przy użyciu elementów panelu przygotowanych poprzez rozcieńczenie próbek klinicznych dodatnich względem wirusa CMV lub próbek z hodowli wirusa CMV w krwi pełnej EDTA ujemnej względem wirusa CMV. Stężenia DNA wirusa CMV mieściły się w zakresie liniowym testu.

Tabela 25 przedstawia powtarzalność i precyzję wyników testów dla każdego dodatniego elementu panelu między ośrodkami, między operatorami, między dniami, między seriami, w ramach serii oraz ogółem, z wyłączeniem jednego zaobserwowanego odchylenia (0,2%, 1/533). Współczynnik zmienności obliczono przy użyciu następującego równania, gdzie σ^2 jest wariancją próby danych po transformacji $\log_{10}$.

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

Dla wszystkich dodatnich i ujemnych względem wirusa CMV elementów panelu wartości zgodności wynosiły 100%.

Tabela 25: Powtarzalność poziomów DNA wirusa CMV w teście Aptima CMV Quant w systemie Panther System dla dodatnich elementów panelu w krwi pełnej

N	Zaobserwowana średnia		Udział w całkowitej wariancji SD (%CV ²)					Całkowita wariancja SD (%CV)
	j.m./ml	Log ₁₀ j.m./ml	Między ośrodkami	Między operatorami	Między dniami	Między seriami	W ramach serii	
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 = współczynnik zmienności, rozkład logarytmiczno-normalny, SD = odchylenie standardowe (log₁₀ j.m./ml)

Uwaga: Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i %CV przedstawiono jako 0.

^aWynik całkowitej wariancji z wyłączeniem wartości odstających, które potencjalnie mogą być wynikiem problemu z przygotowaniem próbki.

Skuteczność kliniczna

Zgodność kliniczna

Badanie skuteczności klinicznej zostało zaprojektowane w celu oceny zgodności klinicznej pomiędzy testem Aptima CMV Quant a zatwierdzonym testem porównawczym. W ramach prospektywnego badania wieloośrodkowego prowadzonego w ośmiu ośrodkach klinicznych pobrano próbki osocza od biorców przeszczepów narządów litych (SOTR) i biorców przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego (HSCTR), poddawanych monitorowaniu wirusa CMV w ramach rutynowej praktyki klinicznej. Dodatkowo z ośrodków dostarczających próbki kliniczne uzyskano pozostałości zamrożonych próbek pobranych od biorców SOTR i HSCTR.

Spośród 88 osób włączonych do badania prospektywnego, sześć nie kwalifikowało się do oceny z powodu wycofania się ($n = 5$) lub braku prawidłowych wyników testu Aptima CMV Quant i zatwierdzonego testu ($n = 1$). Tabela 26 przedstawia dane demograficzne i wyjściową charakterystykę kliniczną 82 ocenianych osób.

Tabela 26: Dane demograficzne i wyjściowa charakterystyka kliniczna ocenianych uczestników ogółem oraz według typu przeszczepu

Charakterystyka		SOTR	HSCTR	Ogółem
Ogółem, N		62	20	82
Płeć, n (%)	Mężczyzna	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Kobieta	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Wiek (lata)	Średnia $\pm$ (SD)	52,1 $\pm$ (12,93)	51,9 $\pm$ (14,60)	52,1 $\pm$ (13,27)
	Mediana	53,0	54,5	54,0
	Min.	20	22	20
	Maks.	81	69	81
Pochodzenie etniczne, n (%)	Latynos lub Latynoska	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Inne niż Latynos lub Latynoska	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Nieznane	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Rasa, n (%)	Rdzenny mieszkaniec Ameryki / rdzenny mieszkaniec Alaski	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Azjatycka	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Czarnoskóry(-a) lub	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Rdzenny mieszkaniec Hawajów / mieszkaniec Wysp Pacyficznych	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Biała	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Inne	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Nieznane	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Typ narządu, n (%)	Nerka	25 (40,3)	--	--
	Wątroba	15 (24,2)	--	--
	Płuco	10 (16,1)	--	--
	Serce	12 (19,4)	--	--

Tabela 26: Dane demograficzne i wyjściowa charakterystyka kliniczna ocenianych uczestników ogółem oraz według typu przeszczepu (*ciąg dalszy*)

Charakterystyka		SOTR	HSCTR	Ogółem
Typ komórek macierzystych, n (%)	Allogeniczny	--	18 (90,0)	--
	Autologiczny	--	2 (10,0)	--
Status serologiczny wirusa CMV, n (%)	Dawca pozytywny / biorca negatywny	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Dawca negatywny / biorca pozytywny	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Dawca pozytywny / biorca pozytywny	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
Stosowana jest terapia przeciw wirusowi CMV, n		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Dni na terapii przeciw wirusowi CMV do momentu włączenia do badania				
n		41	12	53
Średnia		13,6	13,3	13,5
Mediana		11	9,5	11
Min.		1	1	1
Maks.		47	45	47

HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, SD = odchylenie standardowe, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

* Osoby włączone do badania prospektywnego, od których pobrano próbkę przynajmniej w jednym punkcie czasowym.

W badaniu prospektywnym pobrano 365 próbek osocza od 82 osób podlegających ocenie. Dodatkowo z ośrodków dostarczających próbki kliniczne uzyskano 261 pozostałości zamrożonych próbek. Spośród 626 klinicznych próbek osocza (tj. próbek pobranych w badaniu prospektywnym i pozostałości zamrożonych próbek łącznie), 597 sparowanych (tj. z ważnym wynikiem zarówno w teście Aptima CMV Quant, jak i zatwierdzonym teście) klinicznych próbek osocza włączono do analiz zgodności. Spośród 597 sparowanych próbek klinicznych, 339 próbek pobrano w badaniu prospektywnym, a 258 stanowiły pozostałości zamrożonych próbek. Oddzielnie przeprowadzono analizy zgodności na 181 sparowanych próbkach pobranych od pacjentów po rozpoczęciu terapii przeciw wirusowi CMV stanowiącej część rutynowej opieki w trakcie badania prospektywnego.

Tabela 27 przedstawia analizę zgodności i procentową zgodność pomiędzy testem Aptima CMV Quant a zatwierdzonym testem przy różnych progach (ogółem i według grupy przeszczepu). Analizę zgodności przy różnych zakresach obciążenia wirusem (ogółem i według grupy przeszczepu) przedstawia Tabela 28. W przypadku czterech z 597 wyników ogólnych odnotowano rozbieżności w zakresie większym niż najbliższa sąsiednia kategoria, z czego 3 wyniki dotyczyły biorców HSCTR.

Tabela 27: Analiza zgodności i procentowa zgodność przy różnych progach (ogółem i według grupy przeszczepu)

Próg grupy przeszczepu	N ^a	Wyniki testu porównawczego ^b i testu Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [95% CI] ^c	NPA % (n/N) [95% CI] ^c
		Porów.≥ ACMV≥	Porów.< ACMV≥	Porów.< ACMV<	Porów.≥ ACMV<		
Ogółem							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml (137 j.m./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 j.m./ml (500 j.m./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 j.m./ml (1800 j.m./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 j.m./ml (7943,3 j.m./ml)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTR							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml (137 j.m./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 j.m./ml (500 j.m./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 j.m./ml (1800 j.m./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 j.m./ml (7943,3 j.m./ml)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTR							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml (137 j.m./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 j.m./ml (500 j.m./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 j.m./ml (1800 j.m./ml)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ j.m./ml (7943,3 j.m./ml)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV = test Aptima CMV Quant, CI = przedział ufności, Porów. = test porównawczy, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, NPA = procentowa zgodność wyników ujemnych, PPA = procentowa zgodność wyników dodatnich, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych, TND = nie wykryto cząstek szukanych

Uwagi:

≥: Wynik jest co najmniej równy zdefiniowanej wartości progu

<: Wynik jest mniejszy od zdefiniowanej wartości progu

Parametr PPA obejmuje wyniki co najmniej równe zdefiniowanej wartości progu; parametr NPA obejmuje wyniki mniejsze od zdefiniowanej wartości progu.

^a Liczba sparowanych próbek klinicznych (próbki pobrane w badaniu prospektywnym i pozostałości zamrożonych próbek uzyskane z ośrodków dostarczających próbki kliniczne łącznie).

^b Zatwierdzony test

^c CI dla wyniku

^d Granica LLoQ alternatywnego zatwierzonego testu

Tabela 28: Analiza zgodności przy różnych zakresach obciążenia wirusem (ogółem i według grupy przeszczepu)

Grupa przeszczepu Wynik testu Aptima CMV	Wynik testu porównawczego ^b (log ₁₀ j.m./ml)						
	Ogółem ^a , N	TND	Wykryto, <2,1	≥2,1 do <2,7	≥2,7 do <3,3	≥3,3 do <3,9	≥3,9
Ogółem							
Łączna liczba sparowanych próbek, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥2,1 do <2,7 log ₁₀ j.m./ml	105	0	46	54	5	0	0
≥2,7 do <3,3 log ₁₀ j.m./ml	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥3,3 do <3,9 log ₁₀ j.m./ml	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥3,9 log ₁₀ j.m./ml	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTR							
Łączna liczba sparowanych próbek, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥2,1 do <2,7 log ₁₀ j.m./ml	69	0	26	39	4	0	0
≥2,7 do <3,3 log ₁₀ j.m./ml	60	0	0	25	34	1	0
≥3,3 do <3,9 log ₁₀ j.m./ml	43	0	0	0	15	28	0
≥3,9 log ₁₀ j.m./ml	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTR							
Łączna liczba sparowanych próbek, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥2,1 do <2,7 log ₁₀ j.m./ml	36	0	20	15	1	0	0
≥2,7 do <3,3 log ₁₀ j.m./ml	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥3,3 do <3,9 log ₁₀ j.m./ml	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥3,9 log ₁₀ j.m./ml	6	0	0	0	0	2	4

HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych, TND = nie wykryto cząstek szukanych

^a Liczba sparowanych próbek klinicznych (próbki pobrane w badaniu prospektywnym i pozostałości zamrożonych próbek uzyskane z ośrodków dostarczających próbki kliniczne łącznie).

^b Zatwierdzony test

^c Granica LLoQ alternatywnego zatwierdzonego testu

^d W przypadku 4 z 597 wyników ogólnych odnotowano rozbieżności w zakresie większym niż najbliższa sąsiednia kategoria; 1 z 4 wyników dotyczył biorców SOTR, natomiast 3 z 4 wyników dotyczyły biorców HSCTR. Z 2 próbek biorców HSCTR, w przypadku których wykonano alternatywny test NAAT, 1 wynik był zgodny z wynikiem testu Aptima CMV Quant.

Tabela 29 przedstawia analizę zgodności i procentową zgodność przy różnych progach (ogółem i według grupy przeszczepu) próbek pobranych od pacjentów po rozpoczęciu terapii przeciw wirusowi CMV stanowiącej część rutynowej opieki w trakcie badania prospektywnego. Analizę zgodności przy różnych zakresach obciążenia wirusem oraz przy użyciu wszystkich punktów czasowych po rozpoczęciu terapii łącznie (ogółem i według grupy przeszczepu) przedstawia Tabela 30. W przypadku jednego ze 181 wyników ogólnych odnotowano rozbieżności w zakresie większym niż najbliższa sąsiednia kategoria; wynik ten dotyczył biory SOTR.

Tabela 29: Analiza zgodności i procentowa zgodność przy różnych progach oraz przy użyciu wszystkich punktów czasowych po rozpoczęciu terapii łącznie (ogółem i według grupy przeszczepu)

Próg grupy przeszczepu	N ^a	Wyniki testu porównawczego ^b i testu Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [95% CI] ^c	NPA % (n/N) [95% CI] ^c
		Porów.≥ ACMV≥	Porów.< ACMV≥	Porów.< ACMV<	Porów.≥ ACMV<		
Ogółem							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml (137 j.m./ml) ^e	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
2,7 log ₁₀ j.m./ml (500 j.m./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 j.m./ml (1800 j.m./ml)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ j.m./ml (7943,3 j.m./ml)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTR							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml (137 j.m./ml) ^e	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
2,7 log ₁₀ j.m./ml (500 j.m./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 j.m./ml (1800 j.m./ml)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ j.m./ml (7943,3 j.m./ml)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTR							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml (137 j.m./ml) ^e	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log ₁₀ j.m./ml (500 j.m./ml)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
3,3 log ₁₀ j.m./ml (1800 j.m./ml)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
3,9 log ₁₀ j.m./ml (7943,3 j.m./ml)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

Tabela 29: Analiza zgodności i procentowa zgodność przy różnych progach oraz przy użyciu wszystkich punktów czasowych po rozpoczęciu terapii łącznie (ogółem i według grupy przeszczepu) (ciąg dalszy)

Próg grupy przeszczepu	N ^a	Wyniki testu porównawczego ^b i testu Aptima CMV Quant				PPA	NPA
		Porów.≥ ACMV≥	Porów.< ACMV≥	Porów.< ACMV<	Porów.≥ ACMV<	% (n/N) [95% CI] ^c	% (n/N) [95% CI] ^c
ACMV = test Aptima CMV Quant, CI = przedział ufności, Porów. = test porównawczy, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, NPA = procentowa zgodność wyników ujemnych, PPA = procentowa zgodność wyników dodatnich, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych, TND = nie wykryto cząstek szukanych							
Uwagi:							
• ≥: Wynik jest co najmniej równy zdefiniowanej wartości progu • <: Wynik jest mniejszy od zdefiniowanej wartości progu • Parametr PPA obejmuje wyniki co najmniej równe zdefiniowanej wartości progu; parametr NPA obejmuje wyniki mniejsze od zdefiniowanej wartości progu.							
^a Liczba sparowanych próbek pobranych od osób poddawanych terapii przeciw wirusowi CMV w momencie włączenia do badania, lub w przypadku których rozpoczęto terapię przeciw wirusowi CMV w trakcie badania prospektywnego.							
^b Zatwierdzony test							
^c CI dla wyniku							
^d Granica LLoQ alternatywnego zatwierdzonego testu							

Tabela 30: Analiza zgodności przy różnych zakresach obciążenia wirusem oraz przy użyciu wszystkich punktów czasowych po rozpoczęciu terapii łącznie (ogółem i według grupy przeszczepu)

Grupa przeszczepu Wynik testu Aptima CMV Quant	Wynik testu porównawczego ^b (log ₁₀ j.m./ml)						
	Ogółem ^a , N	TND	Wykryto, <2,1	≥2,1 do <2,7	≥2,7 do <3,3	≥3,3 do <3,9	≥3,9
Ogółem							
Łączna liczba sparowanych próbek, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥2,1 do <2,7 log ₁₀ j.m./ml	33	0	15	17	1	0	0
≥2,7 do <3,3 log ₁₀ j.m./ml	23	0	0	9	14	0	0
≥3,3 do <3,9 log ₁₀ j.m./ml	13	0	0	0	4	9	0
≥3,9 log ₁₀ j.m./ml	15	0	0	0	1 ^d	2	12
SOTR							
Łączna liczba sparowanych próbek, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥2,1 do <2,7 log ₁₀ j.m./ml	30	0	15	14	1	0	0
≥2,7 do <3,3 log ₁₀ j.m./ml	19	0	0	8	11	0	0
≥3,3 do <3,9 log ₁₀ j.m./ml	10	0	0	0	4	6	0
≥3,9 log ₁₀ j.m./ml	13	0	0	0	1 ^d	2	10
HSCTR							
Łączna liczba sparowanych próbek, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Wykryto, <2,1 log ₁₀ j.m./ml ^c	9	2	7	0	0	0	0

Tabela 30: Analiza zgodności przy różnych zakresach obciążenia wirusem oraz przy użyciu wszystkich punktów czasowych po rozpoczęciu terapii łącznie (ogółem i według grupy przeszczepu) (ciąg dalszy)

Grupa przeszczepu Wynik testu Aptima CMV Quant	Wynik testu porównawczego ^b (log ₁₀ j.m./ml)						
	Ogółem ^a , N	TND	Wykryto, <2,1	≥2,1 do <2,7	≥2,7 do <3,3	≥3,3 do <3,9	≥3,9
≥2,1 do <2,7 log ₁₀ j.m./ml	3	0	0	3	0	0	0
≥2,7 do <3,3 log ₁₀ j.m./ml	4	0	0	1	3	0	0
≥3,3 do <3,9 log ₁₀ j.m./ml	3	0	0	0	0	3	0
≥3,9 log ₁₀ j.m./ml	2	0	0	0	0	0	2

HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych, TND = nie wykryto cząstek szukanych

^a Liczba sparowanych próbek pobranych od osób poddawanych terapii przeciw wirusowi CMV w momencie włączenia do badania, lub w przypadku których rozpoczęto terapię przeciw wirusowi CMV w trakcie badania prospektywnego.

^b zatwierdzony test

^c Granica LLoQ alternatywnego zatwierdzonego testu

^d W przypadku 1 ze 181 wyników ogólnych odnotowano rozbieżności w zakresie większym niż najbliższa sąsiednia kategoria.

Porównanie metod

Przeprowadzono badanie porównawcze metod w celu oceny skuteczności testu Aptima CMV Quant w porównaniu z zatwierdzonym testem. W analizie porównawczej metod uwzględniono łącznie 309 sparowanych próbek klinicznych dodatnich względem wirusa CMV, w tym 165 próbek zebranych w badaniu prospektywnym oraz 144 pozostałości zamrożonych próbek, w przypadku których wyniki mieściły się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów. Dodatkowo przygotowano łącznie 105 próbek sztucznych poprzez dodanie materiału z hodowli wirusa CMV do osocza EDTA ujemnego względem wirusa CMV. W przypadku 103 z tych próbek wartości mieściły się we wspólnym zakresie liniowym obu testów. Próbkę sztuczną analizowano oddzielnie.

Tabela 31 przedstawia oszacowania parametrów regresji Deminga (log₁₀ j.m./ml). Rysunek 15 do Rysunek 18 przedstawiają regresję Deminga dla wyników obciążenia wirusem (log₁₀ j.m./ml) uzyskanych przy użyciu testu Aptima CMV Quant i zatwierdzonego testu.

Tabela 31: Oszacowania parametrów regresji Deminga według typu próbki i grupy przeszczepu

Typ próbki	Grupa przeszczepu	Jednostka obciążenia wirusem	Parametr	N ^a	Oszacowanie	Metoda scyzorykowa ^b		Metoda bootstrap ^c		r
						SE	95% CI	SE	95% CI	
Kliniczna	Ogółem	log ₁₀ j.m./ml	Punkt przecięcia z osią	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Nachylenie		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTR	log ₁₀ j.m./ml	Punkt przecięcia z osią	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Nachylenie		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	

Tabela 31: Oszacowania parametrów regresji Deminga według typu próbki i grupy przeszczepu (ciąg dalszy)

Typ próbki	Grupa przeszczepu	Jednostka obciążenia wirusem	Parametr	N ^a	Oszacowanie	Metoda scyzorykowa ^b		Metoda bootstrap ^c		r
						SE	95% CI	SE	95% CI	
	HSCTR	log ₁₀ j.m./ml	Punkt przecięcia z osią	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Nachylenie		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	
Sztuczna	ND.	log ₁₀ j.m./ml	Punkt przecięcia z osią	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Nachylenie		1,01	0,011	(0,98, 1,03)	0,012	(0,98, 1,03)	

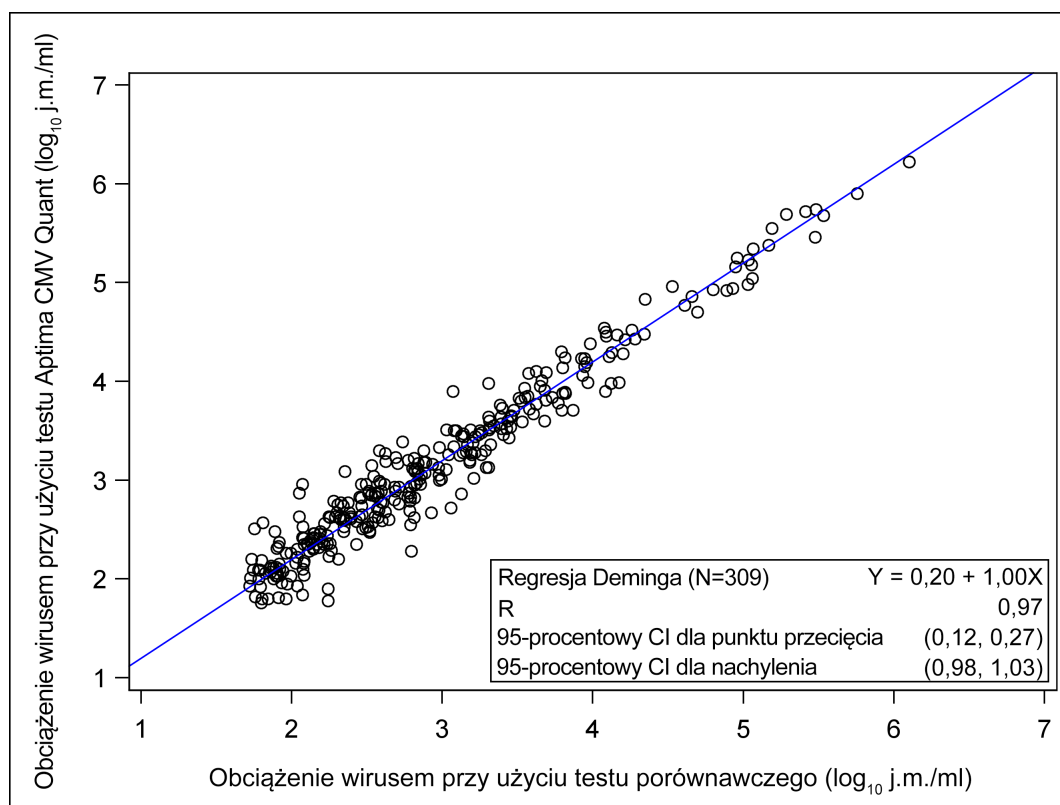
CI = przedział ufności, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego,

r = współczynnik korelacji, SE = błąd standardowy, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

^a Liczba sparowanych próbek z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.

^b Założenie niezależności między wszystkimi próbkami; do oszacowania SE i CI zastosowano metodę scyzorykową.

^c Próbkę kliniczną dostosowano do korelacji w ramach pacjentów za pomocą metody ponownego próbkowania bootstrap z zastosowaniem 500 powtórzeń; tę metodę zastosowano również dla próbek sztucznych, ale bez stratyfikacji według pacjenta.

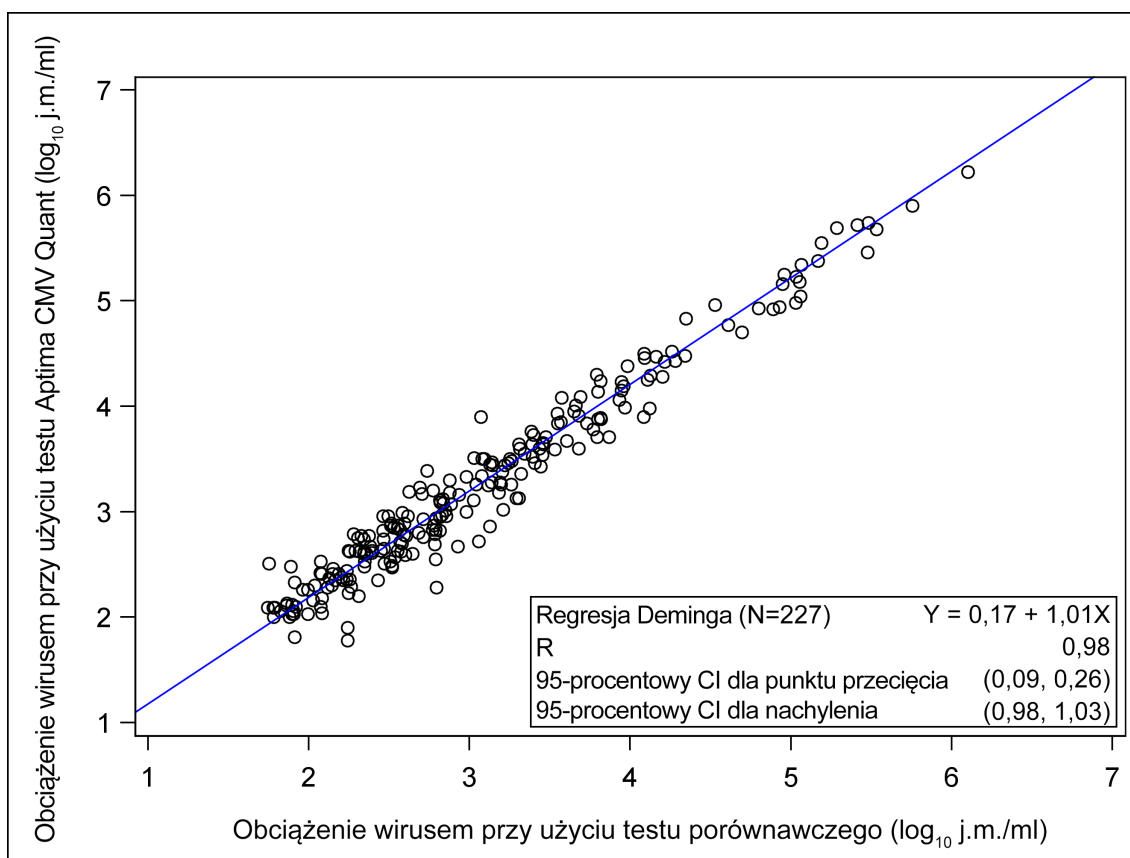


Rysunek 15. Wykres regresji liniowej Deminga (próbki kliniczne: SOTR i HSCTR łącznie)

CI = przedział ufności, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, R = współczynnik korelacji, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

Uwagi:

- Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.
- Model regresji Deminga zakłada niezależność między wszystkimi próbkami; do oszacowania CI zastosowano metodę scyzorykową.

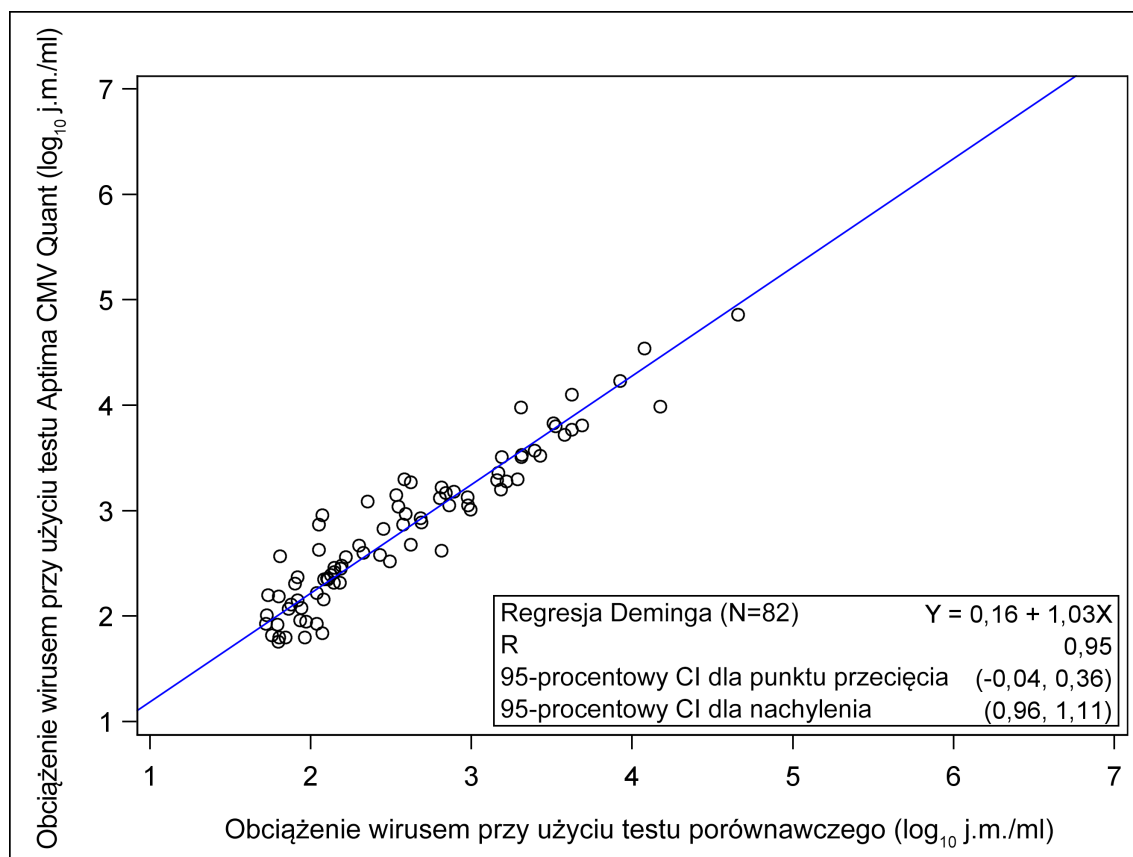


**Rysunek 16. Wykres regresji liniowej Deminga dla obciążenia wirusem
(próbki kliniczne: tylko SOTR)**

CI = przedział ufności, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych, R = współczynnik korelacji

Uwagi:

- Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.
- Model regresji Deminga zakłada niezależność między wszystkimi próbkami; do oszacowania CI zastosowano metodę szczyrkową.

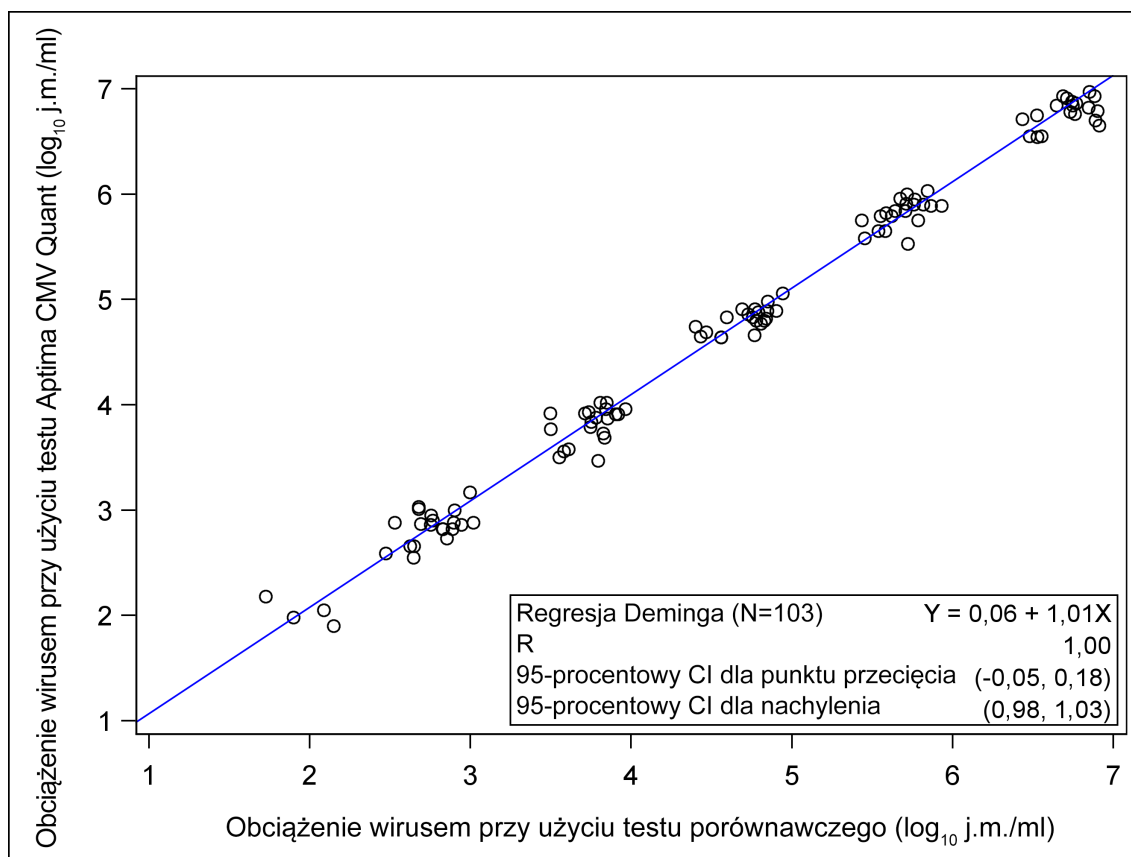


**Rysunek 17. Wykres regresji liniowej Deminga dla obciążenia wirusem
(próbki kliniczne: tylko HSCTR)**

CI = przedział ufności, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, R = współczynnik korelacji

Uwagi:

- Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.
- Model regresji Deminga zakłada niezależność między wszystkimi próbkami; do oszacowania CI zastosowano metodę scyzorykową.



Rysunek 18. Wykres regresji liniowej Deminga dla obciążenia wirusem (próbki sztuczne)

CI = przedział ufności, R = współczynnik korelacji

Uwagi:

- Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.
- Model regresji Deminga zakłada niezależność między wszystkimi próbkami; do oszacowania CI zastosowano metodę szczyrkową.

Średnia różnica par

Tabela 32 poniżej przedstawia średnią różnicę par pomiędzy testem Aptima CMV Quant a zatwierdzonym testem przy reprezentatywnych zakresach decyzyjnych.

Tabela 32: Średnia różnic dla par obciążeń wirusem przy reprezentatywnych zakresach decyzyjnych według typu próbki i grupy przeszczepu

Typ próbki	Grupa przeszczepu	Reprezentatywne zakresy decyzyjne ^a (log ₁₀ j.m./ml)	Łączna liczba sparowanych próbek ^b (N)	Średnia (SE)	95% CI
Kliniczna	Ogółem	Ogółem	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		≥2,1 do <3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		≥3,0 do <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		≥4,0 do <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	SOTR	Ogółem	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		≥2,1 do <3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		≥3,0 do <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		≥4,0 do <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	HSCTR	Ogółem	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		≥2,1 do <3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		≥3,0 do <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		≥4,0 do <5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥5,0	0	NC (NC)	NC
	Sztuczna	Ogółem	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		≥2,1 do <3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		≥3,0 do <4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		≥4,0 do <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

CI = przedział ufności, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego,

NC = niemożliwe do obliczenia, SE = błąd standardowy, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

^a Sparowane próbki są przydzielane do zakresów decyzyjnych na podstawie wyniku zatwierdzonego testu.

^b Liczba sparowanych próbek z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.

Obciążenie (bias) przy wybranych poziomach obciążenia wirusem

Tabela 33 poniżej przedstawia obciążenie (bias) pomiędzy testem Aptima CMV Quant a zatwierdzonym testem przy pięciu wybranych poziomach obciążenia wirusem wynoszących od 2,1 log₁₀ j.m./ml do 7,0 log₁₀ j.m./ml z powiązanymi nietransformowanymi odpowiednikami.

Tabela 33: Obciążenie / różnica systematyczna przy wybranych poziomach obciążenia wirusem według typu próbki i grupy przeszczepu

Typ próbki	Grupa przeszczepu	Wybrane poziomy obciążenia wirusem log ₁₀ j.m./ml (j.m./ml)	Różnica systemowa ^a log ₁₀ j.m./ml (j.m./ml)
Kliniczna	Ogółem	2,1 (137)	0,20 (1797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1948,2)
		3,3 (1800)	0,21 (2489,1)
		3,9 (7943,3)	0,21 (5045,3)
		7,0 (10 000 000)	0,22 (4 162 789,2)
	SOTR	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2402,4)
		3,3 (1800)	0,19 (2941,7)
		3,9 (7943,3)	0,19 (5490,5)
		7,0 (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 (1800)	0,27 (1327,2)
		3,9 (7943,3)	0,29 (5564,7)
		7,0 (10 000 000)	0,40 (6 897 935,4)
Sztuczna	ND.	2,1 (137)	0,07 (33 420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33 467,9)
		3,3 (1800)	0,08 (33 638,0)
		3,9 (7943,3)	0,08 (34 442,0)
		7,0 (10 000 000)	0,10 (1 342 167,4)

HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

^a Różnica systematyczna to różnica między zmienną wyjściową (Y) a obciążeniem wirusem (X) wyliczona przy każdym z wybranych poziomów obciążenia wirusem przy użyciu oszacowań regresji Deminga dla nachylenia i punktu przecięcia.

Dopuszczalna różnica całkowita (ATD)

Tabela 34 oraz Rysunek 19 do Rysunek 22 poniżej przedstawiają wyniki ATD uzyskane przy użyciu różnic par pomiędzy testem Aptima CMV Quant a zatwierdzonym testem w porównaniu do odpowiadających im średnich przy progach reprezentacyjnych oraz odsetek sparowanych wyników w strefie ATD.

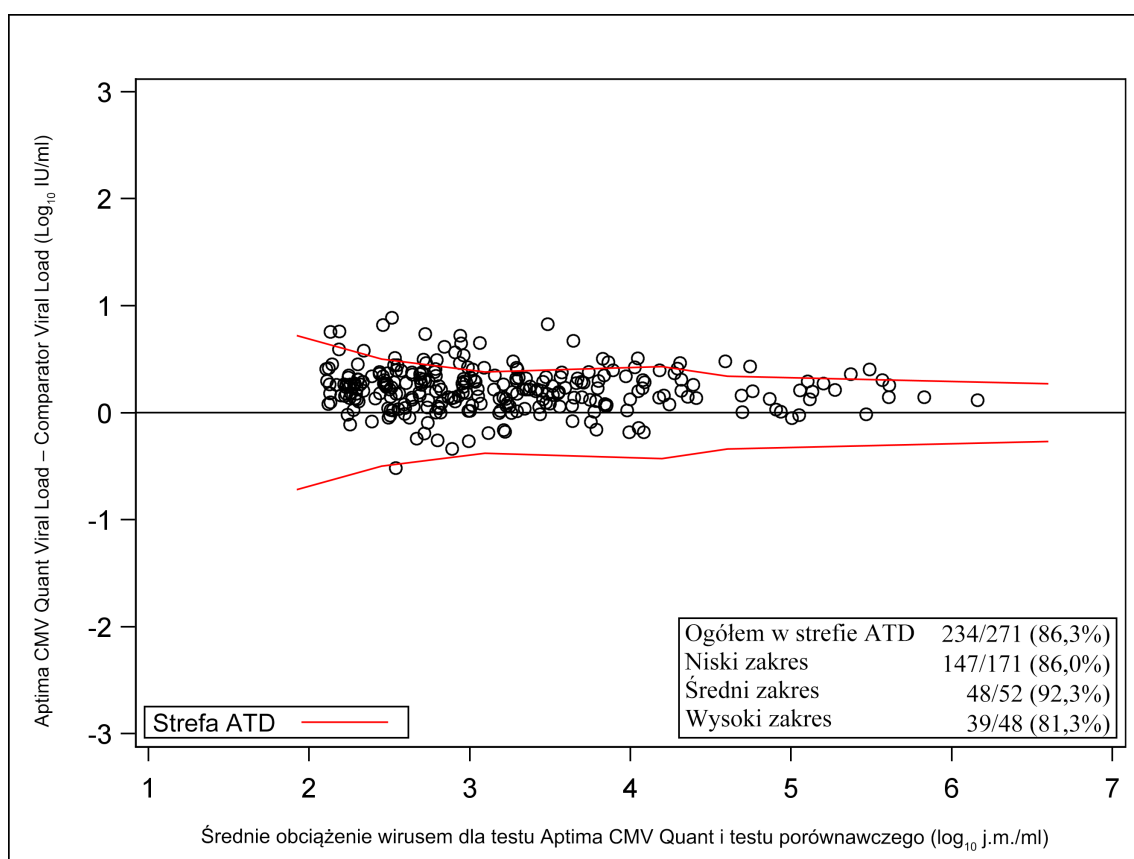
Tabela 34: Odsetek różnic dla sparowanych próbek w granicach strefy ATD (dopuszczalna różnica całkowita) przy różnych zakresach obciążenia wirusem według typu próbki i grupy przeszczepu

Typ próbki	Grupa przeszczepu	Zakresy obciążenia wirusem ^a (log ₁₀ j.m./ml)	N ^b	Różnice dla sparowanych próbek w granicach strefy ATD				
				n (%)	Percentyle			
					2,5%	5%	95%	97,5%
Kliniczna	Ogółem	Ogółem	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Niskie (≥2,1 do <3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Średnie (≥3,3 do <3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Wysokie (≥3,9 do <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
	SOTR	Ogółem	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Niskie (≥2,1 do <3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Średnie (≥3,3 do <3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Wysokie (≥3,9 do <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
	HSCTR	Ogółem	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Niskie (≥2,1 do <3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Średnie (≥3,3 do <3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Wysokie (≥3,9 do <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Sztuczna	ND.	Ogółem	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Niskie (≥2,1 do <3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Średnie (≥3,3 do <3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Wysokie (≥3,9 do <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

^a Sparowane próbki są przydzielane do zakresów decyzyjnych na podstawie wyniku zatwierdzonego testu.

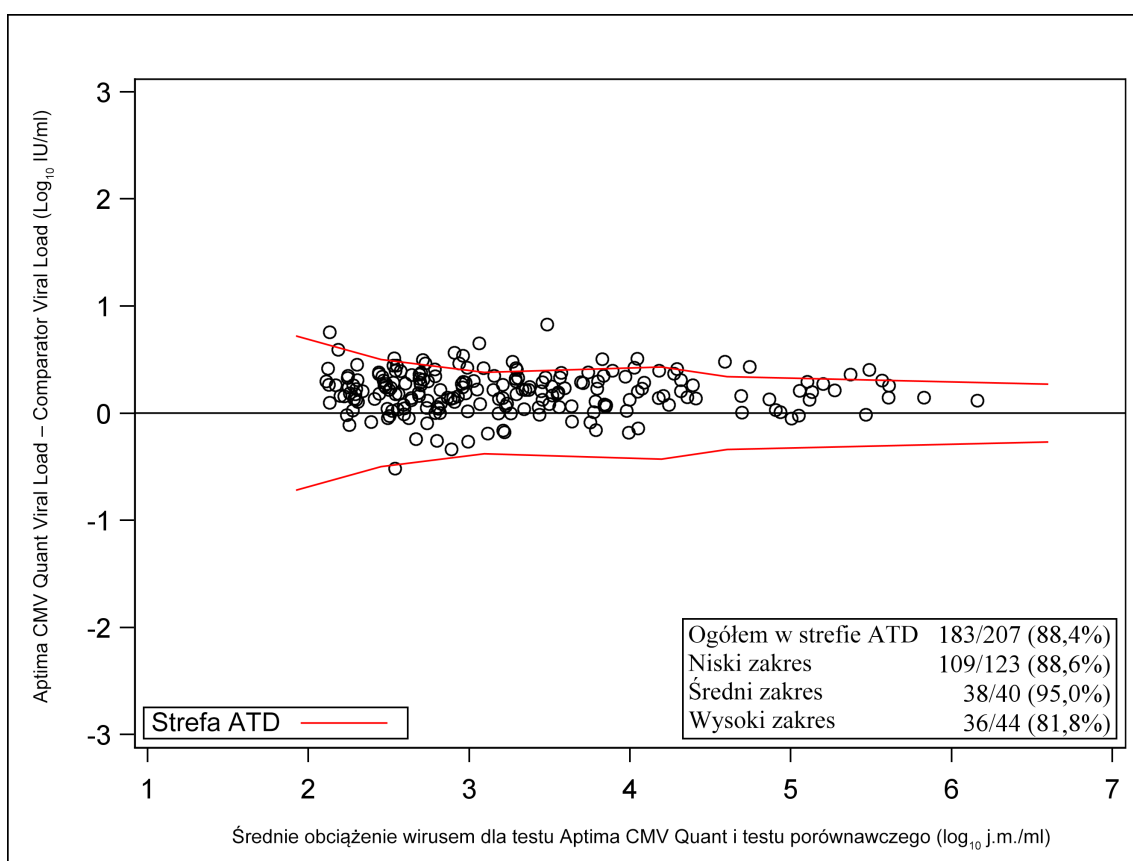
^b Liczba sparowanych próbek z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.



**Rysunek 19. Wykres różnicowy dla sparowanych próbek i strefy ATD
(próbki kliniczne: SOTR i HSCTR łącznie)**

ATD = dopuszczalna różnica całkowita, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego, SOTR = biorcy przeszczepów narządów twardych

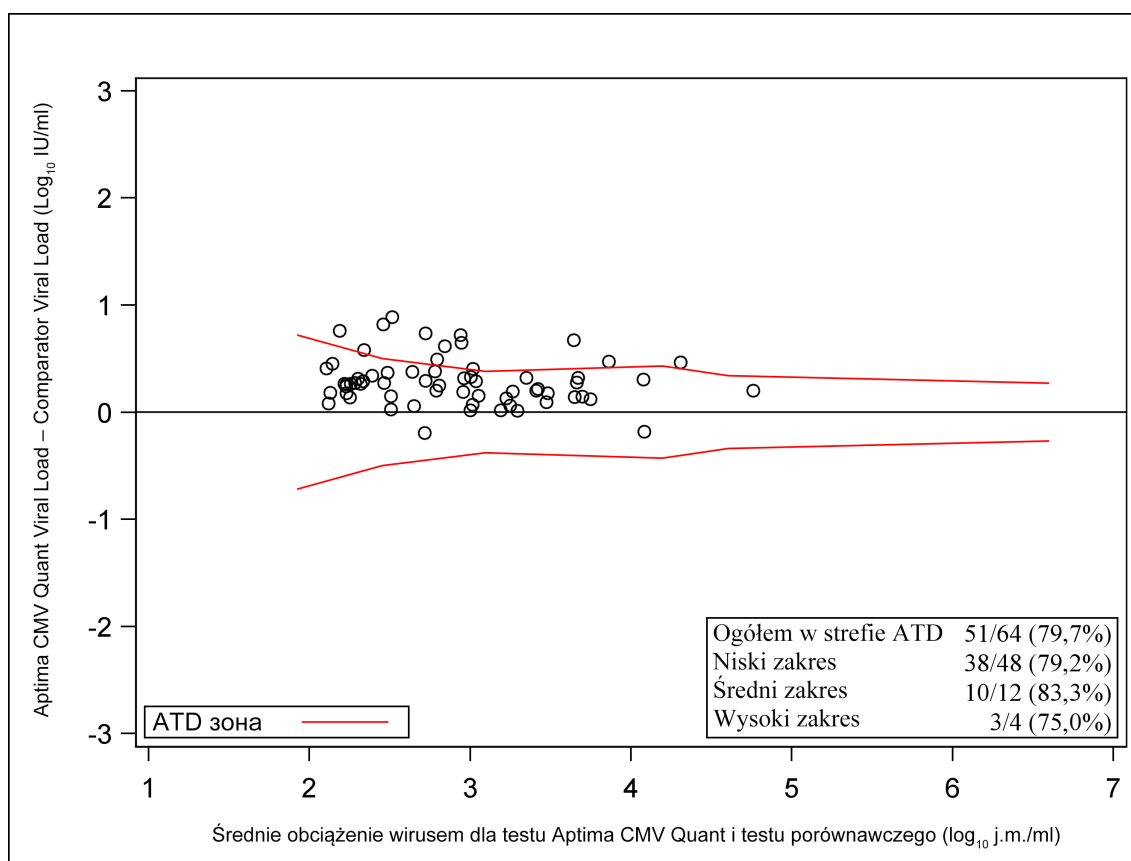
Uwaga: Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.



Rysunek 20. Wykres różnicowy dla sparowanych próbek i strefy ATD (próbki kliniczne: tylko SOTR)

ATD = dopuszczalna różnica całkowita, SOTR = biorcy przeszczepów narządów litych

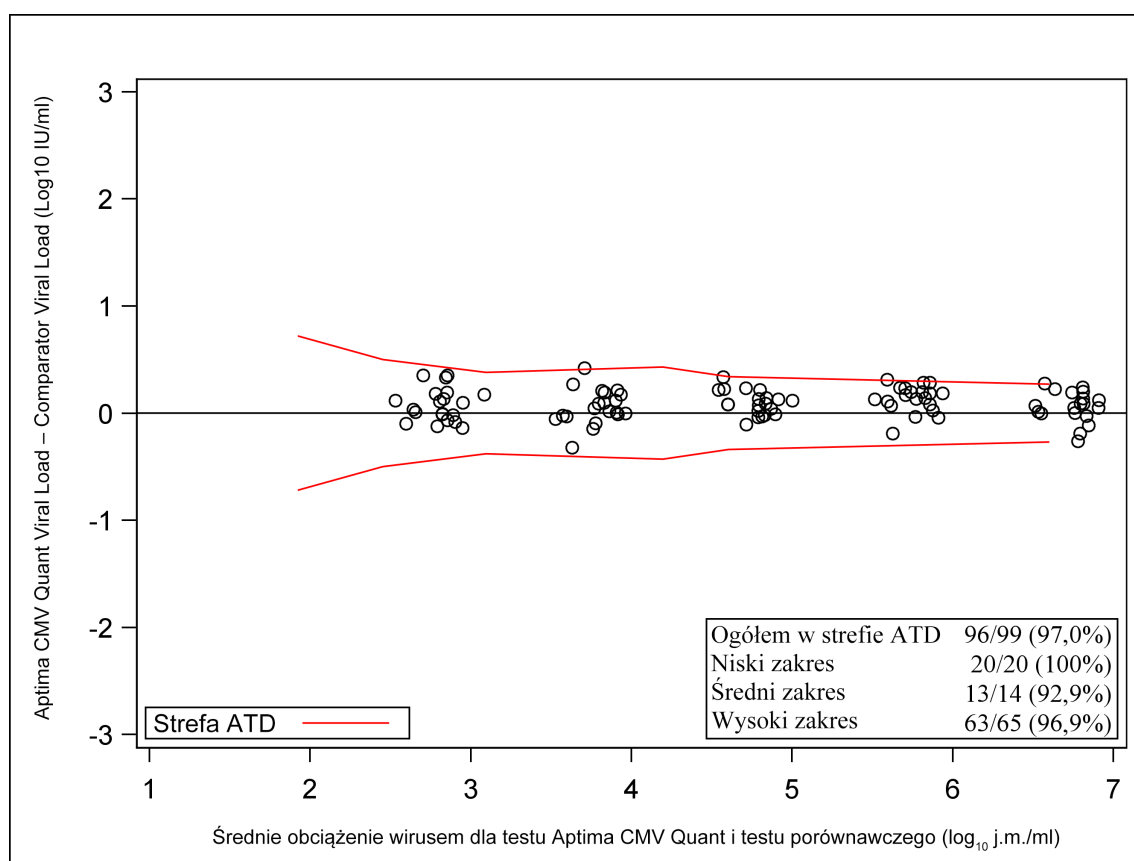
Uwaga: Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.



Rysunek 21. Wykres różnicowy dla sparowanych próbek i strefy ATD (próbki kliniczne: tylko HSCTR)

ATD = dopuszczalna różnica całkowita, HSCTR = biorcy przeszczepów komórek macierzystych układu krwiotwórczego

Uwaga: Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.



Rysunek 22. Wykres różnicowy dla sparowanych próbek i strefy ATD (próbki sztuczne)

ATD = dopuszczalna różnica całkowita

Uwaga: Uwzględniono sparowane próbki z wynikami mieszczącymi się we wspólnym zakresie liniowym dla obu testów.

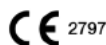
Bibliografia

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.** The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI, dokument MM13-A. Wayne, PA
11. **29 CFR część 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; wersja bieżąca.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); wersja bieżąca.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI, dokument 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, dokument 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, dokument 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, dokument 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, dokument 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, dokument EP07, wyd. 3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI, dokument EP37, wyd. 1. 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, dokument EP09c, wyd. 3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
21. **1. międzynarodowy wzorec dla ludzkiego cytomegalowirusa (HCMV) do technik z wykorzystaniem amplifikacji kwasów nukleinowych (NIBSC 09/162), szczep Merlin**

Dane kontaktowe i historia wersji



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

Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie www.hologic.com/support.

W Unii Europejskiej należy zgłaszać poważne incydenty, które wystąpiły w związku z wyrobem, do wytwórcy i właściwego organu państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę/miejsce zamieszkania.

Hologic, Aptima i Panther Fusion są znakami towarowymi i/lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic, Inc. i/lub jej podmiotów zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem w Stanach Zjednoczonych spośród wymienionych na stronie www.hologic.com/patents.

© 2021–2024 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-27747--3401 Rev. 001

06.2024 r.

Historia zmian	Data	Opis
AW-27747 wer. 002	Styczeń 2025 r.	Ta wersja jest zgodna z dokumentem AW-27747-001 wer. 002. (This version aligns with AW-27747-001 Rev. 002.)