

Aptima® CMV Quant Assay

Návod na použitie
Na diagnostické použitie *in vitro*
Len na export z USA

Všeobecné informácie	2
Určené použitie	2
Zhrnutie a vysvetlenie testu	2
Princípy postupu	2
Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu	3
Varovania a bezpečnostné opatrenia	3
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami	7
Odber vzoriek a skladovanie	8
Vzorky v systéme Panther	11
Preprava vzoriek	11
Systém Panther	11
Poskytnuté reagensie a materiály	11
Potrebne materiály predávané samostatne	13
Voliteľné materiály	14
Postup testovania v systéme Panther	14
Poznámky k postupu	21
Kontrola kvality	22
Kalibrácia testu	22
Negatívne a pozitívne kontroly	22
Interný kalibrátor/interná kontrola	22
Interpretácia výsledkov	23
Obmedzenia	25
Analytický výkon	26
Limit detekcie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO	26
Limit detekcie genotypov CMV a mutantov rezistentných voči liečivám	27
Lineárny rozsah	29
Linearita u rôznych genotypov CMV	31
Dolný limit kvantifikácie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO	33
Stanovenie dolného limitu kvantifikácie genotypov CMV a mutantov rezistentných voči liečivám	35
Nadväznosť na 1. medzinárodný štandard WHO	38
Presnosť	40
Potenciálne interferujúce látky	41
Špecifita	42
Analytická špecifita	43
Riedenie vzorky plazmy použitím negatívnej kontroly Aptima CMV (1 : 3)	44
Potvrdenie LoD a LLoQ použitím 1. medzinárodných štandardov WHO pre CMV zriedených v negatívnej kontrole CMV Aptima	45
Prenos	45
Korelácia metód	46
Reprodukovateľnosť	48
Klinický výkon	50
Klinická zhoda	50
Porovnanie metód	56
Priemerný párový rozdiel	61
Systémová chyba pri vybraných úrovniach vírusovej záťaže	62
Prípustný celkový rozdiel (ATD)	63
Literatúra	68
Kontaktné údaje a história revízií	69

Všeobecné informácie

Určené použitie

Aptima® CMV Quant je in vitro test amplifikácie nukleových kyselín na kvantifikáciu DNA ľudského cytomegalovírusu v ľudskej EDTA plazme a plnej krvi v plne automatizovanom prístroji Panther® System.

Test Aptima CMV Quant je určený na použitie ako pomoc pri diagnostike a pri liečbe pacientov po transplantácii solídnych orgánov a pacientov po transplantácii hematopoetických kmeňových buniek.

Test Aptima CMV Quant nie je určený na použitie ako skriningový test na prítomnosť CMV v krvi alebo krvných produktoch.

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Ľudský CMV je všadeprítomný lineárny dvojlátkový DNA vírus s veľkosťou 240 kb, ktorý patrí do rodiny herpesov. V závislosti od skúmanej populácie a geografickej oblasti sa séroprevencia CMV pohybuje od 45 do 100 % na celom svete.^{1,2} U imunokompetentných hostiteľov je infekcia CMV vo všeobecnosti asymptomatická a samolimitovaná. U jedincov s oslabenou imunitou, ako sú príjemcovia transplantátu a jedinci infikovaní vírusom ľudskej imunodeficiencie, je CMV dôležitou príčinou morbidity a mortality.

Podobne ako iné herpetické vírusy, CMV po primárnej infekcii vytvára celoživotnú latentnú infekciu, ktorá sa môže sporadicky reaktivovať. U príjemcov transplantátu môže prenos latentného CMV v transplantáte alebo reaktivácia latentnej infekcie CMV v hostiteľovi viesť k rozsiahlej replikácii vírusu a jeho rozšíreniu do viacerých orgánov, čo je často život ohrozujúce.³

Kvantitatívne testovanie amplifikácie nukleovej kyseliny je preferovanou metódou monitorovania infekcie CMV a ochorenia u príjemcov transplantátu, pretože je rýchle a citlivé.⁴ V najnovších usmerneniach sa odporúča aspoň týždenné monitorovanie vírusovej záťaže CMV, aby bolo možné rozhodnúť o začatí anti-CMV liečby a monitorovať odpoveď na liečbu.^{5,6,7,8} Vo všeobecnosti vyššie hodnoty vírusovej záťaže korelujú so zvýšeným rizikom CMV ochorenia.^{4,9} Kvantifikácia CMV DNA v spojení s klinickým obrazom a inými laboratórnymi markermi je teda rozhodujúca pri liečbe pacientov s infekciou vírusom CMV.

Princípy postupu

Test Aptima CMV Quant je in vitro test založený na amplifikácii nukleových kyselín, ktorý používa technológiu amplifikácie mediovej transkripciou (TMA) v reálnom čase v systéme Panther na kvantifikáciu CMV DNA, génotypov 1, 2, 3 a 4. Dizajn primeru sa zameriava na vysokokonzervovaný gén UL56, aby sa zabezpečila presná kvantifikácia CMV DNA. Test je štandardizovaný podľa 1. medzinárodného štandardu WHO (kód NIBSC: 09/162) pre ľudský cytomegalovírus.²¹

Test Aptima CMV Quant pozostáva z troch hlavných krokov, ktoré prebiehajú v jednej skúmavke v systéme Panther: záchyt cieľa, amplifikácia cieľa pomocou TMA a detekcia produktov amplifikácie (amplikónov) fluorescenčne značenými sondami (próby).

V priebehu záchytu cieľa sa zo vzoriek izoluje vírusová DNA. Vzorka je ošetrená detergentom, aby sa solubilizoval obal vírusu, denaturovali proteíny a uvoľnila genómová DNA vírusu. Zachytené oligonukleotidy hybridizujú do vysoko konzervovaných oblastí CMV

* Vrátane variantov systému Panther.

DNA (ak sú prítomné) v testovanej vzorke. Hybridizovaný cieľ sa potom zachytí na magnetické mikročastice, ktoré sa oddelia od vzorky v magnetickom poli. Na odstránenie cudzorodých komponentov z reakčnej skúmavky sa použijú kroky premývania.

Cieľová amplifikácia nastane prostredníctvom metódy TMA, čo je metóda amplifikácie kyseliny nukleovej prostredníctvom transkripcie, kde sa používajú dva enzýmy, reverzná transkriptáza z myšieho leukemického vírusu Moloney (MMLV) a T7 RNA polymeráza. Reverzná transkriptáza sa používa na získanie kópie DNA (obsahujúcej promótorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu) cieľovej sekvencie. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu z templátu DNA kópie.

Detekcia je dosiahnutá pomocou sond z jednovláknovej nukleovej kyseliny, ktoré sú prítomné v priebehu amplifikácie cieľa a hybridizujú špecificky na amplikón v reálnom čase. Každá sonda má fluorofór a zhášadlo. Ak sonda nie je hybridizovaná na amplikón, zhášadlo je v tesnej blízkosti fluorofóru a potlačí fluorescenciu. Keď sa sonda naviaže na amplikón, zhášadlo sa presunie do väčšej vzdialenosti od fluorofóru, ktorý bude po excitácii svetelným zdrojom vydávať signál so špecifickou vlnovou dĺžkou. S hybridizáciou ďalších sond na amplikón vznikne vyšší fluorescenčný signál. Doba, než fluorescenčný signál dosiahne špecifikovaný prah, je úmerná počiatočnej koncentrácii CMV. Každá reakcia má interný kalibrátor/internú kontrolu (IC) slúžiacu na kontrolu variácií v spracovaní vzorky, amplifikácii a detekcii. Koncentrácia vzorky je stanovená pomocou softvéru systému Panther na základe CMV a IC signálov pre každú reakciu a ich porovnaní s kalibračnými informáciami.

Výsledky testu sa prepočítajú z kópií/ml na IU/ml pomocou rovnice konverzného faktora zabudovanej v softvéri Panther. Rovnaká rovnica konverzného faktora sa používa pre vzorky plnej krvi aj plazmy. Keď je v systéme Panther zvolený konverzný faktor plnej krvi, na výsledky CMV vírusovej záťaže pre vzorky z plnej krvi sa aplikuje faktor riedenia 4.

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Základné UDI-DI). Dokument SSP pre test Aptima CMV Quant nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI):

54200455DIAGAPTCMVAP.

Varovania a bezpečnostné opatrenia

- A. Na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Na profesionálne použitie.
- C. Pred vykonaním tohto testu si pozorne prečítajte celý príbalový leták a príslušnú *prevádzkovú príručku k systému Panther/Panther Fusion*, aby ste znížili riziko neplatných výsledkov.

Súvisiace s laboratóriom

- D. UPOZORNENIE: Kontroly pre tento test obsahujú ľudskú plazmu. Plazma je podľa testovania postupmi licencovanými Úradom pre kontrolu potravín a liečiv USA negatívna na povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a HIV antigén. Okrem toho je plazma nereaktívna voči CMV DNA, HBV DNA, HCV RNA a HIV-1 RNA pri testovaní licencovanými testami nukleových kyselín za použitia spojených vzoriek. Všetok materiál pochádzajúci z ľudskej krvi je nutné považovať za potenciálne infekčný a pri práci s ním je nutné dodržiavať univerzálne bezpečnostné opatrenia.^{10,11,12}

- E. Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima CMV Quant a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- F. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- G. Použite rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčite. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí používajte jednorazové, bezprašné rukavice, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí si dôkladne umyte ruky.
- H. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2.5 % až 3.5 % (0.35 M až 0.5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- I. Všetky materiály, ktoré sa dostali do kontaktu so vzorkami a reagensiami, zlikvidujte v súlade s regionálnymi nariadeniami.^{10,11,12,13} Všetky pracovné plochy dôkladne očistite a vydezinfikujte.
- J. Kontroly obsahujú azid sodný ako konzervačné činidlo. Na prenos reagensí nepoužívajte kovové skúmavky. Ak roztoky obsahujúce zlúčeniny azidu sodného likvidujete vo vodovodnom systéme, musia byť zriedené a spláchnuté hojným množstvom tečúcej vody. Tieto bezpečnostné opatrenia sa odporúčajú, aby sa zabránilo nahromadeniu usadenín v kovových potrubíach, kde by mohli vzniknúť výbušné podmienky.
- K. Zásady dobrej praxe pre molekulárne laboratóriá zahŕňajú sledovanie prostredia. Pri sledovaní laboratórneho prostredia odporúčame nasledujúci postup:
 1. Zoberte si vatovú tyčinku a spárujte ju s alikvotálnou skúmavkou na vzorky Aptima (SAT).
 2. Príslušným spôsobom označte každú SAT.
 3. Naplňte každú SAT 1 ml prípravku na riedenie na vzorky Aptima.
 4. Pred zberom povrchových vzoriek zľahka navlhčite vatovú tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.
 5. Otrite požadovaný povrch vertikálnym pohybom zhora nadol. Pri otieraní lokality otočte tyčinku približne o polovicu otočky.
 6. Okamžite vložte vzorku na vatovej tyčinke do skúmavky a jemne tyčinku premiešajte vírením v prípravku na riedenie, aby ste extrahovali potenciálne ošetrené materiály. Pritlačte vatovú tyčinku o bočnú stranu prepravnej skúmavky a vyextrahujte čo najviac tekutiny. Zlikvidujte vatovú tyčinku a zatvorte skúmavku uzáverom.
 7. Zopakujte kroky u zostávajúcich sterových vzoriek.
 8. Otestujte sterový materiál molekulárnym testom.

Súvisiace so vzorkami

- L. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použijete univerzálne bezpečnostné opatrenia.^{10,11,12} Správne postupy manipulácie a likvidácie je nutné stanoviť na základe platných miestnych usmernení.¹¹ Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima CMV Quant a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.
- M. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu vzorky. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, sa nehodnotila.

- N. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní uzáverov zo vzoriek. Vzorky môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.

Súvisiace s testom

- O. V prípade neplatného výsledku v dôsledku chyby ML2 čistú vzorku plazmy netestujte znova. Pokyny na riedenie vzorky plazmy nájdete v *Postup testovania v systéme Panther*, krok E.5, v tomto príbalovom letáku.
- Poznámka:** V prípade chyby ML2 si pozrite prevádzkovú príručku k systému Panther/ Panther Fusion, kde nájdete pokyny na čistenie Mag Wash.
- P. Nepoužívajte súpravu reagensí, kalibrátor ani kontroly po dátume expirácie.
- Q. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagenty na test zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.
- R. Zabráňte kontaminácii reagensí mikróbmi a nukleázami.
- S. Uzavrite a uložte všetky reagenty na test pri špecifikovaných teplotách. Výkon testu môže byť ovplyvnený použitím nesprávne uskladnených reagensí na test. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentami a Postup testovania v systéme Panther*.
- T. Žiadne reagenty na test ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagenty ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagensí.
- U. Zabráňte kontaktu TER s pokožkou, očami a sliznicami. Ak dôjde ku kontaktu s touto reagentou, umyte vodou. Ak dôjde k vyliatiu tejto reagenty, zriedte vodou a postupujte podľa príslušných postupov pre vaše pracovisko.
- V. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené rizikovými a bezpečnostnými symbolmi.
- Poznámka:** Oznamenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie kariat bezpečnostných údajov EÚ (KBÚ). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v KBÚ pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com. Bližšie informácie o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese <http://www.hologic.com/package-inserts>

Informácie o nebezpečenstvách EÚ




Amplifikačná reagentia

Chlorid horečnatý 65 – 70 %

H412 - Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.

P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.

—	<p>Enzymatická reagentia <i>Triton X-100 1 – 5 %</i> <i>HEPES 1 – 5 %</i></p> <p>—</p> <p>H402 - Škodlivý pre vodné organizmy. P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.</p>
—	<p>Rekonštitučný roztok na enzýmy <i>Glycerol 20 – 25 %</i> <i>Triton X-100 5 – 10 %</i> <i>HEPES 1 – 5 %</i></p> <p>—</p> <p>H402 - Škodlivý pre vodné organizmy. P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.</p>
—	<p>Promotorová reagentia <i>Chlorid horečnatý 55 – 60 %</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.</p>
—	<p>Reagentia na zachytenie cieľa <i>HEPES 15 – 20 %</i> <i>Lítina soľ laurylsulfátu 5 – 10 %</i> <i>Kyselina jantárová 1 – 5 %</i> <i>Hydroxid lítny, monohydrát 1 – 5 %</i></p> <p>—</p> <p>H402 - Škodlivý pre vodné organizmy. P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.</p>
 	<p>Cieľová posilňovacia reagentia (TER) <i>Hydroxid lítny, monohydrát 5 – 10 %</i></p> <p>NEBEZPEČENSTVO H302 - Škodlivý po požití. H314 - Spôsobuje vážne poleptanie kože a poškodenie očí. P264 - Po manipulácii starostlivo umyte tvár, ruky a exponovanú pokožku. P270 - Pri používaní výrobku nejedzte, nepite ani nefajčite. P301 + P312 - PO POŽITÍ: Pri zdravotných problémoch volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. P330 - Vypláchnite ústa. P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov. P260 - Nevdychujte prach/dym/plyn/hmlu/pary/aerosóly. P280 - Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. P301 + P330 + P331 - PO POŽITÍ: vypláchnite ústa. NEVYVOLÁVAJTE zvracanie. P303 + P361 + P353 - PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi): Vyzlečte všetky kontaminované časti odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou [alebo sprchou]. P304 + P340 - PO VDÝCHNUTÍ: Presuňte osobu na čerstvý vzduch a umožnite jej pohodlne dýchať. P305 + P351 PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. P310 - Okamžite volajte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. P321 - Odborné ošetrenie (pozri doplnkové pokyny prvej pomoci na etikete). P363 - Kontaminovaný odev pred ďalším použitím vyperte. P405 - Uchovávajte uzamknuté.</p>
	<p>Súprava kontrol CMV <i>Ludské sérum/Ludská plazma 95 – 100 %</i> <i>Azid sodný < 1 %</i></p> <p>—</p> <p>H412 - Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov. P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.</p>

Kalibrátor súpravy**Lítina soľ laurylsulfátu 0 – 10 %****Kyselina jantárová 0 – 10 %**

- H402 - Škodlivý pre vodné organizmy.
 P273 - Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia.
 P501 - Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentami

A. Nasledujúca tabuľka uvádza podmienky skladovania a stability pre reagenty, kontroly a kalibrátor.

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagencia qCMV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzýmová reagencia qCMV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na enzýmy qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Promótorová reagencia qCMV	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok promótoru qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Reagencia na záchyt cieľa qCMV	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qCMV PCAL (pozitívny kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qCMV NC CONTROL – (negatívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qCMV LPC CONTROL + (nízko pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
qCMV HPC CONTROL + (vysoko pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová ampulka Použiť do 24 hodín
Cieľová posilňovacia reagencia qCMV	15 °C až 30 °C	15 °C až 30 °C	30 dní ^a

^a Po odstránení zo systému Panther je nutné reagenty ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

- B. Nepoužitú rekonštitučnú reagenty, reagenty na záchyt cieľa (TCR) a cieľovú posilňovaciu reagenty (TER) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- C. Reagenty uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 96 hodín. Reagenty je možné vložiť do systému Panther až 8-krát. Systém Panther zapisuje každé vloženie reagenty do protokolov.

- D. Po rozmrazení kalibrátora musí byť roztok priehľadný, tzn. nie zakalený a bez precipitátov. Zaistite rozpustenie precipitátov. Kalibrátor nepoužívajte, ak je prítomné želfirovanie, zrazenina alebo zahmlenie.
- E. Lyofilizovaná promótorová reagentia a rekonštituovaná promótorová reagentia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagentie pred svetlom.
- F. Cieľová posilňovacia reagentia qCMV musí mať pred použitím teplotu 15 °C až 30 °C.

Odber vzoriek a skladovanie

Poznámka: So všetkými vzorkami zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Pri manipulácii so vzorkami je nutné predísť krížovej kontaminácii. Napríklad použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Poznámka: Na skladovanie vzoriek odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.

Na prípravu plazmy je možné použiť vzorky plnej krvi odobrané do nasledujúcich sklenených alebo plastových skúmaviek:

- skúmavky obsahujúce antikoagulant EDTA
- skúmavky na prípravu plazmy (PPT)

A. Odber vzoriek

1. Plazma: Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Oddel'te plazmu od peletovaných erytrocytov podľa pokynov výrobcu použitej skúmavky. Plazmu je možné otestovať v systéme Panther v primárnej skúmavke alebo preniesť do sekundárnej skúmavky, ako napr. skúmavka na alikvotáciu vzoriek Aptima (SAT). Ak chcete získať 500 µl objemu vzorky, minimálny objem plazmy pre primárne odberové skúmavky je až 1 200 µl. Pri sekundárnych skúmavkách je na získanie 500 µl objemu vzorky potrebný minimálny objem 700 µl. Nasledujúca tabuľka identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky.

Skúmavka (veľkosť a typ)	Mŕtvy objem v systéme Panther
Alikvotačná skúmavka na vzorky Aptima (SAT)	0.2 ml
12 x 75 mm	0.5 ml
13 x 100 mm	0.5 ml
13 x 100 mm s géloom	0.3 ml
16 x 100 mm s géloom	0.7 ml

Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu je možné skladovať v súlade so špecifikáciami uvedenými nižšie. Pri prenose do sekundárnej skúmavky sa môže plazma zmraziť pri teplote -20 °C alebo -70 °C. Neprekračujte 3 cykly zmrazenia a rozmrazenia. Nezmrazujte vzorky plazmy v primárnych odberových skúmavkách s EDTA.

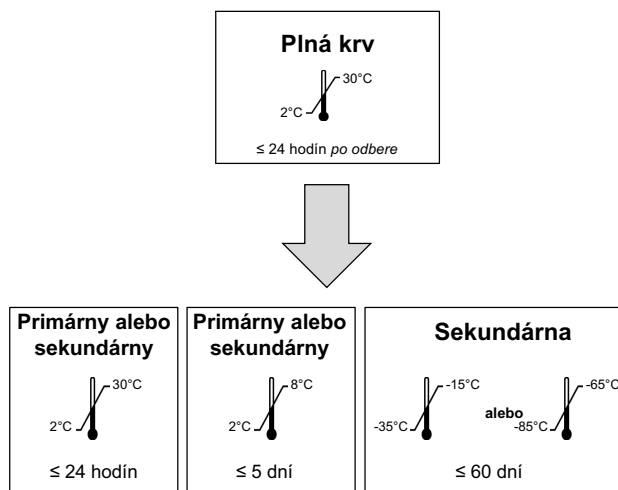
2. Pred testovaním v systéme Panther sa musí plná krv spracovať pomocou vopred naplnených skúmaviek s riedidlom na plnú krv. Neprekračujte 3 cykly zmrazenia a rozmrazenia pri nespracovaných vzorkách plnej krvi.

B. Podmienky skladovania vzoriek

1. Vzorky plazmy s EDTA

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v primárnej odberovej skúmavke alebo sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote -20 °C alebo -70 °C po dobu až 60 dní.

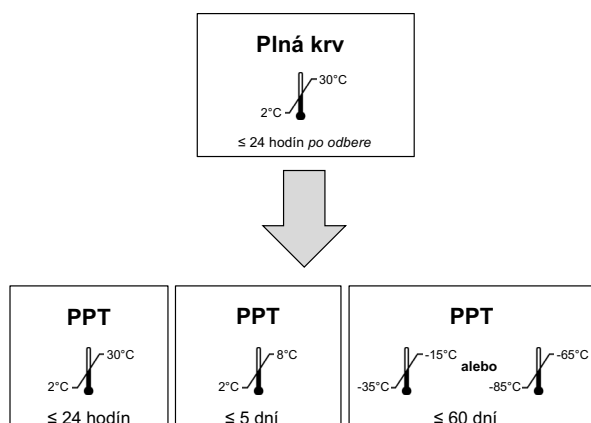


Obrázok 1. Podmienky skladovania pre skúmavky s EDTA

2. Vzorky PPT

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Plazmu je možné následne uchovávať v jednom z nasledujúcich prostredí:

- v skúmavke s PPT pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín,
- v skúmavke s PPT pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v skúmavke s PPT pri teplote -20 °C alebo -70 °C po dobu až 60 dní.



Obrázok 2. Podmienky skladovania vzoriek PPT

3. Riedenie vzoriek plazmy

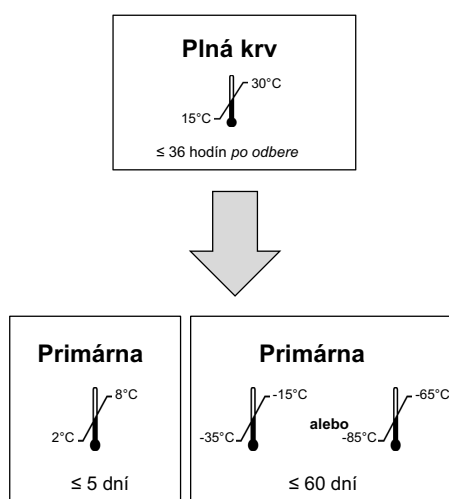
Vzorky plazmy je možné riediť v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie v systéme Panther. Pre viac informácií pozri *Postup testovania v systéme Panther*, krok E.5 nižšie

Poznámka: Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení. Nezmrazujte nariedené vzorky.

4. Vzorky plnej krvi

Plnú krv možno skladovať pri teplote 15 °C až 30 °C po dobu až 36 hodín po odbere vzorky. Odoberatú plnú krv možno skladovať pri jednej z nasledujúcich podmienok:

- v primárnej odberovej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dní alebo
- v primárnej odberovej skúmavke pri teplote -20 °C alebo -70 °C po dobu až 60 dní.



Obrázok 3. Podmienky skladovania vzoriek plnej krvi

Vzorky v systéme Panther

Vzorky plazmy a spracovanej plnej krvi je možné ponechať v systéme Panther neuzatvorené až 8 hodín. Vzorky je možné vytiahnuť zo systému Panther a otestovať, kým celková doba v prístroji neprekročí 8 hodín pred pipetovaním vzorky systémom Panther.

Preprava vzoriek

Dodržiavajte podmienky pre skladovanie vzorky podľa popisu v časti *Odber vzoriek a skladovanie*.

Poznámka: Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami týkajúcimi sa prepravy.

Systém Panther

Reagencie pre test Aptima CMV Quant sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagensov sú uvedené aj vedľa názvu reagensov.

Poskytnuté reagencie a materiály

Súprava testu Aptima CMV Quant, 100 testov (kat. č. PRD-05074)

(1 balenie testu, 1 balenie cieľovej posilňovacej reagensie, 1 súprava kalibrátora a 1 súprava kontrol)

Balenie testu Aptima CMV Quant

(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	Amplifikačná reagensia qCMV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 ampulka
E	Enzymová reagensia qCMV <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.</i>	1 ampulka
PRO	Promótorová reagensia qCMV <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 ampulka
AR	Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qCMV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 7.2 ml
ER	Rekonštitučný roztok na enzýmy qCMV <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 x 5.8 ml
PROR	Rekonštitučný roztok promótoru qCMV <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 4.5 ml
TCR	Reagensia na záchyt cieľa qCMV <i>Nukleové kyseliny v pufrovanom fyziologickom roztoku obsahujúcom pevnú fázu, neinfekčné nukleové kyseliny a interný kalibrátor.</i>	1 x 72.0 ml
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Balenie cieľovej posilňovacej reagentie Aptima CMV Quant

(po prijatí uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
TER	Cieľová posilňovacia reagentia qCMV <i>Koncentrovaný roztok hydroxidu lítneho.</i>	1 x 46.0 ml

Súprava kalibrátora Aptima CMV Quant (kat. č. PRD-05075)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL	Pozitívny kalibrátor qCMV <i>Plazmidová DNA v pufovanom roztoku.</i>	5 x 2.5 ml
	Štítek s čiarovým kódom kalibrátora	—

Súprava kontrol Aptima CMV Quant(kat. č. PRD-05076)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
NC	Negatívna kontrola qCMV <i>CMV-negatívna defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0.2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 x 0.8 ml
LPC	Nízka pozitívna kontrola qCMV <i>Inaktivovaná CMV defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0.2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 x 0.8 ml
HPC	Vysoká pozitívna kontrola qCMV <i>Inaktivovaná CMV defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0.2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 x 0.8 ml
	Štítek s čiarovým kódom kontroly	—

Potrebné materiály predávané samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. Č.
Systém Panther®	303095
Systém Panther Fusion®	PRD-04172
Systém Panther, kontinuálny prívod a odtok (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava Panther pre testy v reálnom čase (iba pre testy v reálnom čase)	PRD-03455 (5 000 testov)
<i>Súprava kvapalín testu Aptima® (takisto označovaná ako súprava univerzálnych kvapalín) obsahuje premývací roztok Aptima, pufer na deaktiváciu kvapaliny Aptima, a olejovú reagensiu Aptima.</i>	303014 (1 000 testov)
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther</i>	902731
<i>Kryt odpadkového koša Panther</i>	504405
Alebo súprava systému Panther <i>(pri paralelnom vykonávaní testov TMA v nereálnom čase s testami TMA v reálnom čase) obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, tekutinu na automatickú detekciu a testové kvapaliny</i>	303096 (5 000 testov)
Skúmavky na riedenie plnej krvi (len na spracovanie vzoriek plnej krvi)	PRD-06783 (100 predplnených skúmaviek vo vrecku)
Špičky, 1 000 µl s filtrom, vodivé, so snímaním kvapaliny a jednorazové	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bielidlo, 5 % až 8.25 % (0.7 M až 1.16 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové bezpráškové rukavice	—
Náhradné nepreniknuteľné uzávery	103036A
Náhradné pevné uzávery Hologic (jednorazové uzávery skúmaviek na spracovanie plnej krvi)	PRD-06720
Náhradné uzávery na reagensie	
<i>Amplifikačná, enzymatická a promótorová reagensia rekonštitučné fľaštičky</i>	CL0041 (100 uzáverov)
<i>fľaštička TCR</i>	CL0040 (100 uzáverov)
<i>fľaštička TER</i>	903302 (100 uzáverov)
Plastové kryty na laboratórne stoly	—
Utierky nepúšťajúce vlas	—
Pipetovač	—
Tips (Špičky)	—
Možnosti primárnych odberových skúmaviek (EDTA a PPT):	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Centrifúga	—
Vortexové miešadlo	—

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. Č.
Možnosti pre sekundárnu skúmavku:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Alikvotačné skúmavky vzorky Aptima (SAT) (balenie po 100 kusoch)	FAB-18184
Uzáver prepravnej skúmavky (100 ks v balení) uzáver pre SAT	504415
Riediaci prípravok na vzorky Aptima	PRD-03003
Súprava prípravku na riedenie vzoriek Aptima obsahuje prípravok na riedenie vzoriek Aptima, 100 SAT a 100 uzáverov	PRD-03478
Transferové pipety	—
Vatové tyčinky	—
Trepačka skúmaviek	—

Postup testovania v systéme Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch nájdete v príslušnej prevádzkovej príručke k systému Panther/Panther Fusion.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Vyčistíte pracovné povrchy, kde budú pripravené reagensy. Pracovné plochy utrite 2.5 % až 3.5 % (0.35 M až 0.5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Zakryte povrch pracovného stola čistými absorpčnými krytmi na laboratórny stôl podlepenými plastom.
2. Vyčistíte samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).
3. Vyčistíte prípadné pipety. Pri čistení postupujte podľa pokynov vyššie (krok A.1).

B. Príprava kalibrátora a kontrol

Pred spracovaním ponechajte kalibrátor a kontroly dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C:

1. Vytiahnite kalibrátor a kontroly zo skladovacieho priestoru (-15 °C až -35 °C) a uložte ju do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Po celú dobu rozmrazovania jemne prevráťte každú skúmavku a starostlivo premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť. Skúmavky kalibrátora a kontrol je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Poznámka: Pri prevracaní kalibrátora a kontrol zabráňte nadmernému peneniu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.

2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Rekonštitúcia/príprava reagensí novej súpravy

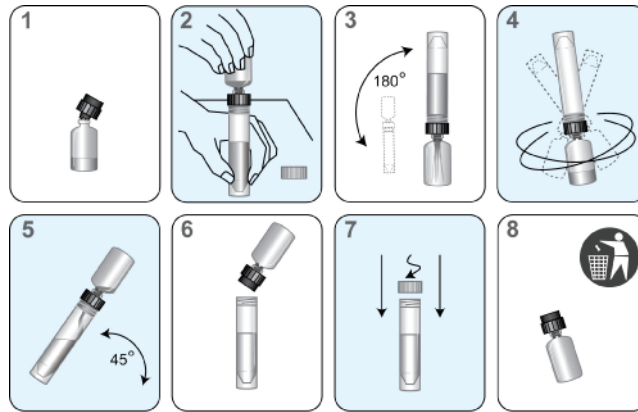
Poznámka: Rekonštitúciu reagensí je nutné vykonať pred zahájením akýchkoľvek postupov na systéme Panther.

1. Pri príprave reagensie na záchyt cieľa (TCR) postupujte nasledovne:
 - a. Vytiahnite TCR zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Skontrolujte číslo šarže na fľaštičke s TCR, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.
 - b. Fľaštičku s TCR ihneď starostlivo 10-krát premiešajte. Ponechajte fľaštičku TCR v prostredí s teplotou 15 °C až 30 °C minimálne 45 minút, aby sa zahriala. Po toto obdobie miešajte fľaštičku TCR vírením a prevracaním minimálne raz za 10 minút.

Možnosť. Fľaštičku TCR je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite fľaštičku TCR zo skladovacieho prostredia (2 °C až 8 °C) a ihneď starostlivo 10-krát pretrepte. Vložte TCR fľaštičku na miešačku a ponechajte TCR pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 45 minút.
 - c. Pred použitím sa uistite, že sa všetok precipitát dostal do roztoku a že sú magnetické čiastočky suspendované.
2. Pri rekonštitúcii amplifikačných, enzýmových a promótorových reagensí postupujte nasledujúcim spôsobom:
 - a. Vytiahnite lyofilizované reagensie a príslušné rekonštitučné roztoky zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagensiou.
 - b. Skontrolujte, že rekonštitučný roztok a lyofilizovaná reagensia majú zodpovedajúce farby štítkov. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné reagensie.
 - i. Otvorte ampulku lyofilizovanej reagensie odstránením kovovej pečate a gumovej zátky.
 - ii. Pevne pripojte koniec rekonštitučnej objímky so zárezom (čierny) na ampulku (Obrázok 4, krok 1).
 - iii. Otvorte príslušnú fľaštičku s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.
 - iv. Uložte fľaštičku s rekonštitučným roztokom na stabilný povrch (napr. stôl). Následne prevráťte ampulku s lyofilizovanou reagensiou cez fľaštičku s rekonštitučným roztokom a pevne pripojte objímku k fľaštičke s rekonštitučným roztokom (Obrázok 4, krok 2).
 - v. Pomaly prevráťte prepojené fľaštičky (ampulka pripojená k fľaštičke s roztokom), aby roztok vtekol do sklenenej ampulky (Obrázok 4, krok 3).
 - vi. Zdvihnite prepojené hadičky a vírte nimi aspoň 10 sekúnd (Obrázok 4, krok 4).
 - vii. Počkajte minimálne 30 minút, než sa lyofilizovaná reagensia dostane do roztoku.
 - viii. Po vstupe lyofilizovanej reagensie do roztoku vírte prepojenými fľaštičkami minimálne 10 sekúnd. Potom ľahkým nakláňaním sklenenej ampulky dopredu a dozadu dobre premiešajte roztok.
 - c. Pomaly znovu nakloňte prepojené fľaštičky, aby všetok roztok stiekol späť do fľaštičky s rekonštitučným roztokom (Obrázok 4, krok 5).
 - d. Opatrne odstráňte rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku (Obrázok 4, krok 6).

- e. Znovu uzatvorte fľaštičku. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 4, krok 7).
- f. Zahodzte rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku (Obrázok 4, krok 8).

Varovanie: Pri rekonštitúcii reagensii zabráňte nadmernému peneniu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.



Obrázok 4. Proces rekonštitúcie reagensie

3. Vytiahnite cieľovú posilňovaciu reagensiu qCMV zo skladovacieho priestoru (15 °C až 30 °C). Na štítku zaznamenajte iniciály operátora a dátum otvorenia. Skontrolujte číslo šarže na fľaštičke s TER, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na hlavnom liste s čiarovými kódmi šarží.

D. Príprava reagensii pre predtým pripravené reagensie

1. Vytiahnite predtým pripravené reagensie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Predtým pripravené amplifikačné, enzýmové a promótorové reagensie a TCR musia dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C pred začiatkom testu.
2. Vytiahnite TER zo skladovacieho priestoru (15 °C až 30 °C).
3. V prípade predtým pripraveného TCR postupujte pred vložením do systému podľa kroku C.1.
4. Vírením a prevrátením amplifikačnej, enzýmovej a promótorovej reagensie starostlivo premiešajte pred vložením do systému. Pri prevracaní reagensii zabráňte nadmernému peneniu.

Možnosť. Predtým pripravené reagensie je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite reagensie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Položte reagensie na trepačku a ponechajte pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 30 minút.

5. Fľaštičky reagensii nedoplňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaštičky, ktoré boli doplnené.

E. Manipulácia so vzorkami plazmy

1. Skontrolujte, či spracované vzorky v primárnych skúmavkách alebo neriedené vzorky v sekundárnych skúmavkách boli adekvátne uskladnené podľa *Odber vzoriek a skladovanie*.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Poriadne premiešajte rozmrazené vzorky v trepačke po dobu 3 až 5 sekúnd.

3. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther*.
4. Uistite sa, že každá primárna odberová skúmavka obsahuje až 1 200 µl vzorky alebo každá sekundárna skúmavka obsahuje minimálne 700 µl vzorky. Tabuľka v časti *Odber vzoriek* identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky. Ak je potrebné riedenie vzorky plazmy v prípadoch malého objemu vzorky a/alebo v prípadoch, ktoré vyžadujú opakované testovanie, preštudujte si ďalšie informácie v kroku E.5 nižšie.
5. Riedenie vzoriek plazmy

Vzorky plazmy je možné zriediť v pomere 1 : 3 v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie v systéme Panther.

a. Rozmrazenie negatívnej kontroly Aptima CMV

- i. Vytiahnite jednu skúmavku s negatívnou kontrolou zo skladovacieho priestoru (-15 °C až -35 °C) a uložte ich do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Po celú dobu rozmrazovania jemne prevráťte skúmavku a dôkladne premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť: Kontrolnú skúmavku je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

- ii. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
- iii. Zatiaľ skúmavku neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

b. Riedenie vzoriek plazmy

Poznámka: Ak je vzorka nariadená, je nutné test vykonať ihneď po príprave riedenia.

- i. Vložte 240 µl vzorky do SAT.
- ii. Pridajte 480 µl negatívnej kontroly.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariadené v pomere 1 : 3 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 3 na systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke k systému Panther/Panther Fusion*). Softvér automaticky nahlási čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariadené vzorky.

6. Pred vložením vzoriek do stojana na vzorky centrifugujte každú vzorku pri odstredivej sile 1 000 až 3 000 g počas 10 minút. V tomto kroku neodstraňujte uzávery.

Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v kroku G.2 nižšie.

F. Manipulácia so vzorkou plnej krvi

1. Skontrolujte, že nespracované vzorky v primárnych skúmavkách sú adekvátne uskladnené podľa *Odber vzoriek a skladovanie*.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther*.
3. Jemne prevráťte skúmavky s plnou krvou aspoň 3-krát, alebo ich jemne premiešavajte na trepačke dovtedy, kým nebude krv homogénna.

4. Pred spracovaním vzoriek vykonajte pre každú vzorku nasledujúci postup.
 - a. Krv v primárnych skúmavkách sa musí dôkladne premiešať prevracaním a vzorka sa musí ihneď preniesť do skúmavky, ktorá obsahuje riedidlo na plnú krv.
 - b. Pridajte 500 µl vzorku plnej krvi do vopred naplnenej skúmavky s riedidlom na plnú krv.
 - c. Vymeňte uzáver a premiešajte vzorku na vortexe aspoň 5 sekúnd.Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v kroku G.2 nižšie.

G. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *prevádzkovej príručke k systému Panther/Panther Fusion* a v časti *Poznámky k postupu*. Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky do stojana na vzorky. Vykonajte nasledujúce kroky pre každú skúmavku na vzorky (vzorka a v prípade potreby kalibrátor a kontroly):
 - a. Uvoľnite uzáver jednej skúmavky na vzorky, ale neodstraňujte ho.

Poznámka: Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľnite uzávery na vzorkách.
 - b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
 - c. Zopakujte kroky 2.a a 2.b pre každú zostávajúcu vzorku.
 - d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vytiahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.
 - e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety. Bubliny v skúmavke interferujú so snímaním hladiny v systéme Panther.
 - f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.

Poznámka: Ak súčasne spracovávate ďalšie testy a typy vzoriek, zaistite zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.
 - g. Zopakujte kroky 2.a až 2.f pre ďalší stojan na vzorky.

H. Príprava systému - použitie konverzného faktora pre vzorky plnej krvi.

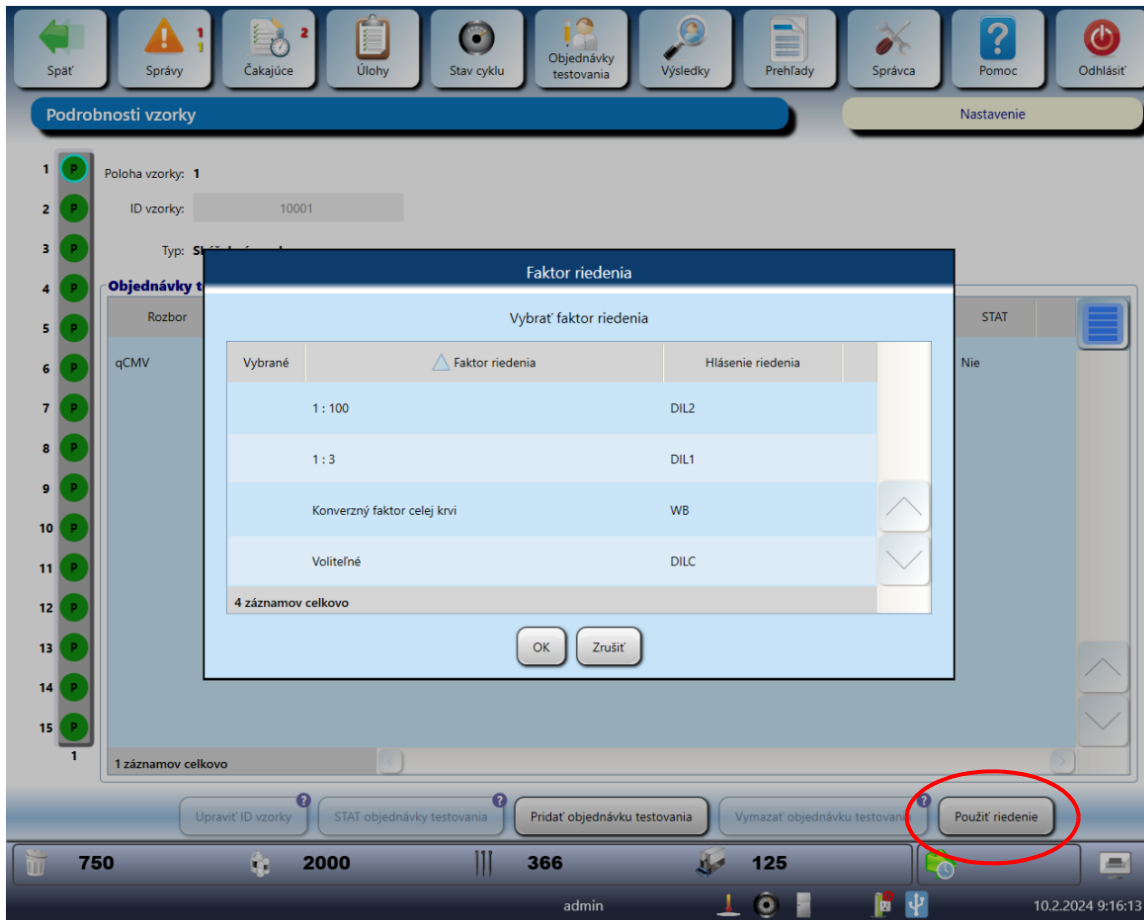
1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *prevádzkovej príručke k systému Panther/Panther Fusion*.
2. Vložte stojan na vzorky.
3. Použite konverzný faktor plnej krvi pre testové príkazy vzoriek plnej krvi.

Poznámka: Konverzný faktor plnej krvi sa môže použiť na celý stojan alebo na jeden testový príkaz.

Použitie konverzného faktora plnej krvi na celý stojan so vzorkami plnej krvi:

- a. Na obrazovke *Rezervoár na stojan na vzorky* dvakrát kliknite na vložený stojan záujmu. Objaví sa obrazovka *Vkladanie stojana so vzorkami* pre zvolený stojan.
- b. Vyberte možnosť **Riediť všetky**.

Objaví sa okno Faktor riedenia.



Obrázok 6. Okno Faktor riedenia na obrazovke Podrobnosti vzorky (príklad)

- e. Vyberte **Konverzný faktor celej krvi**.
 - f. Vyberte **OK**, ak chcete použiť príznak konverzného faktora plnej krvi na všetky vybrané testové príkazy.
4. V prípade potreby je možné pred spustením spracovania odstrániť konverzný faktor pre plnú krv z testového príkazu.

Postup vymazania konverzného faktora plnej krvi z celého stojana:

1. Na obrazovke *Rezervoár na stojan na vzorky* dvakrát kliknite na vložený stojan záujmu. Objaví sa obrazovka *Vkladanie stojana so vzorkami* pre zvolený stojan.
2. Vyberte možnosť **Riediť všetky**.
3. Z okna *Faktor riedenia* zrušte označenie možnosti **Konverzný faktor celej krvi**.
4. Zvoľte tlačidlo **OK**.
Objaví sa okno *Nastaviť faktor riedenia pre stojan*.
5. Výberom možnosti **Áno** vymažete konverzný faktor plnej krvi z celého stojana.

Postup vymazania testových príkazov s konverzným faktorom plnej krvi:

1. Z obrazovky *Rezervoár na stojan na vzorky* dvakrát kliknite na vložený stojan so vzorkou (vzorkami) záujmu.

- Objaví sa obrazovka *Vkladanie stojana so vzorkami* pre zvolený stojan na vzorky.
2. Na obrazovke *Vkladanie stojana so vzorkami* dvakrát kliknite na vzorku záujmu.
Objaví sa obrazovka *Podrobnosti vzorky* s aktuálnymi testovými príkazmi pre zvolenú vzorku.
3. Z panela *Objednávky testovania* zvolte testový príkaz záujmu.
4. Vyberte možnosť **Použiť riedenie**.
5. Z okna *Faktor riedenia* zrušte označenie možnosti **Konverzný faktor celej krvi**.
6. Výberom možnosti **OK** odstránite konverzný faktor plnej krvi z testového príkazu.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Skúmavky obsahujúce pozitívny kalibrátor qCMV, nízko pozitívnu kontrolu qCMV, vysoko pozitívnu kontrolu qCMV a negatívnu kontrolu qCMV je možné vložiť do akejkoľvek polohy v stojane na vzorky a do akejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky v systéme Panther. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Kalibrátor a kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátor a kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a kontrolou a ich spracovaní pre súpravu reagensí na test Aptima CMV Quant je možné vzorky testovať pomocou spojenej rekonštitučnej súpravy až 24 hodín, **pokiaľ nenastane nasledujúce**:
 - a. Výsledky kalibrátora alebo kontroly sú neplatné.
 - b. Súprava pridruženej reagensie na test sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženej reagensie na test prekročila limity stability.
3. Kalibrátor a každú skúmavku kontroly je možné použiť iba raz. Pokusy o opakované použitie skúmavky môžu viesť k chybám spracovania.

B. Prášok rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný prášok na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa bezprašné rukavice.

Kontrola kvality

Obsluha môže zrušiť platnosť cyklu alebo výsledku vzorky v prípade zdokumentovaných problémov technického charakteru, s obsluhou alebo prístrojom pri vykonávaní testu. V takom prípade je nutné vzorky znovu otestovať.

Vzorky s neplatnými výsledkami je nutné otestovať znova, aby sa získal platný výsledok.

V prípade neplatného výsledku v dôsledku chyby ML2 čistú vzorku plazmy netestujte znova. Pokyny na riedenie vzorky nájdete v *Postup testovania v systéme Panther*, krok E.5, v tomto príbalovom letáku.

Poznámka: V prípade chyby ML2 si pozrite prevádzkovú príručku k systému Panther/ Panther Fusion, kde nájdete pokyny na čistenie Mag Wash.

Kalibrácia testu

Je nutné ukončiť kalibráciu testu, aby ste získali platné výsledky. Jeden pozitívny kalibrátor sa spracuje trikrát pri vložení každej súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení bude kalibrácia platná až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď bude nutné vykonať kalibráciu. Operátor naskenuje kalibračný koeficient uvedený na liste čiarových kódov hlavnej šarže dodávanom s každou súpravou reagensí.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kalibrátora. Ak sú platné menej než dve opakovania kalibrátora, softvér cyklus automaticky vyhlási za neplatný. Vzorky v neplatnom cykle je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol testu. Jedno opakovanie negatívnej kontroly, nízko pozitívnej kontroly a vysoko pozitívnej kontroly je nutné otestovať pri každom vložení súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení budú kontroly platné až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď bude nutné spracovať kontroly.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kontrol. Aby boli výsledky platné, negatívna kontrola musí poskytnúť výsledok „Not Detected“ (Nedetegované) a pozitívne kontroly výsledky v rámci preddefinovaných parametrov. Ak majú akékoľvek kontroly neplatný výsledok, softvér automaticky zruší platnosť cyklu. Vzorky v neplatnom cykle je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Interný kalibrátor/interná kontrola

Každá vzorka obsahuje interný kalibrátor/internú kontrolu (IC). V priebehu spracovania softvér systému Panther automaticky overí kritériá prijateľnosti IC. Ak je výsledok IC neplatný, výsledok vzorky bude neplatný tiež. Každú vzorku s neplatným výsledkom IC je nutné znovu otestovať, aby ste dostali platný výsledok.

Softvér systému Panther je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a *prevádzkovej príručke k systému Panther/Panther Fusion*.

Interpretácia výsledkov

Systém Panther automaticky stanoví koncentráciu CMV DNA pre vzorky a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Koncentrácie CMV DNA sa uvádzajú v IU/ml a \log_{10} IU/ml. Interpretáciu výsledkov uvádza Tabuľka 1 a Tabuľka 2. Ak je v systéme Panther použitá možnosť riedenia plnej krvi alebo plazmy, softvér automaticky vypočíta koncentráciu CMV DNA pre čistú vzorku vynásobením riedenej koncentrácie faktorom riedenia. Výsledky vzorky budú označené vlajkou.

Poznámka: U riedených vzoriek plazmy sa môžu objaviť výsledky „Not Detected“ (Nedetegované) alebo „< 53 detected“ (Detegované < 53) v dôsledku nariadenia vzorky na koncentráciu vyššiu, ale blízku LoD (limit detekcie) alebo LLoQ (dolný limit kvantifikácie). Ak ste nezískali kvantitatívny výsledok, odporúčame odobrať a otestovať inú čistú vzorku.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledku plazmy

Hlásený výsledok testu Aptima CMV Quant		Interpretácia
IU/ml	Hodnota \log_{10}	
Nedetegovaný	Nedetegovaný	CMV DNA nedetegovaná.
< 53 detegovaných	< 1.72	CMV DNA je detegovaná, ale na úrovni pod dolným limitom kvantifikácie (LLoQ).
53 až 10 000 000	1.72 až 7.00	Koncentrácia CMV DNA je v kvantitatívnom rozmedzí od LLoQ do ULoQ IU/ml.
> 10 000 000	> 7.00	Koncentrácia CMV DNA je nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ).
Neplatné ^a	Neplatné ^a	Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Vzorku je nutné opätovne otestovať.

^a Neplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

Tabuľka 2: Interpretácia výsledku plnej krvi

Hlásený výsledok testu Aptima CMV Quant		Interpretácia
IU/ml	Hodnota \log_{10}	
Nedetegovaný	Nedetegovaný	CMV DNA nedetegovaná.
< 176 detegovaných	< 2.24	CMV DNA je detegovaná, ale na úrovni pod dolným limitom kvantifikácie (LLoQ).
176 až 10 000 000	2.24 až 7.00	Koncentrácia CMV DNA je v kvantitatívnom rozmedzí od LLoQ do ULoQ IU/ml.
> 10 000 000	> 7.00	Koncentrácia CMV DNA je nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ).
Neplatné ^a	Neplatné ^a	Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Vzorku je nutné opätovne otestovať.

^a Neplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

Poznámka: V prípade zriedených vzoriek plazmy systém Panther oznámi výsledky vyššie ako ULoQ (horný limit kvantifikácie) s použitím vedeckej notácie, ak je výsledok zriedenej vzorky v rozsahu testu pred použitím faktora zriedenia.

Kritériá prijateľnosti pre jednotlivé kontroly testu Aptima CMV Quant sú uvedené v Tabuľka 3.

Poznámka: Rozsah zachytenia uvedený nižšie sa posúva na základe pridelenej hodnoty jednotlivých šarží. Pozrite si priradenú koncentráciu uvedenú na vloženom liste kontrolného čiarového kódu, ktorý sa poskytuje s každým kontrolným balením.

Tabuľka 3: Kritéria prijateľnosti pre rozsah výťažnosti pre test Aptima CMV Quant

Komponent	Rozsah zachytenia pre platné cykly
Negatívna kontrola	Nevzťahuje sa
Nízka pozitívna kontrola	+/- 0.6 log ₁₀ kópií/ml
Vysoká pozitívna kontrola	+/- 0.5 log ₁₀ kópií/ml

Obmedzenia

- A. Použitie tohto testu je obmedzené na personál, ktorý je vyškolený v danom postupe. Nedodržanie pokynov uvedených v tomto príbalovom letáku môže viesť k chybným výsledkom.
- B. Spoľahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu vzoriek, transportu, uchovávaní a spracovania.
- C. Mutácie vo vysoko konzervovaných oblastiach vírusového genómu krytých primermi a/alebo sondami v teste Aptima CMV Quant, aj keď vzácné, môžu viesť k zníženej kvantifikácii alebo nedetegovaniu vírusu.

Analytický výkon

Limit detekcie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO

Limit detekcie (LoD) testu je definovaný ako koncentrácia CMV DNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa dokumentu CLSI EP17-A2.14

Limit detekcie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO v plazme

LoD sa stanovil testovaním panelov 1. medzinárodného štandardu WHO (kód NIBSC 09/162)²¹ pre CMV zriedený v CMV-negatívnej ľudskej plazme. Testovalo sa 60 opakovaní každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, celkovo 180 opakovaní na riedenie. Bola vykonaná probitová analýza s cieľom získať predikované limity detekcie. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 4 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie. LoD pre test Aptima CMV Quant s použitím 1. medzinárodného štandardu WHO je 40.7 IU/ml pre plazmu.

Tabuľka 4: Limit detekcie plazmy podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV

Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)
10 %	1.9
20 %	2.9
30 %	4.0
40 %	5.3
50 %	6.9
60 %	9.1
70 %	12.2
80 %	17.1
90 %	27.5
95 %	40.7

Limit detekcie podľa 1st. medzinárodného štandardu WHO v plnej krvi

LoD sa stanovil testovaním panelov 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV zriedený v CMV-negatívnej plnej krvi. Testovalo sa 60 opakovaní každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, celkovo 180 opakovaní na riedenie. Bola vykonaná probitová analýza s cieľom získať predikované limity detekcie. Hodnoty LoD uvedené v Tabuľka 5 sú výsledkom pre šaržu reagensí s najvyšším predikovaným limitom detekcie. LoD testu Aptima CMV Quant podľa 1. medzinárodného štandardu WHO je 131.0 IU/ml pre plnú krv.

Tabuľka 5: Limit detekcie plnej krvi podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV

Predikovaný limit detekcie	Koncentrácia (IU/ml)
10 %	8.8
20 %	13.2
30 %	17.7
40 %	22.7
50 %	28.7
60 %	36.2
70 %	46.5
80 %	62.4
90 %	93.7
95 %	131.0

Limit detekcie genotypov CMV a mutantov rezistentných voči liečivám

Limit detekcie genotypov CMV a mutantov rezistentných voči liečivám v plazme

LoD sa overil pre tri rôzne genotypy na základe sekvencie glykoproteínu B⁷ (gB-2, gB-3, gB-4) a mutantov rezistentných voči liečivám testovaním rôznych koncentrácií CMV okolo stanoveného LoD pre plazmu s použitím 1. medzinárodného štandardu WHO (genotyp gB-1). Testovanie sa vykonalo s 30 opakovaniami na člena panelu na jednu šaržu reagentie s použitím dvoch šarží reagentií Aptima CMV Quant. Najvyšší LoD overený pre všetky tri genotypy a mutanty rezistentné voči liečivám bol 40 IU/ml pri použití oboch šarží reagentií.

Poznámka: Výkon testu Aptima CMV Quant s mutáciami CMV rezistentnými voči liečivám sa hodnotil len vo vzorkách plazmy.

Tabuľka 6: Limit detekcie genotypov CMV a mutantov rezistentných voči liečivám v plazme

Genotypy/mutanty	Koncentrácia (IU/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Mutanty UL54 a UL97 rezistentné voči liečivám*	35
Mutant UL56 rezistentný voči liečivám**	35

* Mutácie génu UL54 môžu viesť ku skříženej rezistencii voči viacerým antivirotikám na liečbu infekcie CMV, ako sú ganciklovir (GCV), cidofovir (CDV) a foskarnet (PFA). Mutácie génu UL97 vedú aj k rezistencii voči gancikloviru (GCV).

** Mutácie génu UL56 vedú k rezistencii voči letermoviru (LET).

Celková hodnota LoD v plazme je 40.7 IU/ml.

Limit detekcie rôznych genotypov CMV v plnej krvi

LoD sa overil pre tri rôzne genotypy glykoproteínu B (gB-2, gB-3 a gB-4) testovaním rôznych koncentrácií CMV okolo stanoveného LoD pre plnú krv s použitím 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV (genotyp gB-1). Testovanie sa vykonalo s 30 opakovaniami na člena panelu na jednu šaržu reagentie s použitím dvoch šarží reagentie Aptima CMV Quant. Najvyšší LoD overený pre všetky tri genotypy bol 150 IU/ml pri použití oboch šarží reagentie.

Tabuľka 7: Limit detekcie rôznych genotypov CMV v plnej krvi

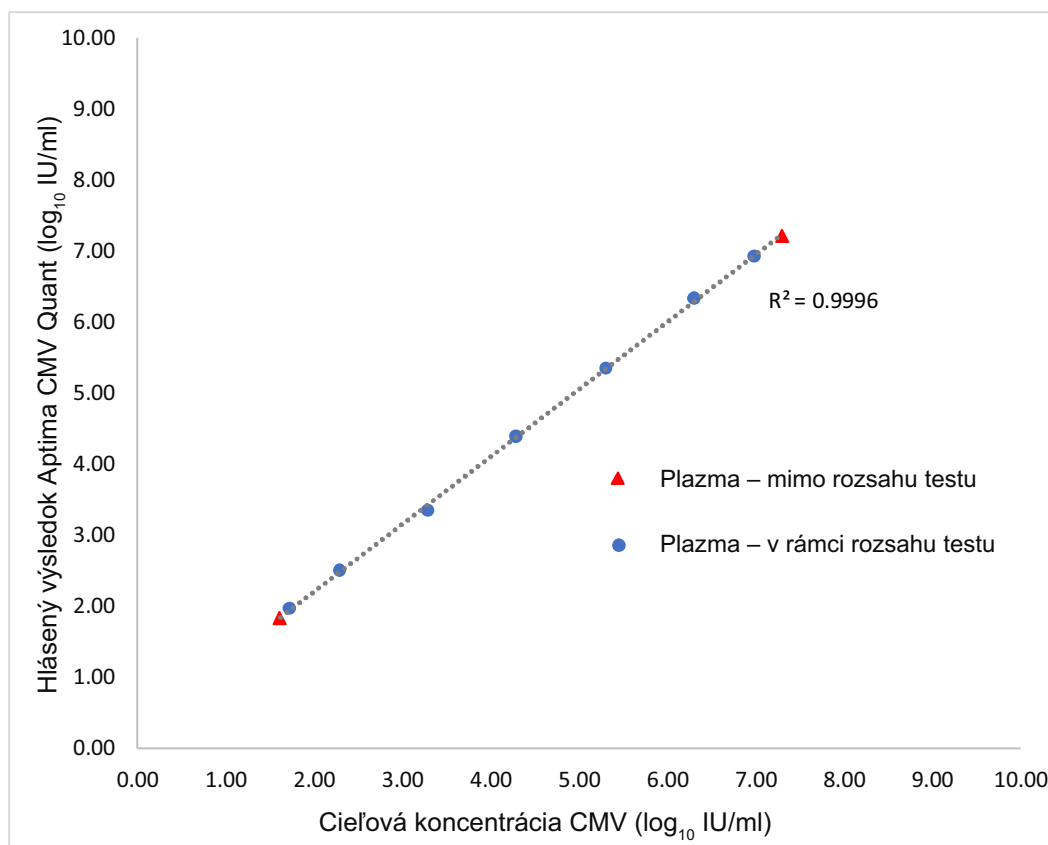
Genotyp	Koncentrácia (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Celkový LoD v plnej krvi je 150 IU/ml.

Lineárny rozsah

Lineárny rozsah v plazme

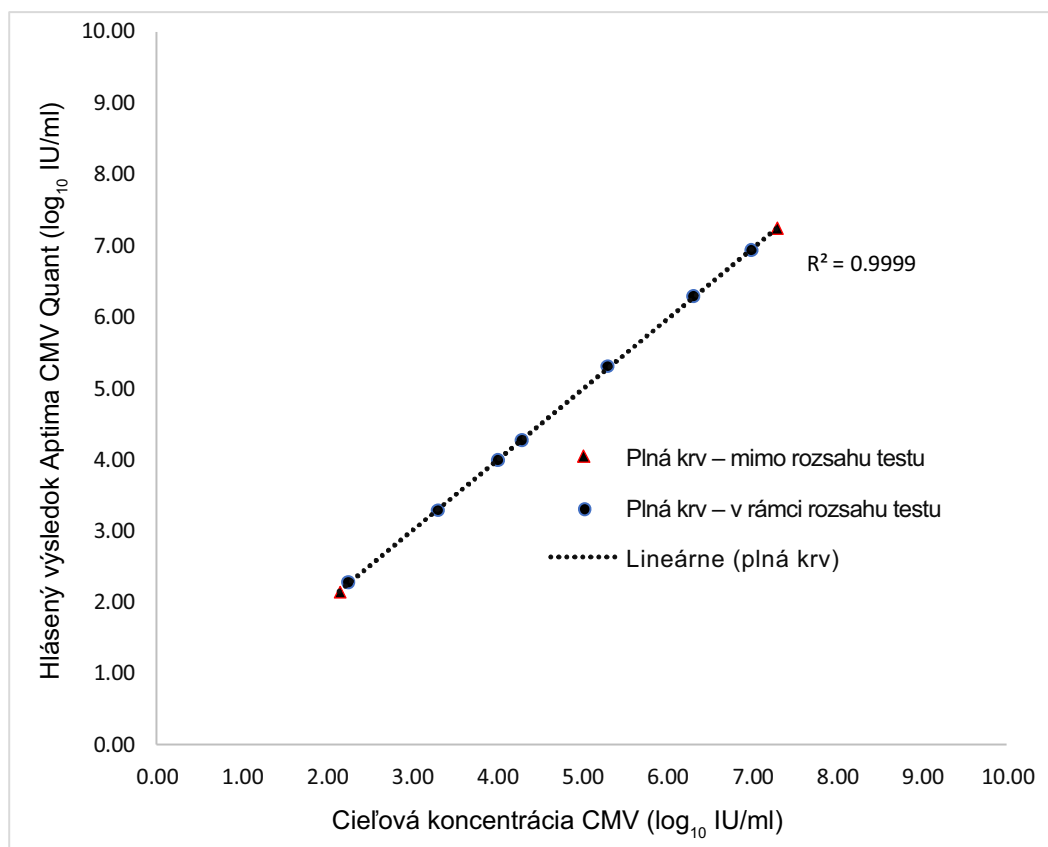
Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov CMV riedenej v CMV-negatívnych vzorkách ľudskej plazmy podľa dokumentu CLSI EP06-A.¹⁵ Rozsah koncentrácií panelov bol od 1.62 log₁₀ IU/ml do 7.30 log₁₀ IU/ml. Test Aptima CMV Quant preukázal linearitu v celom testovanom rozsahu. Horný limit kvantifikácie (ULoQ) testu je 7 log₁₀ IU/ml, ako je uvedené v Obrázok 7.



Obrázok 7. Linearita v plazme

Lineárny rozsah v plnej krvi

Lineárny rozsah bol stanovený testovaním panelov CMV riedenej v CMV-negatívnych vzorkách plnej krvi podľa dokumentu CLSI EP06-A.¹⁵ Rozsah koncentrácií panelov bol od $2.15 \log_{10}$ IU/ml do $7.3 \log_{10}$ IU/ml pre plnú krv. Test Aptima CMV Quant preukázal linearitu v celom testovanom rozsahu. Horný limit kvantifikácie (ULoQ) testu je $7 \log_{10}$ IU/ml, ako je uvedené v Obrázok 8.

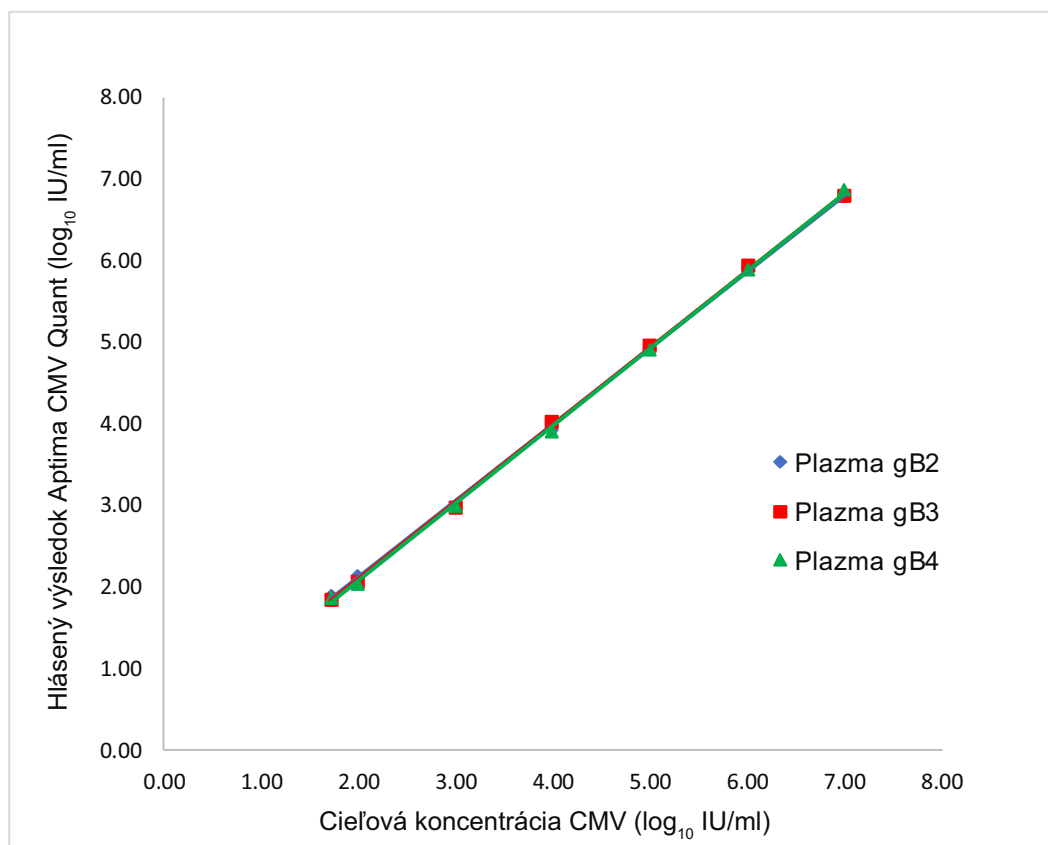


Obrázok 8. Linearita v plnej krvi

Linearita u rôznych genotypov CMV

Linearita u genotypov CMV v plazme

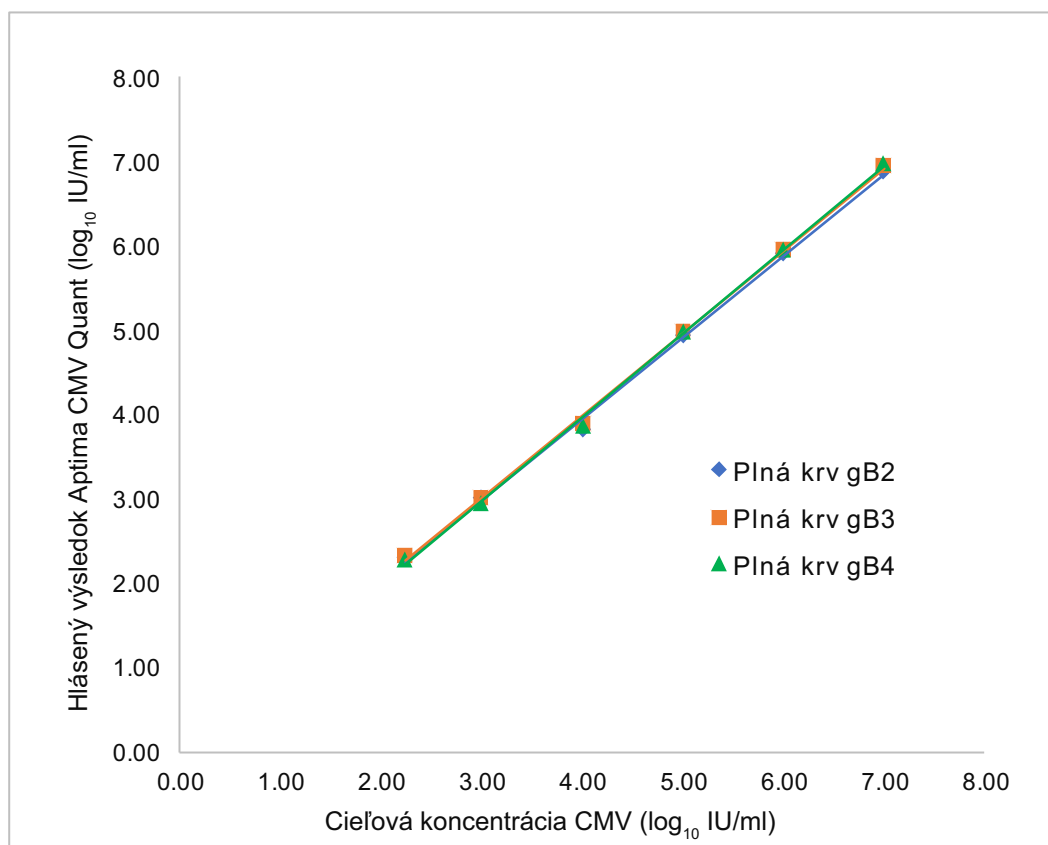
Linearita pre genotypy glykoproteínov gB-2, gB-3 a gB-4 bola overená testovaním panelov CMV zriedených v CMV-negatívnej plazme pri koncentráciách od 1.72 log₁₀ IU/ml do 7.00 log₁₀ IU/ml. Linearita bola preukázaná v rozsahu pre všetky testované genotypy, ako je uvedené v Obrázok 9.



Obrázok 9. Linearita u genotypov CMV gB-2, gB-3 a gB-4 v plazme

Linearita u genotypov CMV v plnej krvi

Lineárna odozva pre genotypy glykoproteínov gB-2, gB-3 a gB-4 bola overená testovaním panelov CMV zriedených v CMV-negatívnej plnej krvi v koncentráciách od 2.25 log₁₀ IU/ml do 7.00 log₁₀ IU/ml. Linearita bola preukázaná v rozsahu pre všetky tri testované genotypy, ako je uvedené v Obrázok 10.



Obrázok 10. Linearita u genotypov CMV gB-2, gB-3 a gB-4 v plnej krvi

Dolný limit kvantifikácie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO

Dolný limit kvantifikácie (LLoQ) je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je CMV DNA spoľahlivo kvantifikovaná v rámci celkovej chyby podľa normy CLSI EP17-A2.¹⁴ Celková chyba bola odhadnutá pomocou Westgardovho modelu: Celková chyba (TE) = |systémová chyba| + 2 SD. Celková chyba testu Aptima CMV Quant bola nastavená na úroveň 1 log₁₀ IU/ml (tzn. pri LLoQ je rozdiel medzi dvomi meraniami vyšší než 1 log₁₀ IU/ml štatisticky významný) s cieľom zaistiť správnosť meraní.

Dolný limit kvantifikácie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO v plazme

LLoQ sa stanovil testovaním panelov 1. medzinárodného štandardu WHO (kód NIBSC 09/162, genotyp gB-1)²¹ pre CMV DNA zriedenú v CMV-negatívnej ľudskej plazme. Testovalo sa 60 opakovaní každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, celkovo 180 opakovaní na riedenie. Výsledky LLoQ pre tri šarže reagensie sú uvedené v Tabuľka 8. Výsledky zo šarže reagensie s najvyššou koncentráciou spĺňajúce požiadavky na TE a s ≥ 95 % detekciou sú zhrnuté v Tabuľka 9. LLoQ vytvorený podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV v plazme je 53 IU/ml.

Tabuľka 8: Stanovenie LLoQ pomocou 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV zriedený v plazme

Šarža reagensie	N	N detegovaný	Cieľová koncentrácia	Aptima CMV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	60	56	1.48	1.64	0.36	0.16	0.87
	60	59	1.54	1.72	0.29	0.18	0.76
	60	59	1.60	1.74	0.28	0.14	0.70
	60	59	1.70	1.85	0.19	0.15	0.53
2	60	56	1.48	1.56	0.29	0.09	0.67
	60	58	1.54	1.61	0.27	0.07	0.60
	60	58	1.60	1.69	0.28	0.09	0.64
3	60	60	1.70	1.83	0.24	0.14	0.62
	60	56	1.48	1.67	0.26	0.19	0.71
	60	58	1.54	1.67	0.24	0.13	0.60
	60	60	1.60	1.78	0.19	0.18	0.55
	60	60	1.70	1.87	0.22	0.17	0.61

SD = smerodajná odchýlka

Členy panelu, ktoré splnili cieľ správnosti (TE ≤ 1) a > 95 % detekciu pre šarže reagensie 1, 2 a 3 sú zafarbené na sivo.

Tabuľka 9: Súhrn LLoQ pre plazmu s použitím 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV

Šarža reagensie	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	53	1.72
2	41	1.61
3	47	1.67

Dolný limit kvantifikácie podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre plnú krv

LLoQ sa stanovil testovaním panelov 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV DNA zriedenú v CMV-negatívnej ľudskej plnej krvi. Testovalo sa 60 opakovaní každého riedenia s každou z troch šarží reagensí, celkovo 180 opakovaní na riedenie. Výsledky pre tri šarže reagensie sú uvedené v Tabuľka 10. Výsledky zo šarže reagensie s najvyššou koncentráciou spĺňajúce požiadavky na TE a s $\geq 95\%$ detekciou sú zhrnuté v Tabuľka 11. LLoQ vytvorený podľa 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV v plnej krvi je 176 IU/ml.

Tabuľka 10: Stanovenie LLoQ pomocou 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV zriedeného v plnej krvi

Šarža reagensie	N	N detegovaný	Cieľová koncentrácia	Aptima CMV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	60	58	2.11	2.06	0.47	0.06	1.00
	60	59	2.16	2.04	0.51	0.12	1.14
	60	60	2.20	2.14	0.44	0.06	0.94
	60	59	2.24	2.28	0.26	0.04	0.56
2	60	60	2.11	2.02	0.42	0.09	0.93
	60	60	2.16	2.12	0.26	0.04	0.56
	60	59	2.20	2.14	0.30	0.07	0.67
	60	60	2.24	2.26	0.26	0.02	0.53
3	60	59	2.11	2.25	0.43	0.13	1.00
	60	59	2.16	2.34	0.27	0.18	0.72
	60	60	2.20	2.38	0.30	0.17	0.77
	60	60	2.24	2.39	0.30	0.15	0.74

SD = smerodajná odchýlka

Členy panelu, ktoré splnili cieľ správnosti ($TE \leq 1$) a $> 95\%$ detekciu pre šarže reagensie 1, 2 a 3 sú zafarbené na sivo.

Tabuľka 11: Súhrn LLoQ pre plnú krv s použitím 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV

Šarža reagentie	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	138	2.14
2	106	2.02
3	176	2.25

Stanovenie dolného limitu kvantifikácie genotypov CMV a mutantov rezistentných voči liečivám

Dolný limit kvantifikácie genotypov a mutantov rezistentných voči liečivám v plazme

LLoQ stanovený pomocou 1. medzinárodného štandardu WHO sa overil testovaním riedení genotypov CMV gB-2, gB-3, gB-4 a mutantov rezistentných voči liečivám v CMV-negatívnej ľudskej plazme. Každý člen panelu sa testoval v 60 opakovaníach s jednou šaržou reagentie. Výsledky uvádza Tabuľka 12. Vypočítaný LLoQ pre genotypy gB-2, gB-3, gB-4 a mutanty rezistentné voči liečivám zo šarže reagentie s najvyššou koncentráciou spĺňajúce požiadavky na TE a s $\geq 95\%$ detekciou sú zhrnuté v Tabuľka 13. Celkový LLoQ pre plazmu v tomto teste je 53 IU/ml.

Poznámka: Výkon testu Aptima CMV Quant s mutáciami CMV rezistentnými voči liečivám sa hodnotil len vo vzorkách plazmy.

Tabuľka 12: Stanovenie LLoQ genotypov a mutantov rezistentných voči liečivám v plazme

Genotypy/ mutanty	N	% detegovaných	Cieľová koncentrácia (log ₁₀ IU/ml)	Aptima CMV Quant (log ₁₀ IU/ml)	SD (log ₁₀ IU/ml)	Systémová chyba (log ₁₀ IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (log ₁₀ IU/ml)
gB-2	60	93.3	1.48	1.38	0.41	0.10	0.92
	60	96.7	1.54	1.39	0.39	0.16	0.95
	60	93.3	1.60	1.49	0.38	0.11	0.87
	60	96.7	1.65	1.70	0.24	0.04	0.51
	60	95.0	1.70	1.54	0.32	0.16	0.80
gB-3	60	91.7	1.48	1.27	0.38	0.20	0.97
	60	91.7	1.54	1.27	0.40	0.27	1.07
	60	88.3	1.60	1.31	0.47	0.29	1.23
	60	93.3	1.65	1.46	0.34	0.20	0.88
	60	91.7	1.70	1.57	0.29	0.13	0.71
	60	98.3	1.74	1.55	0.30	0.19	0.79

Tabuľka 12: Stanovenie LLoQ genotypov a mutantov rezistentných voči liečivám v plazme (pokračovanie)

Genotypy/ mutanty	N	% detegovaných	Cieľová koncentrácia	Aptima CMV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-4	60	96.7	1.48	1.38	0.39	0.09	0.88
	60	98.3	1.54	1.51	0.33	0.03	0.69
	60	95.0	1.60	1.66	0.36	0.06	0.79
	60	98.3	1.65	1.66	0.29	0.01	0.59
	60	100.0	1.70	1.70	0.24	0.00	0.48
	60	95.0	1.48	1.57	0.32	0.10	0.74
Liečivo rezistentný mutant (UL54 a UL97)	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
Liečivo rezistentný 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 = smerodajná odchýlka

Členy panelu, ktoré splnili cieľ správnosti (TE ≤ 1) a > 95 % detekciu pre šarže reagencie 1, 2 a 3 sú zafarbené na sivo.

Tabuľka 13: Súhrn LLoQ genotypov a mutantov rezistentných voči liečivám v plazme

Genotypy/mutanty	LLoQ	
	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	50	1.70
gB-3	35	1.55
gB-4	24	1.38
Mutant rezistentný voči liečivám UL54 a UL97*	38	1.57
Mutant rezistentný voči liečivám UL56**	35	1.54

* Mutácie génu UL54 môžu viesť ku skríženej rezistencii voči viacerým antivirotikám na liečbu infekcie CMV, ako sú ganciklovir (GCV), cidofovir (CDV) a foskarnet (PFA). Mutácie génu UL97 vedú aj k rezistencii voči gancikloviru (GCV).

** Mutácie génu UL56 vedú k rezistencii voči letermoviru (LET).

Dolný limit kvantifikácie u rôznych genotypov v plnej krvi

LLoQ stanovený použitím 1. medzinárodného štandardu WHO bol overený testovaním riedení genotypov CMV gB-2, gB-3 a gB-4 v CMV-negatívnej ľudskej plnej krvi. Každý člen panelu sa testoval v 60 opakovaníach s jednou šaržou reagensie. Výsledky uvádza Tabuľka 14. LLoQ pre genotypy gB-2, gB-3 a gB-4 zo šarže reagensí s najvyššou koncentráciou spĺňajúcou požiadavky TE a $\geq 95\%$ detekciou je zhrnutý v Tabuľka 15. Celkový LLoQ pre plnú krv v tomto teste je 176 IU/ml.

Tabuľka 14: Stanovenie LLoQ u rôznych genotypov v plnej krvi

Genotyp	N	N detegovaný	Cieľová koncentrácia	Aptima CMV Quant	SD	Systémová chyba	Vypočítaná hodnota TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	60	56	2.08	1.77	0.43	0.30	1.16
	60	56	2.15	1.87	0.39	0.27	1.06
	60	56	2.20	1.80	0.59	0.40	1.58
	60	58	2.26	1.97	0.41	0.28	1.11
	60	59	2.30	2.06	0.50	0.24	1.24
	60	57	2.34	2.01	0.52	0.33	1.38
	60	59	2.38	2.11	0.36	0.27	1.00
	60	60	2.41	2.19	0.30	0.23	0.84
gB-3	60	46	2.08	1.73	0.59	0.35	1.53
	60	54	2.15	1.78	0.50	0.36	1.37
	60	54	2.20	1.87	0.50	0.33	1.34
	60	58	2.26	2.02	0.52	0.23	1.27
	60	58	2.30	2.02	0.32	0.28	0.92
gB-4	60	55	2.08	1.78	0.53	0.30	1.37
	60	57	2.15	1.97	0.40	0.18	0.97
	60	58	2.20	2.09	0.39	0.12	0.89

SD = smerodajná odchýlka

Tabuľka 15: Súhrn LLoQ pre jednotlivé genotypy v plnej krvi

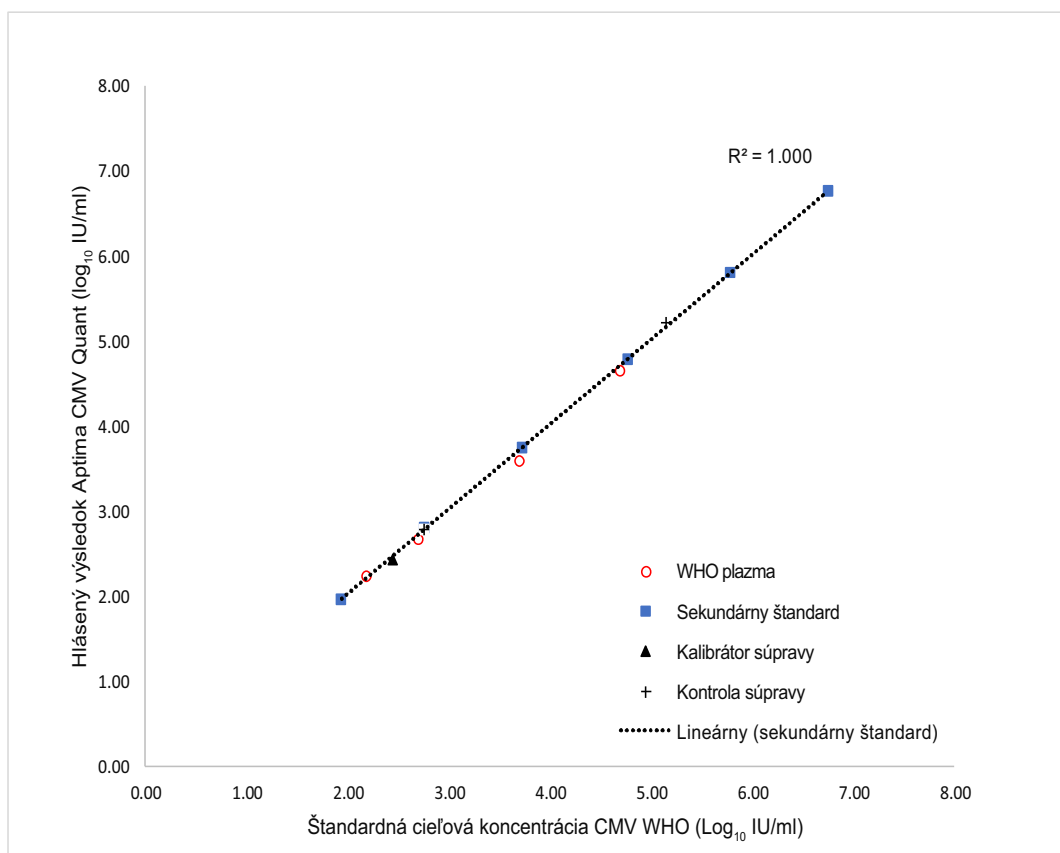
Genotyp	LLoQ	
	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	129	2.11
gB-3	104	2.02
gB-4	93	1.97

Nadväznosť na 1. medzinárodný štandard WHO

Na stanovenie nadväznosti na 1. medzinárodný štandard WHO sa počas vývoja a výroby produktu používala séria sekundárnych štandardov so známymi koncentraciami. 1. medzinárodný štandard WHO pre CMV bol zriedený a testovaný spolu so sekundárnymi štandardmi, ako aj s kontrolami testu a kalibrátormi používanými v teste Aptima CMV Quant na vyhodnotenie sledovateľnosti podľa CLSI EP32-R.¹⁶ Koncentrácia sekundárnych štandardov bola v rozmedzí od 1.80 do 6.60 log₁₀ IU/ml.

Nadväznosť na 1. medzinárodný štandard WHO pri použití plazmy

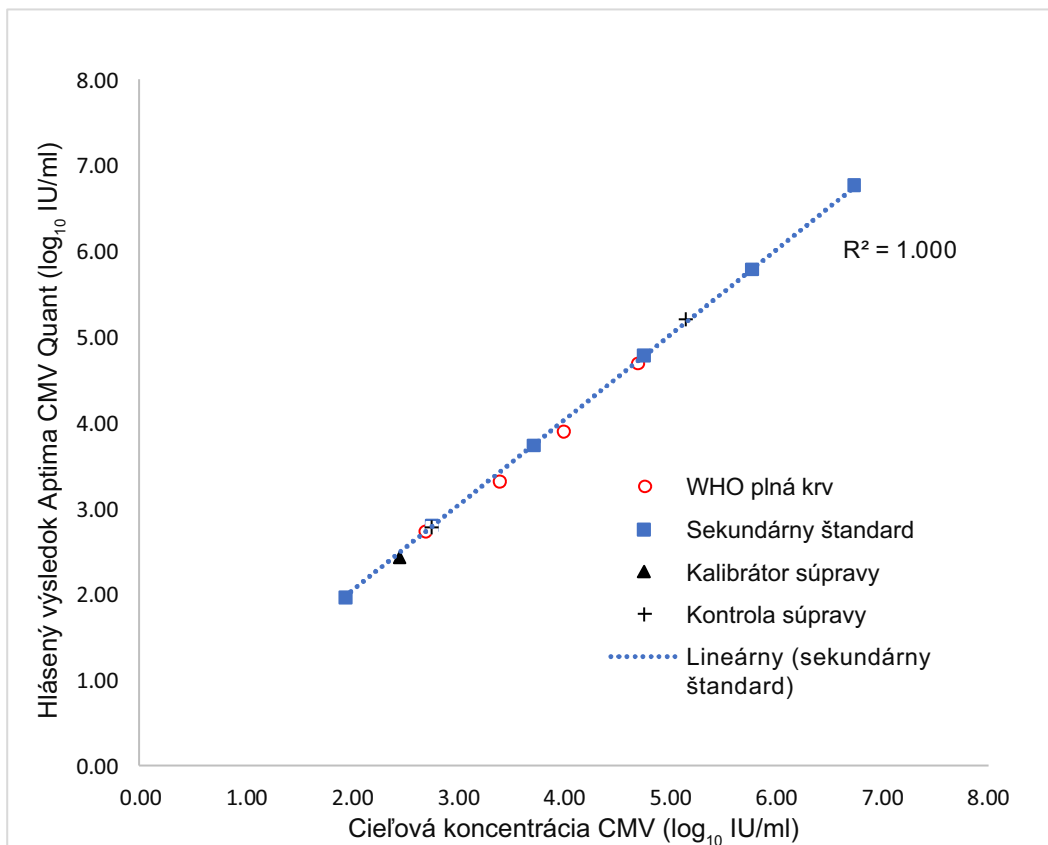
Koncentrácie testované pre 1. medzinárodný štandard WHO pre CMV boli od 2.18 do 4.70 log₁₀ IU/ml. Plazmatické panely WHO, sekundárne štandardy, kontroly testu a kalibrátory testu priniesli výsledky podľa očakávania v celom lineárnom rozsahu testu, ako je vidieť na Obrázok 11.



Obrázok 11. Nadväznosť medzi cieľovými koncentraciami 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV a uvádzanými koncentraciami v teste Aptima CMV Quant (štandard WHO zriedený v plazme)

Nadväznosť na 1. medzinárodný štandard WHO pri použití plnej krvi

Koncentrácie testované pre 1. medzinárodný štandard WHO pre CMV v plnej krvi boli od 2.70 do 4.70 \log_{10} IU/ml. Panely plnej krvi so štandardmi WHO, sekundárnymi štandardmi, kontrolami testu a kalibrátormi testu sa obnovili podľa očakávania v lineárnom rozsahu testu, ako je možné vidieť z Obrázok 12.



Obrázok 12. Nadväznosť medzi cieľovými koncentraciami 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV a uvádzanými koncentraciami v teste Aptima CMV Quant (štandard WHO zriedený v plnej krvi)

Presnosť

Plazma

Na posúdenie presnosti sa vytvoril 6-členný panel riedením CMV-pozitívnych klinických vzoriek alebo kultivovaného CMV do CMV-negatívnej plazmy. Panel bol testovaný tromi operátormi za použitia troch šarží reagensí v troch systémoch Panther v priebehu 20 alebo viac testových dní. Každý operátor vykonal dva cykly denne a každý člen panelu bol testovaný dvakrát v každom cykle. Štúdia bola navrhnutá a analyzovaná podľa odporúčaní CLSI EP-05-A3.¹⁷

Tabuľka 16 uvádza presnosť výsledkov testov (v \log_{10} IU/ml) medzi prístrojmi, operátormi, šaržami reagensí, cyklami, dňami, v rámci cyklov a celkovo. Celková variabilita bola primárne spôsobená variabilitou v rámci cyklu (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 16: Presnosť testu Aptima CMV Quant v plazme

N	Priemerná koncentrácia (\log_{10} IU/ml)	Medzi šaržami SD	Medzi prístrojmi SD	Medzi operátormi SD	Medzi dňami SD	Medzi cyklami SD	V rámci cyklu SD	Spolu 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 = smerodajná odchýlka

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, SD sa zobrazí ako 0.

Plná krv

Na posúdenie presnosti sa vytvoril 6-členný panel riedením CMV-pozitívnych klinických vzoriek alebo pridaním kultivovaného CMV do CMV-negatívnej plnej krvi. Panel bol testovaný tromi operátormi za použitia troch šarží reagensí v troch systémoch Panther v priebehu 20 alebo viac testových dní. Každý operátor vykonal dva cykly denne a každý člen panelu bol testovaný dvakrát v každom cykle.

Tabuľka 17 uvádza presnosť výsledkov testov (v \log_{10} IU/ml) medzi prístrojmi, operátormi, šaržami, cyklami, dňami, v rámci cyklov a celkovo. Celková variabilita bola primárne spôsobená variabilitou v rámci cyklu (tzn. náhodná chyba).

Tabuľka 17: Presnosť testu Aptima CMV Quant v plnej krvi

N	Priemerná koncentrácia (log ₁₀ IU/ml)	Medzi šaržami SD	Medzi prístrojmi SD	Medzi operátormi SD	Medzi dňami SD	Medzi cyklami SD	V rámci cyklu SD	Spolu 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 = smerodajná odchýlka

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, SD sa zobrazí ako 0.

Potenciálne interferujúce látky

Bola hodnotená náchylnosť testu Aptima CMV Quant na interferenciu spôsobenú zvýšenými hladinami endogénnych látok, antikoagulancií a liečiv bežne predpisovaných pacientom s transplantátom. Testovacie koncentrácie pre každú z interferujúcich látok boli vybrané na základe referencií dostupnej literatúry a pokynov uvedených v dokumentoch CLSI EP07¹⁸ a EP37¹⁹. Testovali sa CMV-negatívne vzorky plazmy a vzorky s pridaným CMV s koncentráciou 2.22 log₁₀ IU/ml a 3.30 log₁₀ IU/ml. CMV-negatívne vzorky plnej krvi a vzorky s pridaným CMV s koncentráciou 2.72 a 4.00 log₁₀ IU/ml CMV DNA boli testované na hemoglobín

Na výkone testu sa neprejavila žiadna interferencia prítomnosti albumínu (60 mg/ml), hemoglobínu (10 mg/ml), triglyceridov (15 mg/ml) nekonjugovaného bilirubínu (0.4 mg/ml) ani ľudskej genomickej DNA (2 µg/ml). V prítomnosti 100 mg/ml hemoglobínu pridaného do vzoriek plnej krvi sa nepozorovali žiadne interferencie vo vzorkách plnej krvi pri výkone testu.

Klinické vzorky plazmy od pacientov so zvýšenými hladinami špecifických látok alebo od pacientov s ochoreniami uvedenými v Tabuľka 18 boli testované pomocou testu Aptima CMV Quant. Nebola pozorovaná interferencia vo výkone testu.

Tabuľka 18: Testované typy klinických vzoriek

	Typy klinických vzoriek	Počet testovaných klinických vzoriek
1	Antinukleárne protilátky (ANA)	10
2	Systémový lupus erythematosus (SLE)	10
3	Reumatoidná artritída (RA)	10

Nebola pozorovaná žiadna interferencia s výkonom testu v prítomnosti exogénnych látok uvedených v Tabuľka 19 pri koncentráciách na úrovni minimálne trojnásobku C_{max} liečiv v ľudskej plazme.

Tabuľka 19: Exogénne látky

Pool exogénnych látok	Testované exogénne látky
1	Cefotetan, klavulanát draselný, ticarcilín disodný, vankomycín
2	Piperacilín
3	Sulfametoxazol
4	Sodná soľ tazobaktámu, trimetoprim, flukonazol
5	Ganciklovir, valganciklovir, cidofovir, foscarnet, valaciclovir, aciklovir, letermovir
6	Azatioprin, cyklosporín, mykofenolát mofetil, kyselina mykofenolová
7	Sirolimus, takrolimus, prednizón, everolimus
8	Citrát sodný, EDTA, heparín

Špecificita

Špecificita bola stanovená testovaním 780 zmrazených CMV-negatívnych klinických vzoriek. Špecificita sa vypočítala ako percento CMV-negatívnych vzoriek s výsledkom „Nedetegované“ v pomere k celkovému počtu testovaných vzoriek pre každý typ vzorky.

CMV DNA sa nedetegovala v 389 vzorkách plazmy a 390 vzorkách plnej krvi. Špecificita bola 99.7 % (389/390, 95 % CI: 98.6 – 100 %) pre plazmu a 100 % (390/390, 95 % CI: 99.3 – 100 %). Kombinovaná špecificita testu Aptima CMV Quant pre plazmu a plnú krv bola 99.9 % (779/780, 95 % CI: 99.3 – 100 %).

Tabuľka 20: Špecificita vo vzorkách plazmy a plnej krvi

	Plazma	Plná krv	Plazma a plná krv
Valídne opakovania (n)	390	390	780
Nedetegovaný	389	390	779
Špecificita	99.7 %	100 %	99.9 %
(95 % CI)	(98.6 – 100)	(99.3 – 100)	(99.3 – 100)

CI = interval spoľahlivosti

Analytická špecificita

Potenciálna skrížená reaktivita s patogénmi uvedenými v Tabuľka 21 bola hodnotená v CMV-negatívnej ľudskej plazme v prítomnosti alebo neprítomnosti 2.2 log₁₀ IU/ml a 3.3 log₁₀ IU/ml CMV. Tri krvné parazity nájdené vo vzorkách plnej krvi sa hodnotili aj v CMV-negatívnej plnej krvi v prítomnosti alebo neprítomnosti 2.7 log₁₀ IU/ml a 4.0 log₁₀ IU/ml CMV. Patogény boli testované pri najvyššej dostupnej koncentrácii. Nepozorovala sa žiadna skrížená reakcia ani interferencia.

Tabuľka 21: Patogény testované na analytickú špecificitu

Mikroorganizmus/patogén	Koncentrácia	Mikroorganizmus/patogén	Koncentrácia		
Adenovírus typ 4	1.886	TCID 50/ml ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1 000 000	CFU/ml
BK polyomavírus	1 000 000	cp/ml ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus Epstein a Barovej	1 000 000	cp/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus hepatitídy B	1 000 000	IU/ml ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus hepatitídy C	1 000 000	cp/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000	CFU/ml
Herpes simplex vírus typ 1	1428571	TCID 50/ml	<i>Salmonella enterica</i> sérovar Typhimurium	1 000 000	CFU/ml
Herpes simplex vírus typ 2	147.143	TCID 50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000	CFU/ml
HIV-1 podtyp B	1 000 000	cp/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000	CFU/ml
Ľudský herpesvírus 6A	1 000 000	cp/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 000 000	CFU/ml
Ľudský herpesvírus 7	1428571	TCID 50/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml
Ľudský herpesvírus 8	1 000 000	cp/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 000 000	CFU/ml
Ľudský metapneumovírus	192.857	TCID 50/ml	<i>Aspergillus niger</i>	485.000	CFU/ml
Ľudský papilomavírus typ 18	1 000 000	cp/ml	<i>Candida albicans</i>	1 000 000	CFU/ml
Ľudský vírus parainfluenzy	944	TCID 50/ml	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1 000 000	CFU/ml
Vírus influenzy	3.857	TCID 50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1 000 000	buniek/ml
Rinovírus	7.257	TCID 50/ml	<i>Leishmania major</i> *	1 000 000	buniek/ml
Vírus varicella zoster	1 000 000	cp/ml	<i>Babesia microti</i> *	1 000 000	buniek/ml
Vírus zika	29.286	TCID 50/ml	<i>Plasmodium falciparum</i> *	1 000 000	buniek/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	CFU/ml ^d			
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	CFU/ml			
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	CFU/ml			
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	CFU/ml			
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	CFU/ml			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	CFU/ml			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	CFU/ml			

^a TCID 50/ml = jednotky infekčnej dávky pre tkanivovú kultúru na ml

^b cp/ml = kópie vírusov na ml

^c IU/ml = medzinárodné jednotky na ml

^d CFU/ml = počet jednotiek tvoriacich kolónie na ml

* testované s typom vzorky plnej krvi

Riedenie vzorky plazmy použitím negatívnej kontroly Aptima CMV (1 : 3)

Na posúdenie presnosti kvantifikácie CMV DNA vo vzorkách plazmy zriedených s negatívnou kontrolou Aptima CMV sa vzorky s koncentraciami rozloženými v lineárnom rozsahu zriedili v pomere 1 : 3 s negatívnou kontrolou Aptima CMV (240 µl vzorky v kombinácii so 480 µl negatívnej kontroly Aptima CMV). Čisté a zriedené vzorky sa testovali v troch opakovaníach. Testovanie sa vykonalo pomocou jednej šarže reagensí v jednom systéme Panther a s dvomi šarzami negatívnej kontroly CMV Aptima. Rozdiel medzi čistými a zriedenými výsledkami testov sa vypočítal pre každý súbor vzoriek, ako je uvedené v Tabuľka 22. Koncentrácie vzoriek boli presne obnovené v zriedených vzorkách po zahrnutí faktora riedenia.

Tabuľka 22: Opakovateľnosť klinických vzoriek plazmy zriedených v negatívnej kontrole

Čistá vzorka plazmy Priemerná uvádzaná koncentrácia (log ₁₀ IU/ml) n = 3	Zriedená vzorka plazmy Priemerná uvádzaná koncentrácia (log ₁₀ IU/ml) n = 6	Rozdiel (log ₁₀ IU/ml)
2.30	2.42 ^a	0.12
2.50	2.60	0.11
3.03	3.02	-0.01
3.46	3.45	-0.01
3.29	3.29	0.00
4.64	4.43	-0.21
5.32	5.31	-0.01
6.43	6.44	0.01
6.91 ^b	6.95	0.05
> ULoQ ^c	7.41 ^d	Nevzťahuje sa

^aVýsledok z dvoch opakovaní. Štyri výsledky boli „Detegované“, ale neboli kvantifikované.

^bVýsledok z dvoch opakovaní. Jeden výsledok bol „Detegovaný“, ale nebol kvantifikovaný, pretože bol > ULoQ.

^cTri výsledky boli „Detegované“, ale neboli kvantifikované, pretože boli > ULoQ.

^dVýsledok zo štyroch opakovaní. Dva výsledky boli „Detegované“, ale neboli kvantifikované, pretože boli > ULoQ.

Potvrdenie LoD a LLoQ použitím 1. medzinárodných štandardov WHO pre CMV zriedených v negatívnej kontrole CMV Aptima

LoD a LLoQ testu Aptima CMV Quant boli potvrdené pomocou 1. medzinárodného štandardu WHO pre CMV (kód NIBSC 09/162) v plazme zriedenej 1 : 3 s použitím negatívnej kontroly Aptima CMV. Vzorky boli pripravené v CMV-negatívnej ľudskej plazme s koncentraciami CMV 90, 105, 120, 135, 150 a 165 IU/ml. Každý panel sa tesne pred testovaním zriedil v pomere 1 : 3 v negatívnej kontrole Aptima CMV na konečné koncentrácie približne 30, 35, 40, 45, 50 a 55 IU/ml. Každý člen panelu sa testoval v celkovo 60 opakovaní s jednou šaržou reagentie v priebehu troch dní. Celková chyba bola odhadnutá pomocou Westgardovho modelu: Celková chyba (TE) = |systémová chyba| + 2 SD. Všetky vzorky s koncentraciou ≥ 45 IU/ml mali ≥ 95 % detekciu a celkovú chybu (TE) $\leq 1 \log_{10}$ IU/ml, ako je uvedené v Tabuľka 23. To potvrdzuje LLoQ CMV so vzorkami zriedenými negatívnou kontrolou.

Tabuľka 23: LoD a LLoQ vzoriek plazmy zriedených v pomere 1 : 3 použitím negatívnej kontroly

N	% Detegované	Cieľová koncentrácia po zriedení 1 : 3 (IU/ml)	Cieľová koncentrácia po zriedení 1 : 3 (\log_{10} IU/ml)	Aptima CMV Quant pre zriedenú vzorku (\log_{10} IU/ml)	SD (\log_{10} IU/ml)	Systémová chyba (\log_{10} IU/ml)	Vypočítaná hodnota TE (\log_{10} IU/ml)
60	98.3 %	45	1.65	1.73	0.22	0.08	0.53

Prenos

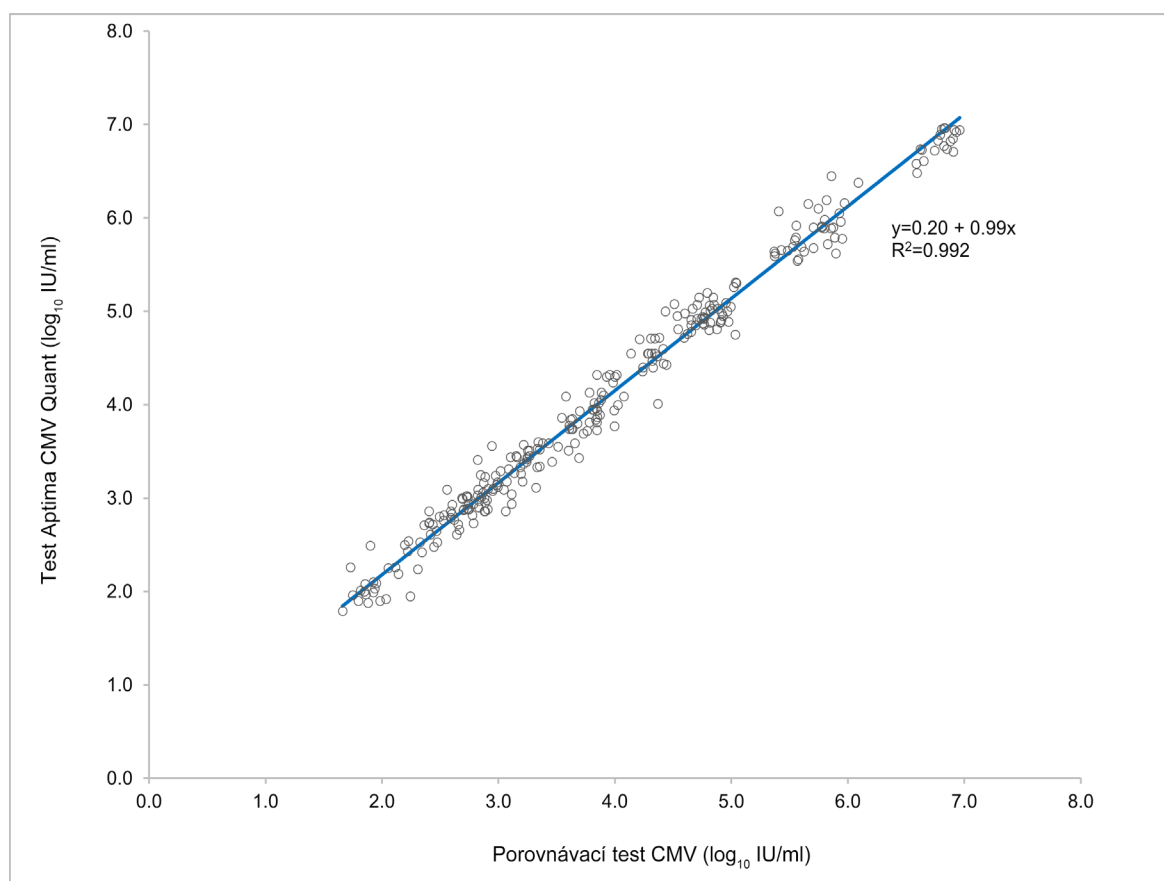
Kontaminácia spôsobená prenosom sa hodnotila pre systém Panther s použitím plazmy ako typu vzorky s použitím iných testov vírusovej záťaže (Aptima HIV-1 Quant Dx, Aptima HCV Quant, Aptima HBV Quant). Pri predchádzajúcom testovaní sa nezaznamenala žiadna kontaminácia spôsobená prenosom. Bola vykonaná štúdia za použitia doplnených panelov na troch systémoch Panther s cieľom potvrdiť, že systém Panther minimalizuje riziko falošne pozitívnych výsledkov vznikajúcich kontamináciou v type vzorky plnej krvi v dôsledku prenosu. Prenos bol hodnotený pomocou vzoriek plnej krvi s pridanou CMV DNA vo vysokom titri ($6 \log_{10}$ IU/ml) striedajúcich sa s CMV-negatívnymi vzorkami v šachovnicovom vzore. Testovanie prebehlo v dvanástich cykloch. Celková miera prenosu bola 0.24 % (1/423).

Korelácia metód

Táto štúdia bola navrhnutá v súlade s dokumentom CLSI EP09c.¹⁹

Korelácia plazmovej metódy

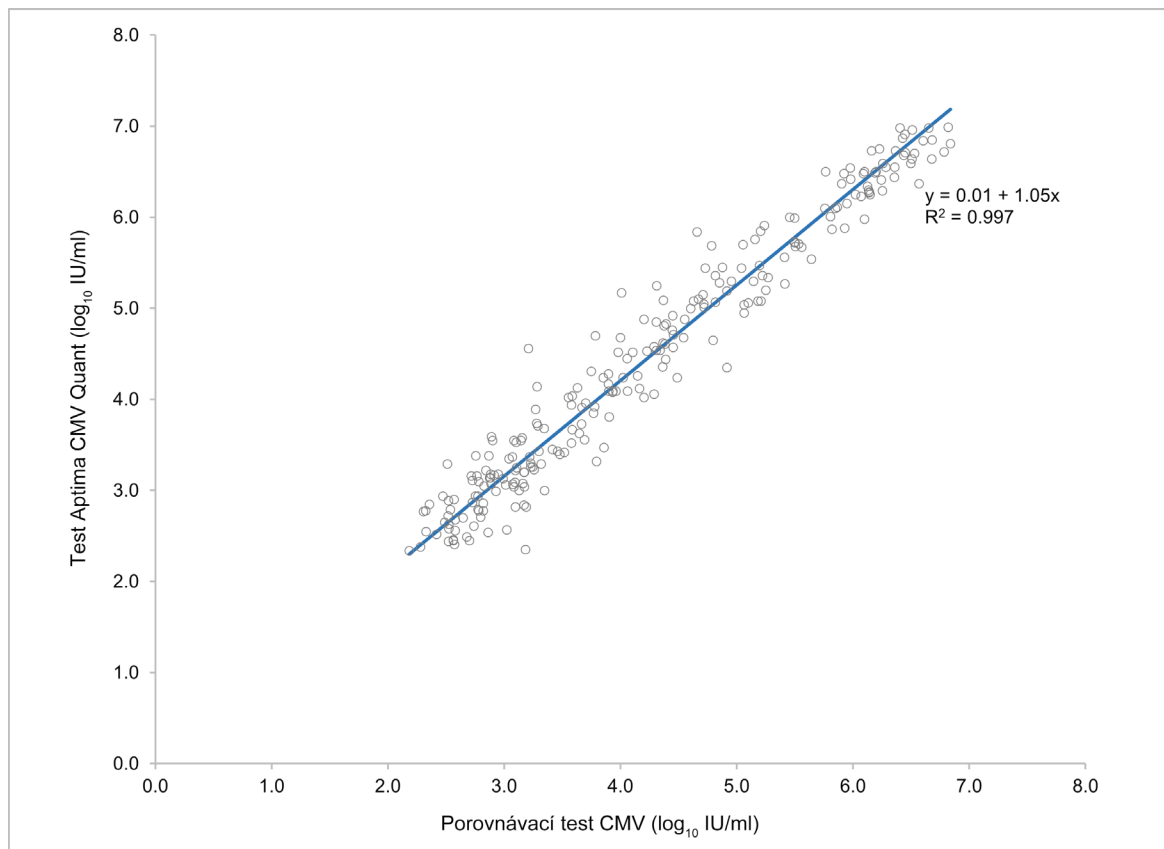
Výkon testu Aptima CMV Quant sa hodnotil v porovnaní s porovnávacím CMV testom testovaním neriedených klinických vzoriek od CMV-pozitívnych pacientov a umelých vzoriek vyrobených z rôznych kmeňov kultivovaného patriacich ku všetkým štyrom genotypom pridaných do negatívnej EDTA plazmy od jednotlivých darcov. Celkom 160 klinických vzoriek a 115 umelých vzoriek v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy bolo použitých v Demingovej regresii, ako je uvedené v Obrázok 13.



Obrázok 13. Korelácia medzi vírusovou záťažou CMV v teste Aptima CMV Quant a porovnávacím CMV testom na testovanie vzoriek plazmy

Korelácia metódy plnej krvi

Výkon testu Aptima CMV Quant sa hodnotil v porovnaní s porovnávacím CMV testom testovaním neriedených klinických vzoriek od CMV-pozitívnych pacientov a umelých vzoriek vyrobených z kultivovaného vírusu pridaného do negatívnej EDTA plnej krvi od jednotlivých darcov. Celkom 159 klinických vzoriek a 83 umelých vzoriek v lineárnom rozsahu spoločnom pre oba testy bolo použitých v Demingovej regresii, ako je uvedené v Obrázok 14.



Obrázok 14. Korelácia medzi vírusovou záťažou CMV v teste Aptima CMV Quant a porovnávacím CMV testom na testovanie vzoriek plnej krvi

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť vo vzorkách plazmy

Reprodukovateľnosť testu Aptima CMV Quant v plazme sa hodnotila na troch externých pracoviskách. Testovanie vykonali na každom pracovisku dvaja operátori. Počas testovania vykonal každý operátor jeden cyklus za deň v priebehu 5 dní pomocou jednej šarže reagensí. Každý cyklus mal tri opakovania každého člena panelu.

Reprodukovateľnosť sa testovala pomocou členov panelu pripravených riedením CMV-positívnych klinických vzoriek alebo kultivovaných CMV do CMV-negatívnej EDTA plazmy. Koncentrácie CMV DNA pokrývali lineárny rozsah testu.

Tabuľka 24 znázorňuje reprodukovateľnosť a presnosť výsledkov testu pre každý pozitívny člen panelu medzi miestami, medzi operátormi, medzi dňami, medzi cyklami, v rámci cyklov a celkovo. Variačný koeficient sa vypočítal pomocou tejto rovnice, kde σ^2 je rozptyl vzoriek z údajov po transformácii \log_{10} .

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

Tabuľka 24: Reprodukovateľnosť úrovni CMV DNA v teste Aptima CMV Quant v systéme Panther u pozitívnych členov panelu v plazme

N	Pozorovaný priemer		Príspevok k celkovému rozptylu SD (%CV ²)					Celkový rozptyl SD (%CV)
	IU/ml	Log10 IU/ml	Medzi pracoviskami	Medzi operátormi	Medzi dňami	Medzi cyklami	V rámci cyklu	
90	198.33	2.26	0.05 (11.19)	0.00 (0)	0.06 (12.94)	0.00 (0)	0.17 (39.59)	0.18 (43.68)
90	603.27	2.76	0.02 (3.99)	< 0.01 (2.22)	0.07 (15.68)	0.04 (10.25)	0.12 (27.04)	0.14 (33.67)
90	2428.54	3.36	0.06 (12.83)	0.00 (0)	0.09 (21.42)	0.06 (12.83)	0.11 (24.69)	0.16 (38.27)
90	27623.02	4.42	0.07 (15.98)	0.00 (0)	0.04 (9.29)	0.06 (13.85)	0.08 (19.38)	0.13 (30.63)
90	284107.74	5.44	0.07 (15.58)	0.00 (0)	0.04 (10.22)	0.00 (0)	0.09 (21.66)	0.12 (28.90)
90	3821364.62	6.57	0.08 (19.12)	0.00 (0)	0.06 (14.22)	0.02 (4.02)	0.08 (17.45)	0.13 (30.25)

%CV = log-normálny variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka (\log_{10} IU/ml)

Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a %CV uvedené ako 0.

Reprodukovateľnosť vo vzorkách plnej krvi

Reprodukovateľnosť testu Aptima CMV Quant v plnej krvi sa hodnotila na troch externých pracoviskách. Testovanie vykonali na každom pracovisku dvaja operátori. Počas testovania vykonal každý operátor jeden cyklus za deň v priebehu 5 dní pomocou jednej šarže reagensí. Každý cyklus mal tri opakovania každého člena panelu.

Reprodukovateľnosť sa testovala pomocou členov panelu pripravených riedením CMV-
pozitívnych klinických vzoriek alebo kultivovaného CMV do CMV-negatívnej EDTA plnej krvi.
Koncentrácie CMV DNA pokrývali lineárny rozsah testu.

Tabuľka 25 uvádza reprodukovateľnosť a presnosť výsledkov testu pre každý pozitívny člen
panelu medzi pracoviskami, medzi operátormi, medzi dňami, medzi cyklami, v rámci cyklov
a celkovo s výnimkou jednej pozorovanej odchýlky (0.2 %, 1/533). Variačný koeficient sa
vypočítal pomocou tejto rovnice, kde σ^2 je rozptyl vzoriek z údajov po transformácii \log_{10} .

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

V prípade všetkých CMV-*pozitívnych* a CMV-*negatívnych* členov panelu boli hodnoty
zhody 100 %.

Tabuľka 25: Reprodukovateľnosť úrovni CMV DNA testu Aptima CMV Quant v systéme Panther u pozitívnych
členov panelu v plnej krvi

N	Pozorovaný priemer		Príspevok k celkovému rozptylu SD (%CV ²)					Celkový rozptyl SD (%CV)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Medzi pracoviskami	Medzi operátormi	Medzi dňami	Medzi cyklami	V rámci Cykly	
89	604.32	2.73	0.00 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.11 (25.39)	0.18 (43.23)	0.21 (51.32)
89	2188.59	3.32	< 0.01 (0)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.07 (15.25)	0.11 (25.34)	0.13 (29.83) ^a
89	7830.84	3.87	0.04 (8.75)	0.04 (8.16)	0.00 (0)	0.08 (17.71)	0.13 (30.28)	0.16 (37.70)
88	48897.12	4.66	0.03 (7.11)	0.00 (0)	0.00 (0)	0.10 (22.47)	0.11 (24.99)	0.15 (34.89)
88	375626.91	5.56	0.04 (9.59)	0.04 (9.96)	0.00 (0)	0.05 (12.04)	0.09 (21.18)	0.12 (28.34)
89	4609046.44	6.64	0.08 (18.15)	0.00 (0)	0.05 (11.42)	0.03 (6.32)	0.10 (22.74)	0.14 (32.39)

%CV = log-normálny variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka (\log_{10} IU/ml)

Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je
variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a %CV uvedené ako 0.

^a Celkový výsledok rozptylu bez odľahlej hodnoty, ktorá by mohla byť dôsledkom problému s prípravou
vzorky.

Klinický výkon

Klinická zhoda

Štúdia klinického výkonu bola navrhnutá na posúdenie klinickej zhody medzi testom Aptima CMV Quant a schváleným porovnávacím testom. Počas prospektívnej multicentrickej štúdie na ôsmich klinických pracoviskách boli odobraté vzorky plazmy od príjemcov transplantátov solídnych orgánov (SOTR) a príjemcov transplantátov krvotvorných kmeňových buniek (HSCTR), ktorí sa podrobili monitorovaniu CMV v bežnej klinickej praxi. Okrem toho sa od dodávateľov klinických vzoriek získali zvyšné zmrazené vzorky od SOTR a HSCTR.

Z 88 účastníkov, ktorí boli zaradení do prospektívnej štúdie, šesť účastníkov nebolo hodnotiteľných z dôvodu vystúpenia zo štúdie (n = 5) alebo z dôvodu, že nemali platné výsledky vzoriek s testom Aptima CMV Quant a schváleným testom (n = 1). Tabuľka 26 uvádza demografické a základné klinické charakteristiky 82 hodnotiteľných účastníkov.

Tabuľka 26: Demografické údaje a východiskové klinické charakteristiky účastníkov, ktorých bolo možné hodnotiť, celkovo a podľa typu transplantácie

Vlastnosti		SOTR	HSCTR	Všetko
Spolu, N		62	20	82
Pohlavie, n (%)	Muž	28 (45.2)	14 (70.0)	42 (51.2)
	Žena	34 (54.8)	6 (30.0)	40 (48.8)
Vek (roky)	Priemer ±(SD)	52.1 ±(12.93)	51.9 ±(14.60)	52.1 ±(13.27)
	Medián	53.0	54.5	54.0
	Minimum	20	22	20
	Maximum	81	69	81
Etnická príslušnosť, n (%)	Hispánska alebo latinskoamerická	2 (3.2)	3 (15.0)	5 (6.1)
	Iná ako hispánska alebo	41 (66.1)	17 (85.0)	58 (70.7)
	Neznáme	19 (30.6)	0 (0)	19 (23.2)
Rasa, n (%)	Americký indián/pôvodný obyvateľ	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Ázijská	1 (1.6)	1 (5.0)	2 (2.4)
	Čierna alebo afroamerická	17 (27.4)	0 (0)	17 (20.7)
	Pôvodný obyvateľ ostrova Hawaii/	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Bielá	37 (59.7)	18 (90.0)	55 (67.1)
	Iné	0 (0)	1 (5.0)	1 (1.2)
	Neznáme	7 (11.3)	0 (0)	7 (8.5)
Typ orgánu, n (%)	Obličky	25 (40.3)	--	--
	Pečeň	15 (24.2)	--	--
	Pľúca	10 (16.1)	--	--
	Srdce	12 (19.4)	--	--

Tabuľka 26: Demografické údaje a východiskové klinické charakteristiky účastníkov, ktorých bolo možné hodnotiť, celkovo a podľa typu transplantácie (*pokračovanie*)

Vlastnosti		SOTR	HSCTR	Všetko
Typ kmeňových buniek, n (%)	Alogénne	--	18 (90.0)	--
	Autológne	--	2 (10.0)	--
Sérologický status CMV, n (%)	Darca pozitívny/príjemca negatívny	34 (54.8)	3 (15.0)	37 (45.1)
	Darca negatívny/príjemca pozitívny	6 (9.7)	8 (40.0)	14 (17.1)
	Darca pozitívny/príjemca pozitívny	22 (35.5)	9 (45.0)	31 (37.8)
Na antivírusovej liečbe CMV, n		50 (80.6)	13 (65.0)	63 (76.8)
Dni antivírusovej liečby CMV				
n		41	12	53
Priemer		13.6	13.3	13.5
Medián		11	9.5	11
Minimum		1	1	1
Maximum		47	45	47

HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, SD = smerodajná odchýlka, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

V prospektívnej štúdií bolo 365 vzoriek plazmy odobratých 82 hodnotiteľným účastníkom. Okrem toho sa od dodávateľov klinických vzoriek získalo 261 zvyšných zmrazených vzoriek. Zo 626 klinických vzoriek plazmy (t. j. vzoriek odobratých v prospektívnej štúdií a zvyšných zmrazených vzoriek spolu) bolo do analýz zhody zahrnutých 597 párových (t. j. s platným výsledkom testu Aptima CMV Quant aj schváleného testu) klinických vzoriek plazmy. Z 597 párových klinických vzoriek bolo 339 vzoriek odobratých v rámci prospektívnej štúdie a 258 boli zvyšné zmrazené vzorky. Samostatne sa vykonali analýzy zhody na 181 párových vzorkách odobratých účastníkom po začatí antivírusovej liečby CMV v rámci bežnej starostlivosti počas prospektívnej štúdie.

Tabuľka 27 uvádza analýzu zhody a percentuálnu zhodu medzi testom Aptima CMV Quant a schváleným testom pri rôznych prahových hodnotách (celkom a podľa skupín transplantátu). Analýza zhody pri rôznych intervaloch vírusovej záťaže (celkom a podľa skupín transplantátu) je uvedená v Tabuľka 28. V štyroch z 597 celkových výsledkov sa zistil nesúlad vo viac ako bezprostredne susediacej kategórii, z ktorých 3 boli HSCTR.

Tabuľka 27: Analýza zhody a percentuálna zhoda pri rôznych prahových hodnotách (celkom a podľa skupín transplantátu)

Transplantát Prahová hodnota skupiny	N ^a	Výsledky porovnávacieho testu ^b a testu Aptima CMV Quant				PPA %(n/N) [95 % CI] ^c	NPA % (n/N) [95 % CI] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
Celkom							
TND	597	427	13	136	21	95.3 (427/448) [92.9, 96.9]	91.3 (136/149) [85.6, 94.8]
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	597	252	48	295	2	99.2 (252/254) [97.2, 99.8]	86.0 (295/343) [81.9, 89.3]
2.7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	597	158	37	397	5	96.9 (158/163) [93.0, 98.7]	91.5 (397/434) [88.5, 93.8]
3.3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	597	93	20	483	1	98.9 (93/94) [94.2, 99.8]	96.0 (483/503) [93.9, 97.4]
3.9 log ₁₀ IU/ml (7 943.3 IU/ml)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92.1, 100]	97.8 (540/552) [96.2, 98.8]
SOTR							
TND	403	295	9	85	14	95.5 (295/309) [92.5, 97.3]	90.4 (85/94) [82.8, 94.9]
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	403	197	26	178	2	99.0 (197/199) [96.4, 99.7]	87.3 (178/204) [82.0, 91.2]
2.7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	403	129	25	245	4	97.0 (129/133) [92.5, 98.8]	90.7 (245/270) [86.7, 93.6]
3.3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	403	78	16	308	1	98.7 (78/79) [93.2, 99.8]	95.1 (308/324) [92.1, 96.9]
3.9 log ₁₀ IU/ml (7 943.3 IU/ml)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91.4, 100]	97.2 (352/362) [95.0, 98.5]
HSCTR							
TND	194	132	4	51	7	95.0 (132/139) [90.0, 97.5]	92.7 (51/55) [82.7, 97.1]
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93.5, 100]	84.2 (117/139) [77.2, 89.3]
2.7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	194	29	12	152	1	96.7 (29/30) [83.3, 99.4]	92.7 (152/164) [87.6, 95.8]
3.3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79.6, 100]	97.8 (175/179) [94.4, 99.1]
3.9 log ₁₀ IU/ml (7 943.3 IU/ml)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51.0, 100]	98.9 (188/190) [96.2, 99.7]

ACMV = test Aptima CMV Quant, CI = interval spoľahlivosti, Comp = porovnávaci test, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, NPA = negatívna percentuálna zhoda, PPA = pozitívna percentuálna zhoda, SOTR = príjemcovia transplantátu solidných orgánov, TND = cieľ nedetegovaný

Poznámky:

≥: Výsledok je vyšší ako alebo rovný uvedenej prahovej hodnote

<: Výsledok je nižší ako uvedená prahová hodnota

PPA sumarizuje výsledky vyššie ako alebo rovné uvedenej prahovej hodnote; NPA sumarizuje výsledky nižšie ako uvedená prahová hodnota.

^a Počet párových klinických vzoriek (vzorky odobraté v prospektívnej štúdií skombinované so zmrazenými zvyšnými vzorkami získanými od dodávateľov klinických vzoriek).

^b schválený test

^c CI pre skóre

^d LLoQ alternatívneho schváleného testu

Tabuľka 28: Analýza zhody v rôznych intervaloch vírusovej záťaže (celkom a podľa skupín transplantátu)

Skupina transplantátu Výsledok testu Aptima CMV	Výsledok porovnávacieho testu ^a (log ₁₀ IU/ml)						
	Spolu ^a , N	TND	Detegované, < 2.1	≥ 2.1 až < 2.7	≥ 2.7 až < 3.3	≥ 3.3 až < 3.9	≥ 3.9
Celkom							
Celkový počet párových vzoriek, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥ 2.1 až < 2.7 log ₁₀ IU/ml	105	0	46	54	5	0	0
≥ 2.7 až < 3.3 log ₁₀ IU/ml	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥ 3.3 až < 3.9 log ₁₀ IU/ml	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥ 3.9 log ₁₀ IU/ml	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTR							
Celkový počet párových vzoriek, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥ 2.1 až < 2.7 log ₁₀ IU/ml	69	0	26	39	4	0	0
≥ 2.7 až < 3.3 log ₁₀ IU/ml	60	0	0	25	34	1	0
≥ 3.3 až < 3.9 log ₁₀ IU/ml	43	0	0	0	15	28	0
≥ 3.9 log ₁₀ IU/ml	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTR							
Celkový počet párových vzoriek, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥ 2.1 až < 2.7 log ₁₀ IU/ml	36	0	20	15	1	0	0
≥ 2.7 až < 3.3 log ₁₀ IU/ml	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥ 3.3 až < 3.9 log ₁₀ IU/ml	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥ 3.9 log ₁₀ IU/ml	6	0	0	0	0	2	4

HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, SOTR = príjemcovia transplantátu solidných orgánov, TND = cieľ nedetegovaný

^a Počet párových klinických vzoriek (vzorky odobraté v prospektívnej štúdií skombinované so zmrazenými zvyšnými vzorkami získanými od dodávateľov klinických vzoriek).

^b schválený test

^c LLoQ alternatívneho schváleného testu

^d 4 z 597 celkových výsledkov sa zistil nesúlad vo viac ako bezprostredne susediacej kategórii; 1 z týchto 4 bol zo SOTR a 3 zo 4 boli z HSCTR. Z 2 HSCTR, ktoré boli testované alternatívnym NAAT, sa u 1 zistila zhoda s výsledkami testu Aptima CMV Quant.

Tabuľka 29 uvádza analýzu zhody a percentuálnu zhodu pri rôznych prahových hodnotách (celkom a podľa skupín transplantátu) pre vzorky odobraté účastníkom po začatí antivírusovej liečby CMV v rámci bežnej starostlivosti v prospektívnej štúdií. Analýza zhody pri rôznych intervaloch vírusovej záťaže s použitím všetkých časových bodov po začatí liečby spolu (celkom a podľa skupín transplantátu) je uvedená v Tabuľka 30. V jednom zo 181 celkových výsledkov sa zistil nesúlad vo viac ako bezprostredne susediacej kategórii, čo sa pozorovalo v SOTR.

Tabuľka 29: Analýza zhody a percentuálna zhoda pri rôznych prahových hodnotách s použitím všetkých časových bodov po začatí liečby spolu (celkom a podľa skupín transplantátu)

Transplantát Prahová hodnota skupiny	N ^a	Výsledky porovnávacieho testu ^b a testu Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [95 % CI] ^c	NPA % (n/N) [95 % CI] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
Celkom							
TND	181	121	4	47	9	93.1 (121/130) [87.4, 96.3]	92.2 (47/51) [81.5, 96.9]
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94.7, 100]	86.6 (97/112) [79.1, 91.7]
2.7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	181	42	9	129	1	97.7 (42/43) [87.9, 99.6]	93.5 (129/138) [88.1, 96.5]
3.3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85.7, 100]	96.8 (153/158) [92.8, 98.6]
3.9 log ₁₀ IU/ml (7 943.3 IU/ml)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75.8, 100]	98.2 (166/169) [94.9, 99.4]
SOTR							
TND	136	102	2	26	6	94.4 (102/108) [88.4, 97.4]	92.9 (26/28) [77.4, 98.0]
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93.7, 100]	81.0 (64/79) [71.0, 88.1]
2.7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	136	34	8	93	1	97.1 (34/35) [85.5, 99.5]	92.1 (93/101) [85.1, 95.9]
3.3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82.4, 100]	95.8 (113/118) [90.5, 98.2]
3.9 log ₁₀ IU/ml (7 943.3 IU/ml)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72.2, 100]	97.6 (123/126) [93.2, 99.2]
HSCTR							
TND	45	19	2	21	3	86.4 (19/22) [66.7, 95.3]	91.3 (21/23) [73.2, 97.6]
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml (137 IU/ml) ^d	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75.8, 100]	100 (33/33) [89.6, 100]
2.7 log ₁₀ IU/ml (500 IU/ml)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67.6, 100]	97.3 (36/37) [86.2, 99.5]
3.3 log ₁₀ IU/ml (1 800 IU/ml)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56.6, 100]	100 (40/40) [91.2, 100]
3.9 log ₁₀ IU/ml (7 943.3 IU/ml)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34.2, 100]	100 (43/43) [91.8, 100]

ACMV = test Aptima CMV Quant, CI = interval spoľahlivosti, Comp = porovnávaci test, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, NPA = negatívna percentuálna zhoda, PPA = pozitívna percentuálna zhoda, SOTR = príjemcovia transplantátu solidných orgánov, TND = cieľ nedetegovaný

Poznámky:

- ≥: Výsledok je vyšší ako alebo rovný uvedenej prahovej hodnote
- <: Výsledok je nižší ako uvedená prahová hodnota
- PPA sumarizuje výsledky vyššie ako alebo rovné uvedenej prahovej hodnote; NPA sumarizuje výsledky nižšie ako uvedená prahová hodnota.

^a Počet párových vzoriek, ktoré boli odobraté účastníkom, ktorí pri zaradení do štúdie užívali antivírusovú liečbu CMV alebo začali užívať antivírusovú liečbu CMV počas prospektívnej štúdie.

^b schválený test

^c CI pre skóre

^d LLoQ alternatívneho schváleného testu

Tabuľka 30: Analýza zhody v rôznych intervaloch vírusovej záťaže s použitím všetkých časových bodov po začatí liečby (celkom a podľa skupín transplantátu)

Skupina transplantátu Výsledok Aptima CMV Quant	Výsledok porovnávacieho testu ^a (log ₁₀ IU/ml)						
	Spolu ^a , N	TND	Detegované, < 2.1	≥ 2.1 až < 2.7	≥ 2.7 až < 3.3	≥ 3.3 až < 3.9	≥ 3.9
Celkom							
Celkový počet párových vzoriek, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥ 2.1 až < 2.7 log ₁₀ IU/ml	33	0	15	17	1	0	0
≥ 2.7 až < 3.3 log ₁₀ IU/ml	23	0	0	9	14	0	0
≥ 3.3 až < 3.9 log ₁₀ IU/ml	13	0	0	0	4	9	0
≥ 3.9 log ₁₀ IU/ml	15	0	0	0	1 ^d	2	12
SOTR							
Celkový počet párových vzoriek, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥ 2.1 až < 2.7 log ₁₀ IU/ml	30	0	15	14	1	0	0
≥ 2.7 až < 3.3 log ₁₀ IU/ml	19	0	0	8	11	0	0
≥ 3.3 až < 3.9 log ₁₀ IU/ml	10	0	0	0	4	6	0
≥ 3.9 log ₁₀ IU/ml	13	0	0	0	1 ^d	2	10
HSCTR							
Celkový počet párových vzoriek, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Detegované, < 2.1 log ₁₀ IU/ml ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥ 2.1 až < 2.7 log ₁₀ IU/ml	3	0	0	3	0	0	0
≥ 2.7 až < 3.3 log ₁₀ IU/ml	4	0	0	1	3	0	0
≥ 3.3 až < 3.9 log ₁₀ IU/ml	3	0	0	0	0	3	0
≥ 3.9 log ₁₀ IU/ml	2	0	0	0	0	0	2

HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov, TND = cieľ nedetegovaný

^a Počet párových vzoriek, ktoré boli odobraté účastníkom, ktorí pri zaradení do štúdie užívali antivírusovú liečbu CMV alebo začali užívať antivírusovú liečbu CMV počas prospektívnej štúdie.

^b schválený test

^c LLoQ alternatívneho schváleného testu

^d V 1 zo 181 celkových výsledkov sa zistil nesúlad vo viac ako bezprostredne susediacej kategórii.

Porovnanie metód

Štúdia porovnania metód sa vykonala s cieľom posúdiť výkon testu Aptima CMV Quant v porovnaní so schváleným testom. Do analýz porovnania metód bolo zahrnutých 309 párových CMV-pozitívnych klinických vzoriek pozostávajúcich zo 165 vzoriek odobratých v prospektívnej štúdii a 144 zvyšných zmrazených vzoriek s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy. Okrem toho sa pripravilo celkovo 105 umelých vzoriek pridaním kultivovaného vírusu CMV do CMV-negatívnej EDTA plazmy, z ktorých 103 bolo v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy. Umelé vzorky sa analyzovali samostatne.

Tabuľka 31 predstavuje odhady parametrov Demingovej regresie (\log_{10} IU/ml). Obrázok 15 až Obrázok 18 uvádza Demingovu regresiu výsledkov vírusovej záťaže (\log_{10} IU/ml) z testu Aptima CMV Quant a schváleného testu.

Tabuľka 31: Odhady parametrov Demingovej regresie podľa typu vzorky a skupín transplantátu

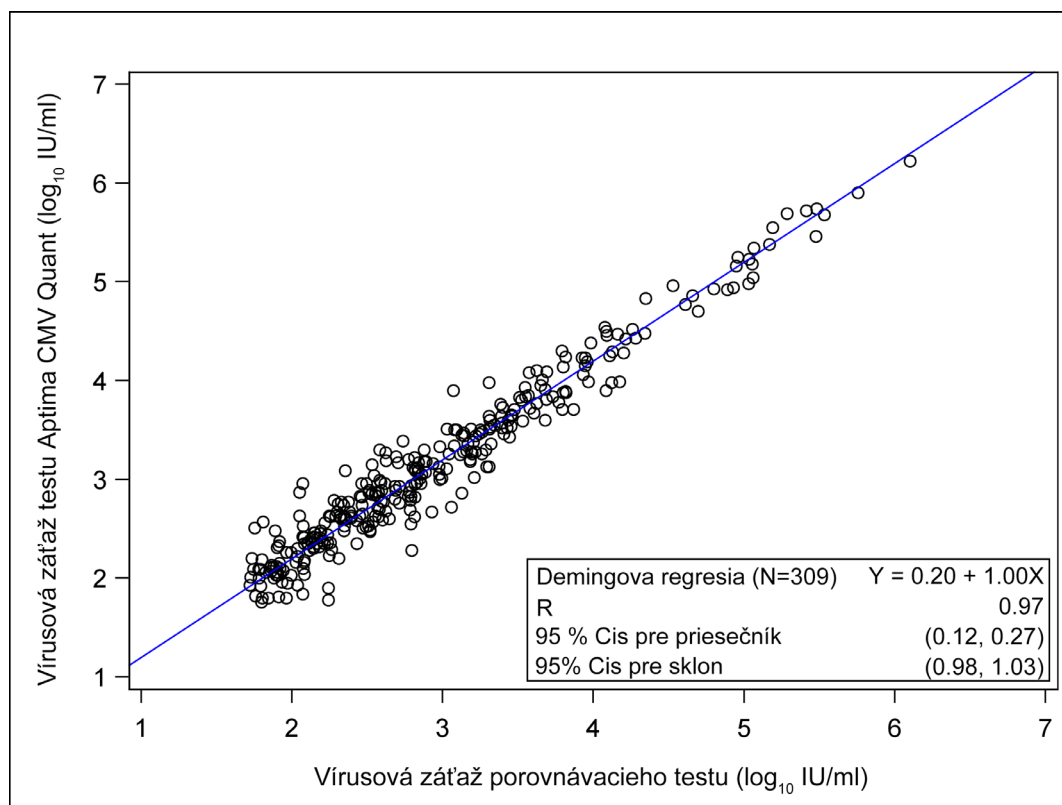
Typ vzorky	Skupina transplantátu	Jednotka vírusovej záťaže	Parameter	N ^a	Odhad	Metóda Jackknife ^b		Metóda Bootstrap ^c		r
						SE	95 % CI	SE	95 % CI	
Klinické	Celkom	\log_{10} IU/ml	Priesečník	309	0.20	0.038	(0.12, 0.27)	0.021	(0.15, 0.24)	0.97
			Sklon		1.00	0.011	(0.98, 1.03)	0.007	(0.99, 1.02)	
	SOTR	\log_{10} IU/ml	Priesečník	227	0.17	0.043	(0.09, 0.26)	0.025	(0.12, 0.22)	0.98
			Sklon		1.01	0.012	(0.98, 1.03)	0.008	(0.99, 1.02)	
	HSCTR	\log_{10} IU/ml	Priesečník	82	0.16	0.101	(-0.04, 0.36)	0.048	(0.07, 0.26)	0.95
			Sklon		1.03	0.037	(0.96, 1.11)	0.017	(1.00, 1.07)	
Umelé	nevzťahuje sa	\log_{10} IU/ml	Priesečník	103	0.06	0.058	(-0.05, 0.18)	0.059	(-0.05, 0.18)	1.00
			Sklon		1.01	0.011	(0.98, 1.03)	0.012	(0.98, 1.03)	

CI = interval spoľahlivosti, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, r = korelačný koeficient, SE = štandardná chyba, SOTRs = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

^a Počet párových vzoriek s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.

^b Predpokladá sa nezávislosť medzi všetkými vzorkami; na odhad SE a CI sa použila metóda jackknife.

^c Klinické vzorky boli upravené na koreláciu v rámci účastníka pomocou metódy opakovaného odberu vzoriek bootstrap s 500 iteráciami; táto metóda sa použila aj pre umelé vzorky, ale bez stratifikácie podľa účastníka.

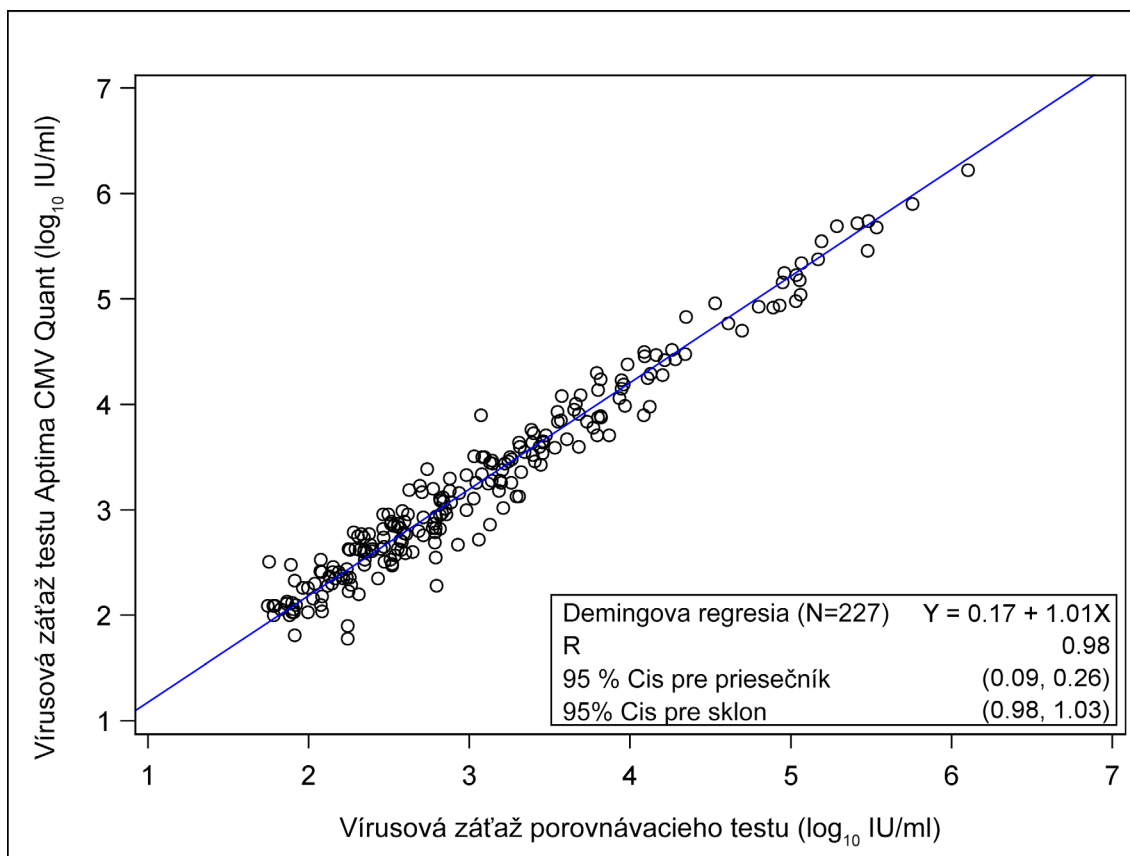


Obrázok 15. Demingov lineárny regresný graf (klinické vzorky: Kombinácia SOTR a HSCTR)

CI = interval spoľahlivosti, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, R = korelačný koeficient, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

Poznámky:

- Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.
- Demingov regresný model predpokladá nezávislosť medzi všetkými vzorkami; na odhad CI sa používa metóda jackknife.

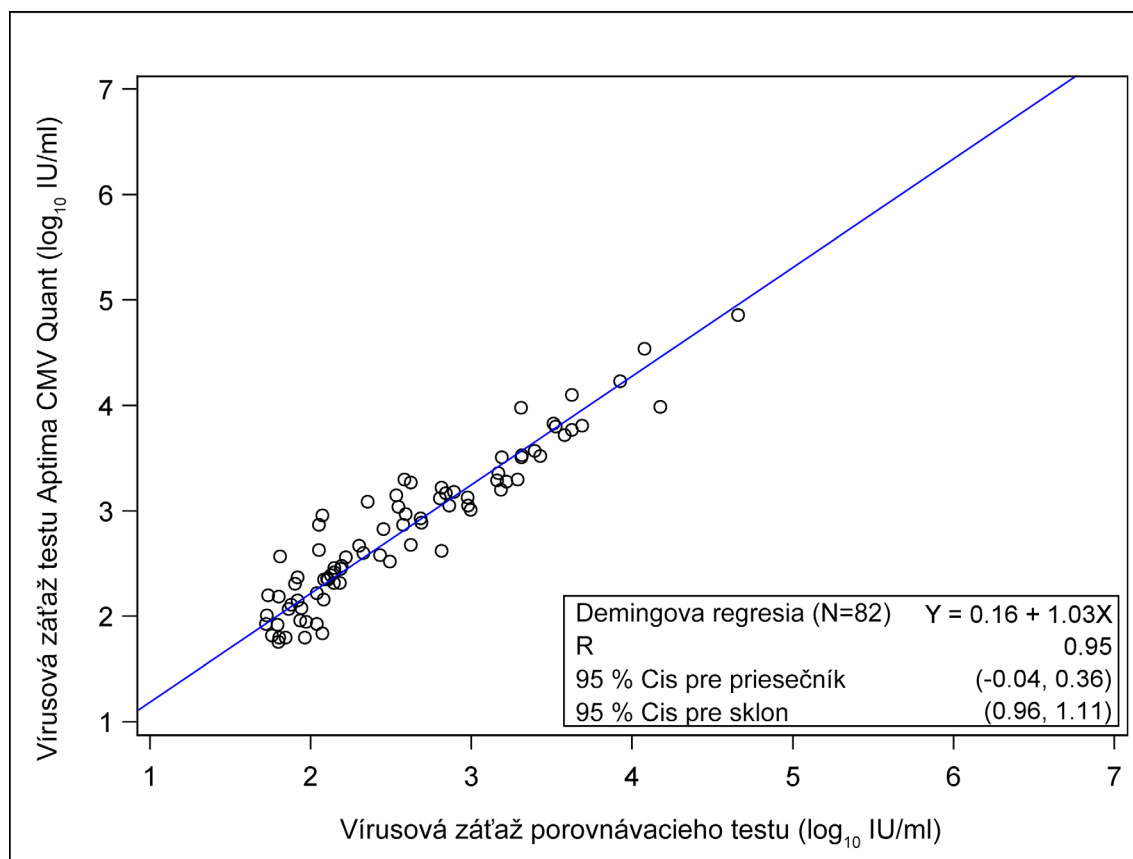


Obrázok 16. Demingov lineárny regresný graf vírusovej záťaže (klinické vzorky: Len SOTR)

CI = interval spoľahlivosti, SOTR = príjemcovia transplantátov solídnych orgánov, R = korelačný koeficient

Poznámky:

- Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.
- Demingov regresný model predpokladá nezávislosť medzi všetkými vzorkami; na odhad CI sa používa metóda jackknife.

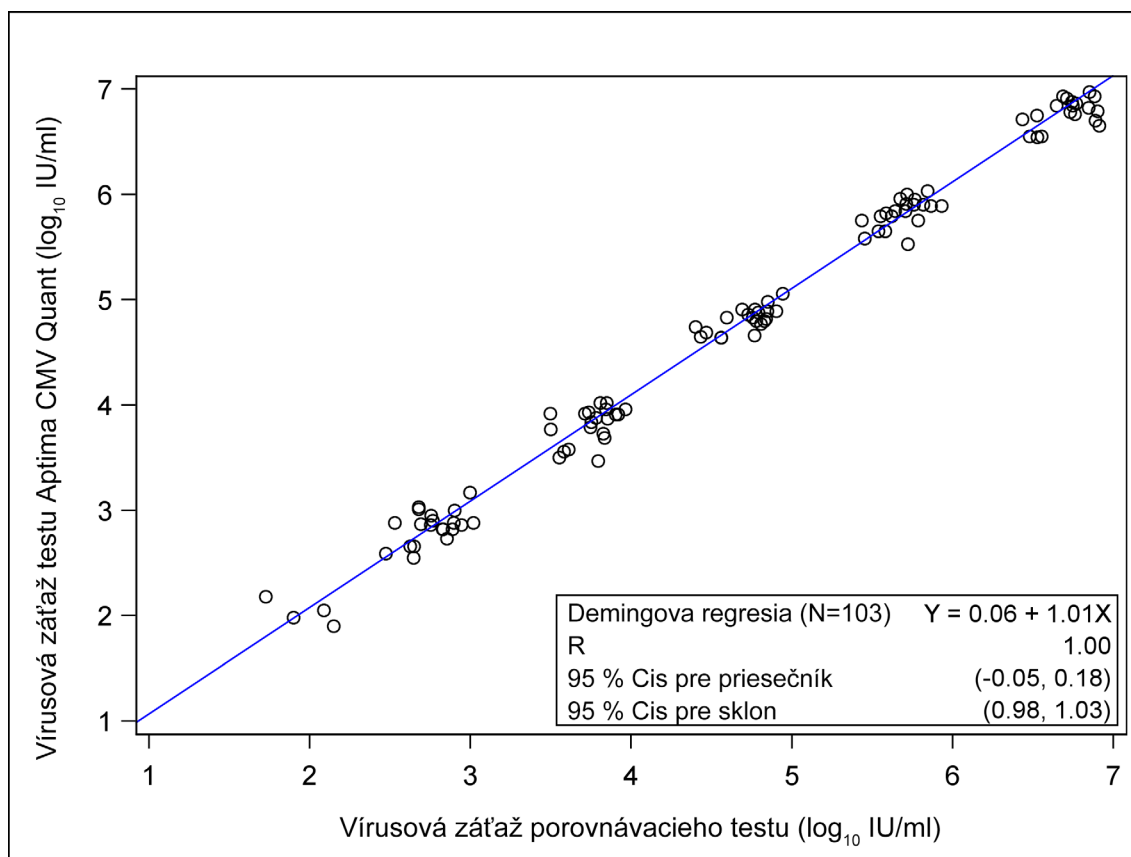


Obrázok 17. Demingov lineárny regresný graf vírusovej záťaže (klinické vzorky: len HSCTR)

CI = interval spoľahlivosti, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, R = korelačný koeficient

Poznámky:

- Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.
- Demingov regresný model predpokladá nezávislosť medzi všetkými vzorkami; na odhad CI sa používa metóda jackknife.



Obrázok 18. Demingov lineárny regresný graf vírusového zaťaženia (umelé vzorky)

CI = interval spoľahlivosti, R = korelačný koeficient

Poznámky:

- Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.
- Demingov regresný model predpokladá nezávislosť medzi všetkými vzorkami; na odhad CI sa používa metóda jackknife.

Priemerný párový rozdiel

Tabuľka 32 nižšie uvádza priemerný párový rozdiel medzi testom Aptima CMV Quant a schváleným testom v reprezentatívnych rozhodovacích intervaloch.

Tabuľka 32: Priemer párových rozdielov vírusovej záťaže v reprezentatívnych rozhodovacích intervaloch podľa typu vzorky a skupín transplantátu

Typ vzorky	Skupina transplantátu	Reprezentatívne rozhodovacie intervaly ^a (log ₁₀ IU/ml)	Celkový počet párových vzoriek ^b (N)	Priemer (SE)	95 % CI
Klinické	Celkom	Všetko	254	0.20 (0.012)	(0.17, 0.22)
		≥ 2.1 až < 3.0	129	0.21 (0.018)	(0.18, 0.25)
		≥ 3.0 až < 4.0	87	0.19 (0.021)	(0.15, 0.23)
		≥ 4.0 až < 5.0	24	0.17 (0.039)	(0.09, 0.25)
		≥ 5.0	14	0.18 (0.037)	(0.10, 0.26)
	SOTR	Všetko	199	0.18 (0.014)	(0.16, 0.21)
		≥ 2.1 až < 3.0	95	0.19 (0.021)	(0.14, 0.23)
		≥ 3.0 až < 4.0	69	0.18 (0.024)	(0.13, 0.23)
		≥ 4.0 až < 5.0	21	0.17 (0.038)	(0.09, 0.25)
		≥ 5.0	14	0.18 (0.037)	(0.10, 0.26)
	HSCTR	Všetko	55	0.26 (0.026)	(0.20, 0.31)
		≥ 2.1 až < 3.0	34	0.29 (0.034)	(0.22, 0.36)
		≥ 3.0 až < 4.0	18	0.22 (0.039)	(0.13, 0.30)
		≥ 4.0 až < 5.0	3	0.16 (0.188)	(-0.65, 0.97)
		≥ 5.0	0	NC (NC)	NC
Umelé	nevzťahuje sa	Všetko	100	0.08 (0.014)	(0.05, 0.11)
		≥ 2.1 až < 3.0	20	0.07 (0.037)	(0.00, 0.15)
		≥ 3.0 až < 4.0	21	0.05 (0.036)	(-0.03, 0.12)
		≥ 4.0 až < 5.0	20	0.10 (0.025)	(0.04, 0.15)
		≥ 5.0	39	0.10 (0.022)	(0.06, 0.14)

CI = interval spoľahlivosti, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, NC = nie je možné vypočítať, SE = štandardná chyba, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

^a Párové vzorky sú rozdelené do rozhodovacích intervalov na základe schváleného výsledku testu.

^b Počet párových vzoriek s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.

Systémová chyba pri vybraných úrovniach vírusovej záťaže

Tabuľka 33 nižšie predstavuje systémovú chybu medzi testom Aptima CMV Quant a schváleným testom pri piatich vybraných úrovniach vírusovej záťaže od 2.1 log₁₀ IU/ml do 7.0 log₁₀ IU/ml s príslušnými netransformovanými ekvivalentmi.

Tabuľka 33: Systémová chyba/systematický rozdiel pri vybraných úrovniach vírusovej záťaže podľa typu vzorky a skupiny transplantátu

Typ vzorky	Skupina transplantátu	Výber úrovni vírusovej záťaže log ₁₀ IU/ml (IU/ml)	Systémový rozdiel ^a log ₁₀ IU/ml (IU/ml)
Klinické	Celkom	2.1 (137)	0.20 (1 797.1)
		2.7 (500)	0.20 (1 948.2)
		3.3 (1 800)	0.21 (2 489.1)
		3.9 (7 943.3)	0.21 (5 045.3)
		7.0 (10 000 000)	0.22 (4 162 789.2)
	SOTR	2.1 (137)	0.18 (2 251.8)
		2.7 (500)	0.19 (2 402.4)
		3.3 (1 800)	0.19 (2 941.7)
		3.9 (7 943.3)	0.19 (5 490.5)
		7.0 (10 000 000)	0.21 (4 151 107.2)
	HSCTR	2.1 (137)	0.23 (180.1)
		2.7 (500)	0.25 (430.5)
		3.3 (1 800)	0.27 (1 327.2)
		3.9 (7 943.3)	0.29 (5 564.7)
		7.0 (10 000 000)	0.40 (6 897 935.4)
Umelé	nevzťahuje sa	2.1 (137)	0.07 (33 420.4)
		2.7 (500)	0.08 (33 467.9)
		3.3 (1 800)	0.08 (33 638.0)
		3.9 (7 943.3)	0.08 (34 442.0)
		7.0 (10 000 000)	0.10 (1 342 167.4)

HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov
^aSystematický rozdiel je rozdiel medzi výslednou premennou (Y) a vírusovou záťažou (X) odvodenou pri každej z vybraných úrovni vírusovej záťaže pomocou Demingových regresných odhadov pre sklon a priesečník.

Prípustný celkový rozdiel (ATD)

Tabuľka 34 spolu s Obrázok 19 až Obrázok 22 nižšie uvádzajú výsledky ATD pomocou párových rozdielov medzi testom Aptima CMV Quant a schváleným testom v porovnaní s ich priemerom pri reprezentatívnych prahových hodnotách a percentom párových výsledkov v zóne ATD.

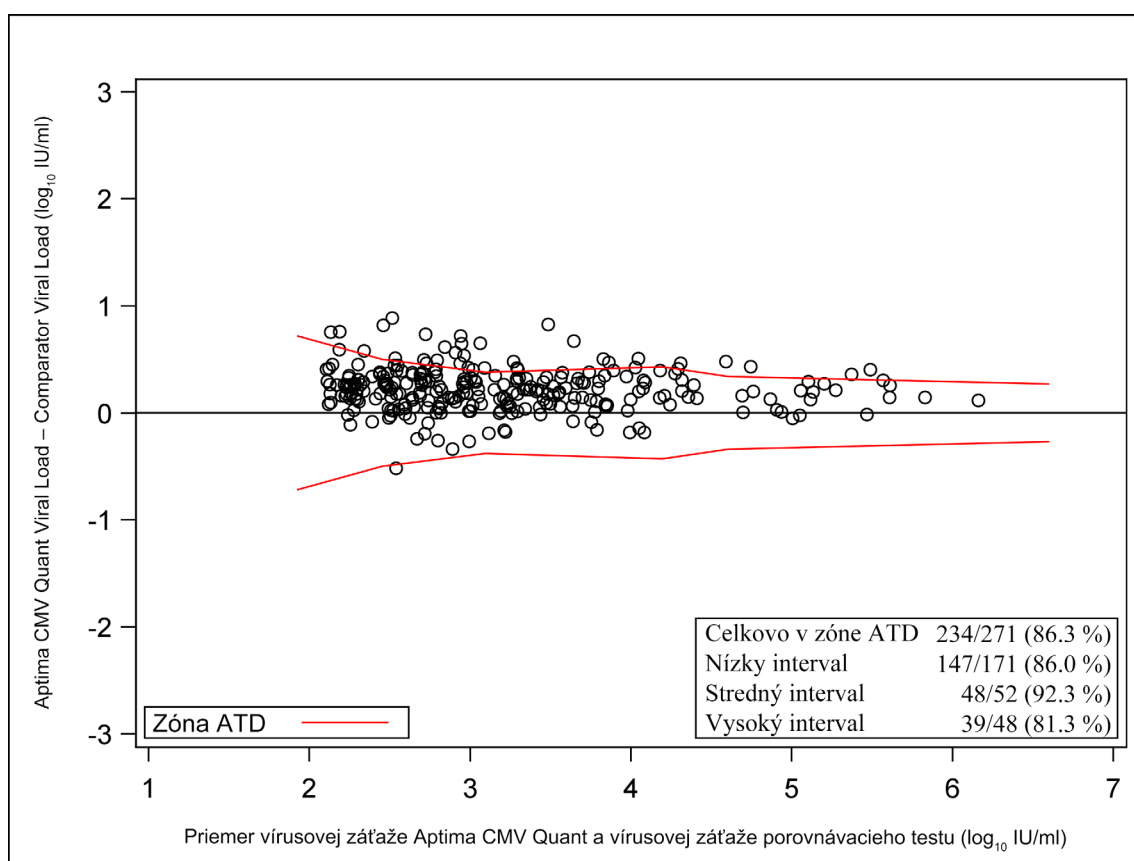
Tabuľka 34: Percento rozdielov párových vzoriek v rámci zóny prípustného celkového rozdielu (ATD) pri rôznych intervaloch vírusovej záťaže podľa typu vzorky a skupiny transplantátu

Typ vzorky	Skupina transplantátu	Intervaly vírusovej záťaže ^a (log ₁₀ IU/ml)	N ^b	Rozdiely v párových vzorkách v rámci zóny ATD				
				n (%)	Percentil			
					2.5 %	5 %	95 %	97.5 %
Klinické	Celkom	Všetko	271	234 (86.3)	-0.19	-0.14	0.40	0.42
		Nízky (≥ 2.1 až < 3.3)	171	147 (86.0)	-0.24	-0.16	0.41	0.44
		Stredný (≥ 3.3 až < 3.9)	52	48 (92.3)	-0.08	-0.08	0.38	0.38
		Vysoký (≥ 3.9 až < 7)	48	39 (81.3)	-0.18	-0.18	0.37	0.40
	SOTR	Všetko	207	183 (88.4)	-0.19	-0.14	0.40	0.42
		Nízky (≥ 2.1 až < 3.3)	123	109 (88.6)	-0.26	-0.18	0.41	0.44
		Stredný (≥ 3.3 až < 3.9)	40	38 (95.0)	-0.16	-0.08	0.38	0.40
		Vysoký (≥ 3.9 až < 7)	44	36 (81.8)	-0.18	-0.14	0.37	0.40
	HSCTR	Všetko	64	51 (79.7)	-0.18	0.01	0.38	0.41
		Nízky (≥ 2.1 až < 3.3)	48	38 (79.2)	-0.19	0.01	0.41	0.45
		Stredný (≥ 3.3 až < 3.9)	12	10 (83.3)	0.09	0.09	0.32	0.32
		Vysoký (≥ 3.9 až < 7)	4	3 (75.0)	-0.18	-0.18	0.31	0.31
Umelé	nevzťahuje sa	Všetko	99	96 (97.0)	-0.19	-0.14	0.29	0.34
		Nízky (≥ 2.1 až < 3.3)	20	20 (100)	-0.14	-0.13	0.35	0.35
		Stredný (≥ 3.3 až < 3.9)	14	13 (92.9)	-0.32	-0.32	0.27	0.27
		Vysoký (≥ 3.9 až < 7)	65	63 (96.9)	-0.19	-0.11	0.24	0.29

HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

^a Párové vzorky sú rozdelené do rozhodovacích intervalov na základe schváleného výsledku testu.

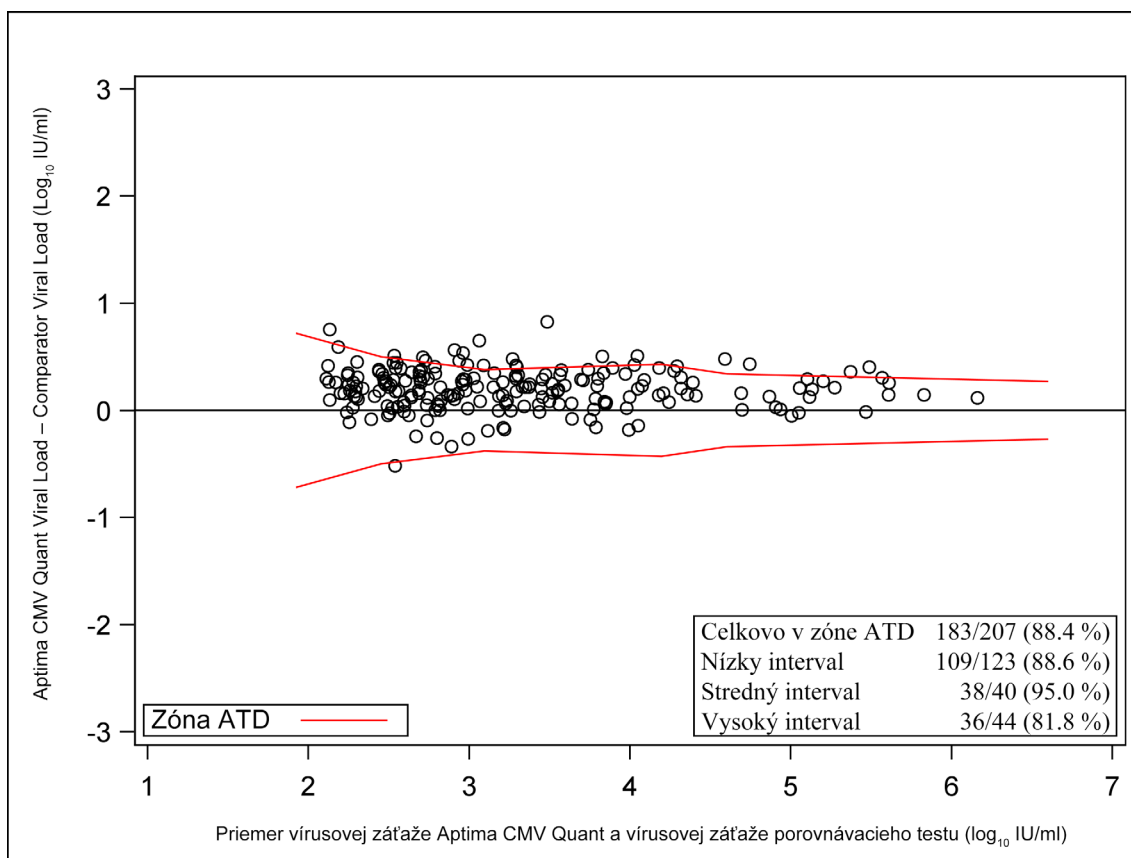
^b Počet párových vzoriek s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.



Obrázok 19. Graf rozdielu párových vzoriek a zóny ATD (klinické vzorky: Kombinácia SOTR a HSCTR)

ATD = prípustný celkový rozdiel, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

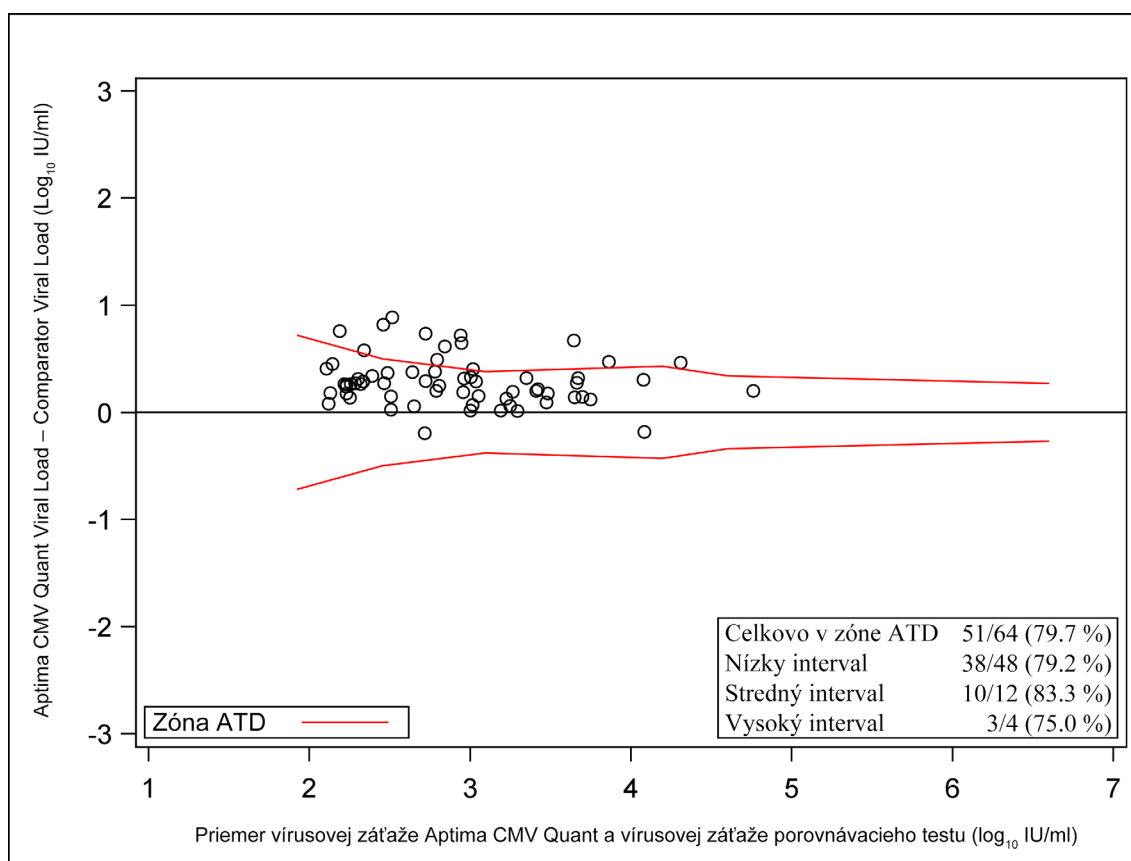
Poznámka: Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.



Obrázok 20. Graf rozdielu párových vzoriek a zóny ATD (klinické vzorky: Len SOTR)

ATD = prípustný celkový rozdiel, SOTR = príjemcovia transplantátu solídnych orgánov

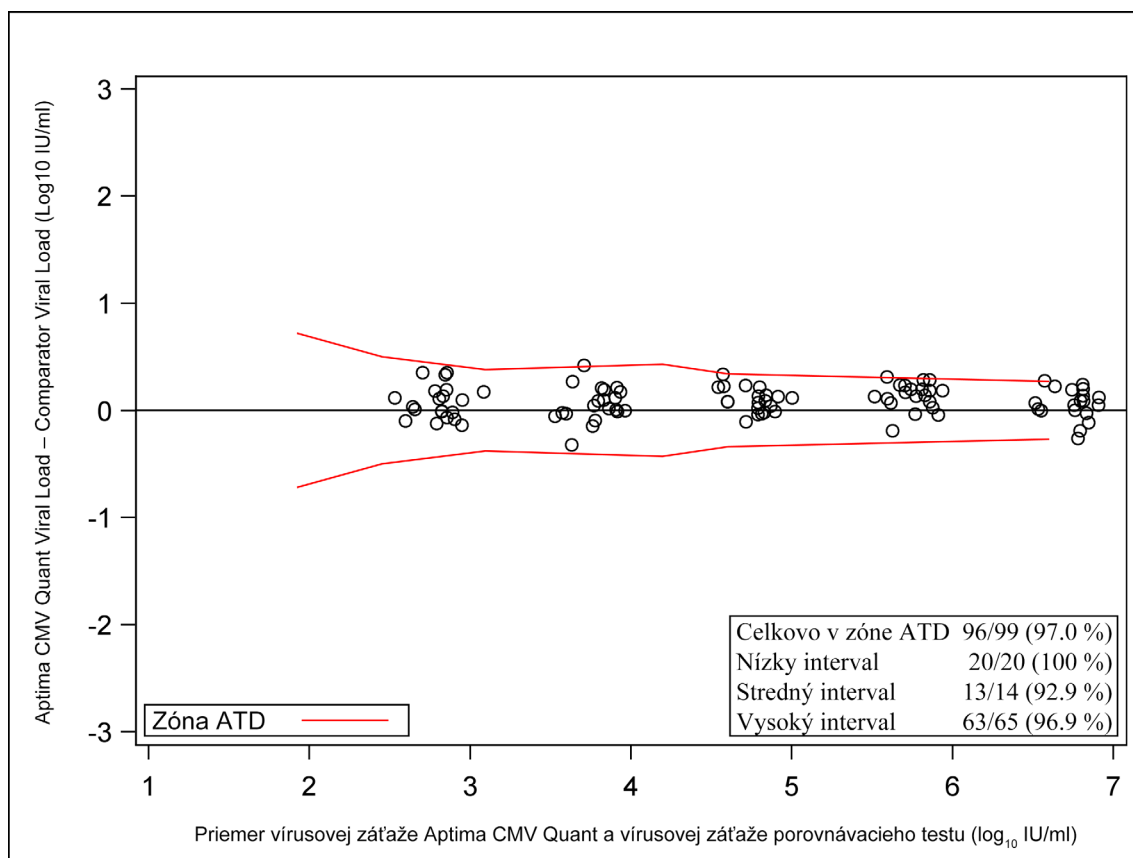
Poznámka: Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.



Obrázok 21. Graf rozdielu párových vzoriek a zóny ATD (klinické vzorky: len HSCTR)

ATD = prípustný celkový rozdiel, HSCTR = príjemcovia transplantátu krvotvorných kmeňových buniek

Poznámka: Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.



Obrázok 22. Graf rozdielu párových vzoriek a zóny ATD (umelé vzorky)

ATD = prípustný celkový rozdiel

Poznámka: Sú zahrnuté párové vzorky s výsledkami v spoločnom lineárnom rozsahu pre oba testy.

Literatúra

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.** The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Interference testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
21. **1. medzinárodný štandard WHO pre ľudský cytomegalovírus (HCMV) pre techniky amplifikácie nukleových kyselín (NIBSC 09/162),** kmeň Merlin

Kontaktné údaje a história revízií



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis pre konkrétnu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Závažné udalosti, ktoré sa vyskytli v Európskej únii v súvislosti s pomôckou, sa musia hlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom používateľ a/alebo pacient sídli.

Hologic, Aptima, Panther Fusion sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

Akkoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov amerických, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

© 2021 – 2024 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-27747-3201 Rev. 001

2024-06

História revízií	Dátum	Opis
AW- 27747 Rev. 002	Január 2025	Táto verzia je v súlade s AW- 27747-001 Rev. 002. (This version aligns with AW-27747-001 Rev. 002.)