

cobas[®] **CMV**

Ilościowy test kwasu nukleinowego do użytku z systemami cobas[®] 6800/8800

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

cobas[®] CMV

P/N: 07001029190

cobas[®] CMV Control Kit

P/N: 07001037190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190

Spis treści

Przeznaczenie	4
Podsumowanie oraz opis testu	4
Odczynniki i materiały	7
Odczynniki i kontrole do testu cobas® CMV	7
Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek	10
Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników.....	11
Wymagane materiały dodatkowe.....	12
Wymagane urządzenia i oprogramowanie	12
Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania	13
Ostrzeżenia i środki ostrożności.....	13
Użytkowanie odczynników	13
Dobra praktyka laboratoryjna	14
Pobieranie, transport i przechowywanie próbek	14
Próbki.....	14
Instrukcja użytkowania	16
Uwagi dotyczące wykonania testu	16
Wykonywanie testu cobas® CMV	16
Wyniki	17
Kontrola jakości i ważność wyników.....	17
Interpretacja wyników	18
Ograniczenia metody.....	18
Niekliniczna ocena wiarygodności	19
Kluczowe parametry wiarygodności testu	19
Granica wykrywalności (LoD)	19
Zakres liniowości	20
Precyzja wewnątrz laboratorium	21
Weryfikacja genotypu	21
Weryfikacja próbek lekoopornego CMV	22
Swoistość.....	23
Swoistość analityczna	23
Swoistość analityczna – substancje interferujące	24

Skuteczność w porównaniu z testem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV	25
Błąd całego systemu.....	26
Kontaminacja między próbkami	26
Wiarygodność kliniczna.....	27
Odtwarzalność kliniczna	27
Ocena wiarygodności klinicznej: populacja pacjentów po przeszczepie narządu mięszkowego (ang. <i>Solid Organ Transplant</i> , SOT)	28
Zgodność kliniczna w populacji po przeszczepie narządu mięszkowego (ang. <i>Solid Organ Transplant</i> , SOT).....	29
Zgodność wyjściowa.....	29
Analiza rozstrzygnięć w odniesieniu do danego dnia.....	32
Ogólne zgodności pomiędzy różnymi poziomami miana wirusa.....	35
Porównanie metod w populacji pacjentów po przeszczepie narządu mięszkowego	39
Błąd systematyczny przy wybranych poziomach miana wirusa.....	43
Średnia różnica pary.....	44
Dopuszczalna całkowita różnica (ATD).....	45
Zgodność z próbkami ujemnymi.....	48
Ocena wiarygodności klinicznej: populacja pacjentów po przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCT).....	49
Zgodność kliniczna w populacji HSCT	50
Porównanie metod w populacji pacjentów po przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych	58
Wnioski.....	67
Dodatkowe informacje	68
Najważniejsze cechy testu	68
Oznaczenia	69
Pomoc techniczna	70
Wytwórca	70
Znaki towarowe i patenty.....	70
Prawo autorskie	70
Piśmiennictwo	71
Wersja dokumentu.....	73

Przeznaczenie

cobas® CMV to test do amplifikacji kwasu nukleinowego w warunkach *in vitro* do ilościowego oznaczania DNA cytomegalowirusa (CMV) w ludzkim osoczu z krwi pobranej na EDTA.

cobas® CMV jest przeznaczony do stosowania jako pomoc w diagnostyce i leczeniu CMV u pacjentów po przeszczepach narządów mięszowych oraz pacjentów po przeszczepach hematopoetycznych komórek macierzystych. Test może być stosowany u tych populacji pacjentów w celu oceny potrzeby wprowadzenia leczenia przeciwwirusowego. U pacjentów poddanych leczeniu anty-CMV, seryjne oznaczenia DNA można stosować w celu oceny odpowiedzi wirusa na terapię.

Wyniki testu **cobas® CMV** muszą być interpretowane w oparciu o wszystkie istotne dane kliniczne i laboratoryjne.

Podsumowanie oraz opis testu

Informacje podstawowe

Ludzki cytomegalowirus (CMV) to patogen wirusowy należący do rodziny herpeswirusów występujących powszechnie na całym świecie.^{1,2} U gospodarzy immunokompetentnych, zakażenia CMV są często bezobjawowe, ale zasadnicze zakażenie lityczne może występować w postaci ostrego zespołu podobnego do mononukleozy. Po zakażeniu CMV zazwyczaj utrzymuje się jako dożywotnie zakażenie utajone, które może okresowo ulegać reaktywacji. Najczęstszymi miejscami zakażenia CMV są komórki jednojądrzaste krwi obwodowej linii szpikowej (ale nie limfocyty) oraz komórki śródbłonna.³ U człowieka wirus CMV pozostaje w stanie utajonym w monocytach/makrofagach.² Osoby z zakażeniem utajonym mogą bezobjawowo wydzielać wirusa do płynów ustrojowych (np. moczu, śliny) i w ten sposób zarażać innych. Osoby z obniżoną odpornością, w tym niemowlęta, biorcy przeszczepów oraz pacjenci z AIDS, należą do grupy wysokiego ryzyka wystąpienia ciężkich pierwotnych zakażeń CMV lub reaktywacji uśpionego CMV, które mogą prowadzić do podwyższonej zachorowalności i śmiertelności.⁴ Ciężkie objawy choroby CMV obejmują zapalenie siatkówki, poliradikulopatię, niezbyt żołądkowo-jelitowy, zapalenie wątroby, zapalenie mózgu, zapalenie przełyku, zapalenie jelit, zapalenie trzustki, zapalenie nerek, odrzucenie narządu dawcy, zapalenie płuc i zespół wirusowy CMV.⁵⁻⁷

Nasze obecne rozumienie istotnych klinicznie wartości progowych rozwoju choroby CMV pochodzi z różnorodnych badań przy użyciu różnych technik, populacji badania i punktów końcowych.⁸⁻¹⁵ Ogólnie, z ryzykiem rozwoju choroby ściślej związane jest wyższe miano wirusa CMV. Związek między wiremią i chorobą jest sigmoidalny, tj. ryzyko choroby CMV znacząco rośnie, po tym jak obciążenie wirusem CMV osiągnie „krytyczną wartość progową”. Na przykład podczas stosowania laboratoryjnego testu DNA CMV z krwi pełnej w celu badania biorców przeszczepu wątroby, kluczowa wartość progowa wynosiła $\geq 5 \log_{10}$ kopii/ml DNA CMV.¹³ U pacjentów z HIV/AIDS, stężenia DNA CMV były skorelowane z ryzykiem choroby CMV i śmiertelnością całkowitą.¹⁶⁻¹⁹

Jednak obecne metody laboratoryjne ilościowego oznaczania DNA CMV są ograniczone brakiem standaryzowanych wyników, co może prowadzić do wysokiego stopnia zmienności wewnątrz- i międzylaboratoryjnej.²⁰ W celu zapewnienia spójności wyników podczas leczenia pacjentów z chorobą CMV, kluczowe jest zwalidowanie odtwarzalności miana DNA wirusa CMV. Obecne wytyczne oparte na precyzji testów PCR sugerują, że zmiany seryjnych pomiarów miana wirusa powinny być co najmniej 3-krotne ($0,5 \log_{10}$), aby reprezentowały zmiany istotne biologicznie. Ponieważ zmienność jest największa przy niskich stężeniach, dla wartości bliskich dolnej granicy oznaczalności testu mogą być wymagane ponad 5-krotne ($0,7 \log_{10}$) zmiany wiremii, aby można je było uznać za istotne.^{11,12}

Chociaż ściśle wartości progowe nadal są przedmiotem debaty ze względu na zmienność pomiędzy testami, koncepcja kluczowej wartości progowej wydaje się być ważna i była zgłaszana w badaniach przyrodniczych pokazując, że wyższe wartości miana wirusa korelowały ze zwiększonym ryzykiem rozwoju choroby CMV.⁸⁻¹⁴ Jedno badanie wykorzystujące test COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR ustaliło wartość odcięcia prognozującą chorobę między 2000 i 5000 kopii/ml u seropozytywnych pod względem CMV biorców przeszczepu wątroby.¹⁰

Uzasadnienie badań NAT

Do metod laboratoryjnych stosowanych w diagnostyce zakażenia rozsianego oraz aktywnej choroby trzewnej spowodowanej ludzkim wirusem CMV należą: wyizolowanie wirusa metodą hodowli z leukocytów krwi obwodowej (ang. *Peripheral Blood Leukocytes*, PBL), badanie histologiczne biopsji, metody serologiczne, pomiar poziomu antygeny pp65 oraz detekcja DNA CMV przy użyciu łańcuchowej reakcji polimerazy (ang. *Polymerase Chain Reaction*, PCR).²¹ Serologia posiada jedynie wartość umożliwiającą określenie, czy pacjent był wcześniej zakażony wirusem CMV i czy występuje ryzyko reaktywacji. Metody hodowli mają małą wartość predykcyjną; czas hodowli wynosi ponad 48 godzin, a ich zastosowanie ograniczone jest do pacjentów z upośledzoną odpornością. Ocena antygenemii pp65 jest pracochłonna i wymaga opracowania próbki krwi w ciągu 6 godzin od jej pobrania, ponieważ przechowywanie próbki powoduje obniżenie antygenemii.²² Test pp65 jest również trudny do przeprowadzenia u pacjentów z neutropenią. Bezpośrednia detekcja DNA wirusa CMV za pomocą metod PCR w czasie rzeczywistym potencjalnie oferuje szeroki zakres dynamiczny, precyzję i wysoką czułość.

Objaśnienie testu

cobas® CMV to ilościowy test stosowany w systemie cobas® 6800 i cobas® 8800. Test cobas® CMV umożliwia wykrywanie oraz ilościowe oznaczanie DNA CMV w pobranych od zakażonych pacjentów próbkach osocza krwi pobranej na EDTA. Miano wirusa jest określane ilościowo w porównaniu ze standardem kwantyfikacji DNA nie-CMV (DNA-QS), który jest wprowadzany do każdej próbki podczas jej przetwarzania. DNA-QS pełni również funkcje monitorowania całego procesu przygotowania próbki oraz amplifikacji PCR. Dodatkowo test wykorzystuje trzy kontrole zewnętrzne: o wysokim mianie dodatnim, o niskim mianie dodatnim i kontrolę ujemną.

Zasady procedury

Test cobas® CMV opiera się na całkowicie zautomatyzowanym przygotowaniu próbek (ekstrakcji i oczyszczaniu kwasów nukleinowych), po którym przeprowadzana jest amplifikacja i detekcja podczas reakcji PCR. cobas® 6800/8800 składa się z modułu podawania próbek, modułu transferu, modułu przetwarzania oraz modułu analitycznego. Automatyczne przetwarzanie danych jest prowadzone przez oprogramowanie cobas® 6800/8800, które przypisuje wynik testu dla wszystkich badań jako nie wykryto targetu, wykryto DNA CMV < dolnej granicy oznaczalności, wykryto DNA CMV > górnej granicy oznaczalności lub wartość w liniowym zakresie oznaczalności (dolna granica oznaczalności < x < górna granica oznaczalności). Wyniki można analizować bezpośrednio na ekranie systemu, można je eksportować lub wydrukować w postaci raportu.

Następuje jednoczesne wyodrębnienie kwasów nukleinowych z próbek pacjentów i dodanych cząsteczek DNA-QS lambda. Podsumowując, kwas nukleinowy wirusa jest uwalniany przez dodanie do próbki proteiny i odczynnik do lizy. Uwolniony kwas nukleinowy wiąże się z silikonową powierzchnią dodanych szklanych cząstek magnetycznych. Niezwiązane substancje i zanieczyszczenia, takie jak zdenaturowane białko, debris komórkowy i potencjalne inhibitory reakcji PCR są usuwane na kolejnych etapach z użyciem odczynnik myjącego, a oczyszczony kwas nukleinowy jest następnie wymywany w podwyższonej temperaturze ze szklanych cząstek z użyciem buforu do elucji.

Wybiórcza amplifikacja docelowego kwasu nukleinowego z próbki jest osiągnięta przez zastosowanie docelowych swoistych dla wirusa starterów, przedniego i wstecznego, wybranych z wysoce konserwatywnych regionów genu polimerazy DNA wirusa CMV (UL54). Selektywna amplifikacja DNA-QS uzyskiwana jest przy użyciu swoistych dla sekwencji starterów przedniego i wstecznego, które wybierane są tak, aby nie były homologiczne z genomem CMV. Do amplifikacji wykorzystywana jest termostabilna polimeraza DNA. Sekwencje docelowa oraz DNA-QS są amplifikowane jednocześnie przy użyciu uniwersalnego profilu amplifikacji PCR ze wstępnie zdefiniowanymi etapami temperatury i liczby cykli. Mastermiks zamiast trifosforanu deoksytymidyny (dTTP) zawiera trifosforan deoksyurydyny (dUTP), który jest wbudowywany do nowo syntetyzowanego DNA (amplikonu).²³⁻²⁵ Wszystkie zanieczyszczające amplikony z poprzednich reakcji PCR eliminowane są podczas pierwszego cyklu termicznego reakcji za pomocą znajdującego się w mieszaninie PCR enzymu AmpErase. Jednak nowo powstały amplikon nie jest eliminowany, gdyż enzym AmpErase w temperaturze przekraczającej 55°C ulega inaktywacji.

Mastermiks **cobas**® CMV zawiera jedną sondę detekcyjną swoistą dla docelowych sekwencji CMV i jedną sondę dla DNA-QS. Sondy znakowane są za pomocą swoistych dla sekwencji docelowych fluorescencyjnych barwników reporterowych, pozwalających na równoczesne wykrywanie docelowej sekwencji CMV i DNA-QS w dwóch różnych kanałach detekcji.^{26,27} Sygnał fluorescencyjny nienaruszonych sond jest tłumiony przez barwnik wygaszający. Podczas amplifikacji PCR hybrydyzacja sondy do swoistej sekwencji jednoniciowej matrycy DNA powoduje rozszczepienie nici przez polimerazę DNA dzięki jej aktywności nukleolitycznej w kierunku 5' do 3', co powoduje rozdzielenie barwników reporterowych i wygaszających oraz wygenerowanie sygnału fluorescencyjnego. Z każdym cyklem PCR generowana jest zwiększająca się liczba rozszczepionych sond i jednocześnie wzrasta sumaryczny sygnał barwnika reporterowego. Wykrycie w czasie rzeczywistym i rozróżnienie produktów PCR ma miejsce poprzez pomiar fluorescencji uwolnionych barwników reporterowych reprezentujących docelowe wirusy i DNA-QS.

Odczynniki i materiały





Odczynniki i kontrole do testu cobas® CMV

Wszystkie nieotwarte odczynniki i kontrole należy przechowywać zgodnie z zaleceniami, które zawierają tabele od Tabela 1 do Tabela 4.

Tabela 1 cobas® CMV

cobas® CMV		
Przechowywać w temperaturze 2–8°C		
Kaseta na 96 testów (P/N 07001029190)		
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw 96 testów
Roztwór proteinyazy (PASE)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, chlorek wapnia, octan wapnia, 8% proteinyazy EUH210: Karta charakterystyki dostępna na żądanie. EUH208: Zawiera subtylizynę. Może powodować wystąpienie reakcji alergicznej.	13 ml
DNA Quantitation Standard (DNA-QS)	Bufor Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% konstruktu innego niż DNA CMV zawierającego starter wiążący region inny niż CMV oraz region unikatowej sondy (niezakaźny DNA), < 0,002% Poli-rA RNA (syntetyczny), < 0,1% azydku sodu	13 ml
Bufor do elucji (EB)	Bufor Tris, 0,2% metylo-4-hydroksybenzoesan	13 ml
Odczynnik Master Mix 1 (MMX-R1)	Octan magnezu, wodorotlenek potasu, < 0,1% azydku sodu	5,5 ml
CMV Master Mix Reagent 2 (CMV MMX-R2)	Bufor trycynowy, octan potasu, < 18% dimetylosulfotlenek, glicerol, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% starterów przednich i wstecznych dla CMV, < 0,01% starterów przednich i wstecznych standardu ilościowego, < 0,01% znakowanych barwnikami fluorescencyjnymi sond oligonukleotydowych, swoistych dla CMV i standardu ilościowego CMV, < 0,01% aptameru oligonukleotydowego, < 0,1% polimerazy DNA Z05D, < 0,10% enzymu AmpErase (uracylo-N-glikozylazy) (bakteryjnej), < 0,1% azydku sodu	6 ml

Tabela 2 cobas® CMV Control Kit

cobas® CMV Control Kit			
Przechowywać w 2–8°C (P/N 07001037190)			
Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola CMV nisko dodatnia (CMV L(+))C	< 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA CMV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga lambda, prawidłowe osocze ludzkie, bez DNA CMV wykrywalnego metodami PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Mieszanina: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).</p>
Kontrola CMV wysoko dodatnia (CMV H(+))C	< 0,001% syntetycznego (plazmidowego) DNA CMV opłaszczanego białkiem kapsydowym bakteriofaga lambda, prawidłowe osocze ludzkie, bez DNA CMV wykrywalnego metodami PCR 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wносить poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Mieszanina: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).</p>


* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

Tabela 3 cobas® NHP Negative Control Kit**cobas® NHP Negative Control Kit**

Przechowywać w temperaturze 2–8°C

(P/N 07002220190)


Elementy zestawu	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie*
Kontrola ujemna z prawidłowego osocza ludzkiego (NHP-NC)	Prawidłowe osocze ludzkie, DNA CMV niewykrywalne metodami PCR < 0,1% substancji konserwującej ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>OSTRZEŻENIE</p> <p>H317: Może powodować reakcję alergiczną skóry. P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. P272: Zanieczyszczonej odzieży ochronnej nie wynosić poza miejsce pracy. P280: Stosować rękawice ochronne. P333 + P313: W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. P362 + P364: Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem. P501: Zawartość/pojemnik usuwać do autoryzowanego zakładu utylizacji odpadów. 55965-84-9 Mieszanina: 5-chloro-2-metylo-4-izotiazolino-3-on [WE nr 247-500-7] i 2-metylo-2H-izotiazolo-3-on [WE nr 220-239-6] (3:1).</p>

* Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

** Substancja niebezpieczna.

Odczynniki cobas omni do przygotowywania próbek

Tabela 4 Odczynniki **cobas omni** do przygotowywania próbek*

Odczynniki	Skład odczynników	Ilość na zestaw	Symbol bezpieczeństwa i ostrzeżenie**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997546190)	Szklane cząstki magnetyczne, bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoenu, < 0,1% azydku sodu	480 testów	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997511190)	Bufor Tris, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoenu, < 0,1% azydku sodu	4 × 875 ml	Nie dotyczy
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Przechowywać w 2–8°C (P/N 06997538190)	43% (udział wagowy) tiocyjanian guanidyny***, 5% (udział wagowo-obj.) polidokanol***, 2% (udział wagowo-obj.) ditiotreitol***, dwuwodny cytrynian sodu	4 × 875 ml	 <p>NIEBEZPIECZEŃSTWO</p> <p>H302 + H332: Działa szkodliwie po połknięciu i w następstwie wdychania.</p> <p>H314: Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu.</p> <p>H412: Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.</p> <p>EUH032: W kontakcie z kwasami uwalnia bardzo toksyczne gazy.</p> <p>P261: Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy.</p> <p>P273: Unikać uwolnienia do środowiska.</p> <p>P280: Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.</p> <p>P303 + P361 + P353: W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ (lub z włosami): natychmiast zdjęć całą skażoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody.</p> <p>P304 + P340 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO DRÓG ODDECHOWYCH: wyprowadzić lub wynieść poszkodowanego na świeże powietrze i zapewnić mu warunki do swobodnego oddychania. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ/lekarzem.</p> <p>593-84-0 Tiocyjanian guanidyny 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimerkaptobutano-2,3-diol</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Przechowywać w 15–30°C (P/N 06997503190)	Dwuwodny cytrynian sodu, 0,1% metylo-4-hydroksybenzoenu	4,2 l	Nie dotyczy

* Te odczynniki nie są dołączone do zestawu testu **cobas®** CMV. Należy zapoznać się z listą wymaganych materiałów dodatkowych (Tabela 7).

** Oznakowanie bezpieczeństwa produktu jest zgodne przede wszystkim z wytycznymi GHS UE.

*** Substancja niebezpieczna.

Wymagania dotyczące przechowywania i użytkowania odczynników

Odczynniki należy przechowywać i użytkować zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5 i Tabela 6.

Jeśli odczynniki nie zostały umieszczone w cobas® 6800/8800, należy przechowywać je w odpowiedniej temperaturze, zgodnie z informacjami, które zawiera Tabela 5.

Tabela 5 Przechowywanie odczynników (umieszczonych poza systemem)

Odczynnik	Temperatura przechowywania
cobas® CMV – 96	2–8°C
cobas® CMV Control Kit	2–8°C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8°C
cobas omni Lysis Reagent	2–8°C
cobas omni MGP Reagent	2–8°C
cobas omni Specimen Diluent	2–8°C
cobas omni Wash Reagent	15–30°C

Odczynniki umieszczone w systemach cobas® 6800/8800 przechowywane są w odpowiedniej temperaturze, a ich data przydatności do użycia monitorowana jest przez system. Systemy cobas® 6800/8800 umożliwiają wykorzystanie odczynników tylko w przypadku spełnienia wszystkich warunków, które zawiera Tabela 6. System automatycznie uniemożliwia wykorzystanie przeterminowanych odczynników. Tabela 6 pozwala na zrozumienie wymuszonych przez systemy cobas® 6800/8800 warunków użytkowania odczynników.

Tabela 6 Warunki dotyczące daty ważności odczynników wymuszane przez systemy cobas® 6800/8800

Odczynnik	Data ważności zestawu	Stabilność otwartego zestawu	Liczba przebiegów pracy, do których można wykorzystać zestaw	Stabilność na pokładzie urządzenia (łącznie czas w urządzeniu poza chłodziarką)
cobas® CMV – 96	Nieprzekroczona	30 dni od pierwszego użycia	Maksymalnie 10 przebiegów	Maksymalnie 8 godzin
cobas® CMV Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy	Nie dotyczy	Maksymalnie 8 godzin
cobas® NHP Negative Control Kit	Nieprzekroczona	Nie dotyczy	Nie dotyczy	Maksymalnie 10 godzin
cobas omni Lysis Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni MGP Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Specimen Diluent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy
cobas omni Wash Reagent	Nieprzekroczona	30 dni od umieszczenia w systemie*	Nie dotyczy	Nie dotyczy

* Czas jest mierzony od umieszczenia po raz pierwszy odczynnika w systemach cobas® 6800/8800.

Wymagane materiały dodatkowe

Tabela 7 Materiały i materiały zużywalne do użytku z systemami **cobas®** 6800/8800

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Worek na odpady stałe	07435967001
Pojemnik na odpady stałe	07094361001

Wymagane urządzenia i oprogramowanie

W aparatach należy zainstalować oprogramowanie **cobas®** 6800/8800 oraz pakiet oprogramowania do analizy **cobas®** CMV. Z systemem dostarczany jest serwer Instrument Gateway (IG).

Tabela 8 Urządzenia

Wyposażenie	P/N
cobas® 6800 System (opcja, na ruchomej platformie)	05524245001 i 06379672001
cobas® 6800 System (nieruchomy)	05524245001 i 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Moduł dostarczania próbek	06301037001

Dodatkowe informacje dotyczące pierwotnych i wtórnych próbek próbkowych akceptowanych przez urządzenia zawiera podręcznik użytkownika systemów **cobas®** 6800/8800 System.

Uwaga: szczegółową listę zamówień na statywy próbkowe, statywy na niedrożne końcówki i tace na statywy akceptowane przez urządzenia można uzyskać po skontaktowaniu się z przedstawicielem serwisu Roche.

Wymagania dotyczące środków ostrożności i użytkowania

Ostrzeżenia i środki ostrożności

Podobnie jak w przypadku każdej procedury testowej, dla prawidłowego przeprowadzenia badania kluczowe znaczenie ma zachowanie zasad dobrej praktyki laboratoryjnej. Z uwagi na wysoką czułość niniejszego testu podczas użytkowania odczynników oraz mieszanin do amplifikacji należy zachować szczególną ostrożność, aby zapobiec zanieczyszczeniu.

- Do stosowania wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Test **cobas**® CMV nie został zaprojektowany jako badanie przesiewowe na obecność wirusa CMV we krwi lub produktach krwiopochodnych.
- Ze wszystkimi próbkami pacjentów należy obchodzić się tak jak z materiałem zakaźnym, stosując procedury dobrej praktyki laboratoryjnej, takie jak określone w dokumentach Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories oraz CLSI Document M29-A4.^{28,29} Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel doświadczony w obchodzeniu się z materiałem zakaźnym, użytkowaniu testu **cobas**® CMV i systemu **cobas**® 6800/8800.
- Wszystkie materiały pochodzenia ludzkiego należy uważać za potencjalnie zakaźne i postępować z nimi z zastosowaniem ogólnych środków ostrożności. W przypadku rozlania materiału należy natychmiast odkazić świeżo przygotowanym 0,5% roztworem podchlorynu sodu w destylowanej lub dejonizowanej wodzie (wybielacz rozcieńczony w stosunku 1:10) lub postępować zgodnie z procedurami przyjętymi w danym ośrodku.
- **cobas**® CMV Control Kit oraz **cobas**® NHP Negative Control Kit zawierają osocze uzyskane z krwi ludzkiej. Materiał źródłowy przetestowano metodami PCR i nie wykazano w nim wykrywalnego DNA CMV. Żadna ze znanych metod badania nie może zaoferować całkowitej pewności, że produkty otrzymane z ludzkiej krwi nie będą przenosić czynników zakaźnych.
- **Nie zamrażać pełnej krwi ani innych próbek przechowywanych w probówkach pierwotnych.**
- W celu zagwarantowania optymalnego działania testu należy stosować wyłącznie dostarczone lub wymienione potrzebne materiały zużywalne.
- Karty charakterystyki są dostępne na żądanie w lokalnym przedstawicielstwie firmy Roche.
- Ścisłe przestrzegać podanych procedur i wytycznych w celu zapewnienia prawidłowego wykonania testu. Wszelkie odchylenia od procedur i wytycznych mogą mieć wpływ na optymalną skuteczność testu.
- Jeżeli w trakcie pracy z próbkami i na etapie ich przygotowywania nie stosuje się odpowiedniej kontroli kontaminacji pomiędzy próbkami, może dojść do uzyskania fałszywie dodatnich wyników.

Użytkowanie odczynników

- Aby uniknąć zanieczyszczenia pomiędzy próbkami lub kontrolami, ze wszystkimi odczynnikami, kontrolami i próbkami należy postępować zgodnie z zasadami dobrej praktyki laboratoryjnej.
- Przed użyciem należy ocenić wzrokowo każdą kasetę odczynnikową, rozcieńczalnik, odczynnik do lizy i odczynnik płuczający, aby upewnić się, że nie ma jakiegokolwiek wycieku. W razie wystąpienia wycieku nie wolno używać tego materiału do badania.
- **cobas omni** Lysis Reagent zawiera izotiocyanian guanidyny, potencjalnie niebezpieczną substancję chemiczną. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia.

- Zestawy testu **cobas®** CMV, **cobas omni** MGP Reagent oraz **cobas omni** Specimen Diluent zawierają azydek sodu jako substancję konserwującą. Nie dopuszczać do kontaktu odczynników ze skórą, oczami i błonami śluzowymi. Jeżeli dojdzie do kontaktu, natychmiast spłukać dużą ilością wody; w przeciwnym razie mogą powstać oparzenia. Jeżeli dojdzie do rozlania wymienionych odczynników, przed wytarciem należy rozcieńczyć je wodą.
- Nie wolno dopuszczać do kontaktu **cobas omni** Lysis Reagent, zawierającego tiocyjanian guanidyny, z roztworem podchlorynu sodu (wybielaczem). Połączenie to może skutkować wytworzeniem silnie trującego gazu.
- Wszystkie materiały, które przypadkowo weszły w kontakt z próbkami i odczynnikami, należy utylizować zgodnie z przepisami krajowymi i lokalnymi.

Dobra praktyka laboratoryjna

- Nie należy pipetować za pomocą ust.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić tytoniu w obszarach roboczych.
- Podczas pracy z próbkami i odczynnikami należy nosić rękawiczki laboratoryjne, fartuch oraz osłonę oczu. W celu uniknięcia zanieczyszczenia należy zmieniać rękawice pomiędzy próbkami i użytkowaniem zestawów **cobas®** CMV oraz odczynników **cobas omni**. Podczas pracy z próbkami i kontrolami należy unikać zanieczyszczenia rękawiczek.
- Po zakończeniu pracy z próbkami i zestawami odczynnikowymi oraz po zdjęciu rękawiczek należy dokładnie umyć ręce.
- Dokładnie oczyścić i odkazić wszystkie laboratoryjne powierzchnie robocze świeżo przygotowanym roztworem 0,5% podchlorynu sodu w wodzie destylowanej lub dejonizowanej (rozcieńczyć domowy wybielacz w stosunku 1:10). Następnie przetrzeć powierzchnię 70% etanolem.
- Jeśli dojdzie do rozlania płynu na powierzchni urządzenia **cobas®** 6800/8800, należy postępować zgodnie z instrukcjami zamieszczonymi w podręczniku użytkownika systemów **cobas®** 6800/8800 w celu prawidłowego wyczyszczenia i odkażenia powierzchni urządzenia (urządzeń).

Pobieranie, transport i przechowywanie próbek

Uwaga: ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.

Wszystkie próbki należy przechowywać w określonych temperaturach.

Podwyższona temperatura wpływa na stabilność próbek.

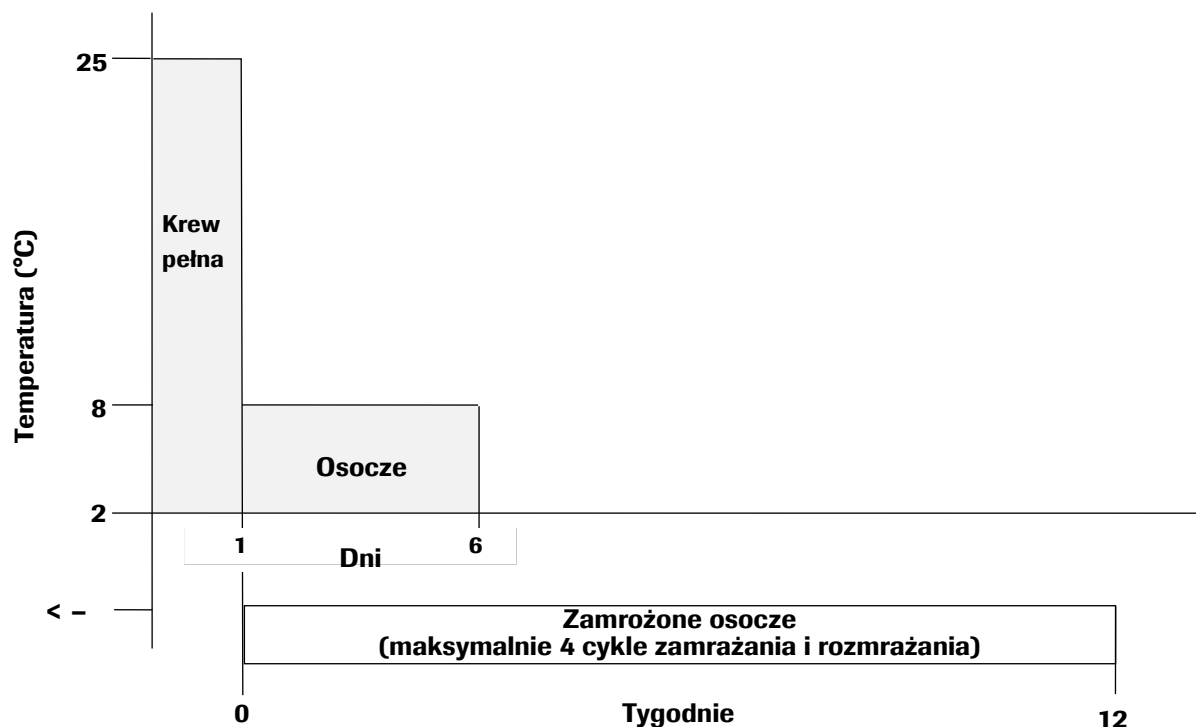
W przypadku używania próbek zamrożonych w probówkach wtórnych, należy umieścić próbki w temperaturze pokojowej (15–30°C) aż do całkowitego ich rozmrożenia, a następnie krótko wymieszać (np. na mieszadle wibracyjnym przez 3–5 sekund) i odwirować w celu zebrania się całej objętości próbki na dnie probówki.

Próbki

- Krew należy pobierać do probówek do otrzymywania nierozcieńczonego osocza BD Vacutainer® PPT™, przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej lub do sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant. Należy przestrzegać instrukcji producenta probówek do pobierania próbek. patrz Ryc. 1.
- Krew pełna pobrana do probówek przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej BD Vacutainer® PPT™ lub do sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant może być przechowywana i/lub transportowana do 24 godzin w temperaturze od 2°C do 25°C przed przygotowaniem osocza. Wirowanie powinno być przeprowadzane zgodnie z instrukcjami producenta.

- Po oddzieleniu, próbki osocza można przechowywać w probówkach wtórnych przez maksymalnie 6 dni w temperaturze od 2°C do 8°C lub przez okres do 12 tygodni w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$.
- Próbki osocza zachowują stabilność przez maksymalnie cztery cykle zamrażania/rozmarzania w przypadku zamrożenia w temperaturze $\leq -18^{\circ}\text{C}$.

Ryc. 1 Warunki przechowywania próbek



- Jeśli próbki mają być przesyłane, należy je opakować i oznaczyć zgodnie z odpowiednimi krajowymi i/lub międzynarodowymi przepisami dotyczącymi transportu próbek i czynników zakaźnych.

Uwaga: alternatywnie krew pełną pobraną do probówek przeznaczonych do metod diagnostyki molekularnej BD Vacutainer® PPT™ lub do sterylnych probówek zawierających EDTA jako antykoagulant można przechowywać i/lub transportować do 36 godzin w temperaturze od 2°C do 25°C przed przygotowaniem osocza, lecz w takiej sytuacji nie będzie można dłużej przechowywać oddzielnego osocza i trzeba je będzie bezpośrednio wykorzystać do analiz.

Instrukcja użytkowania

Uwagi dotyczące wykonania testu

- Nie należy używać odczynników testu **cobas® CMV**, **cobas® CMV Control Kit**, **cobas® NHP Negative Control Kit** i odczynników **cobas omni** po upływie ich daty ważności.
- Nie wykorzystywać ponownie materiałów zużywalnych. Są one przeznaczone wyłącznie do jednorazowego użytku.
- Instrukcje dotyczące prawidłowej konserwacji urządzeń zawiera podręcznik użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**.

Wykonywanie testu **cobas® CMV**

Test **cobas® CMV** można przeprowadzić przy użyciu jednej minimalnej objętości próbki 500 µl. Procedurę przeprowadzenia testu opisano szczegółowo w Podręczniku użytkownika systemów **cobas® 6800/8800**.

Ryc. 2 podsumowuje tę procedurę.

Ryc. 2 Procedura testu **cobas® CMV**

1	<p>Po poproszeniu przez system uzupełnij odczynniki i materiały zużywalne przez system:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Załaduj odczynnik płuczący, odczynnik do lizy oraz rozcieńczalnik • Załaduj płytki do przetwarzania oraz płytki do amplifikacji • Załaduj szklane cząstki magnetyczne • Załaduj odczynniki swoiste dla testu • Załaduj kasety z kontrolami • Załaduj statywy na końcówki • Wymień statyw na niedrożne końcówki
2	Umieść statyw z próbkami
3	Sprawdź i wyeksportuj wyniki
4	<p>Wyładowanie materiałów zużywalnych:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wyjmij płytki do amplifikacji z modułu analitycznego • Wyjmij puste kasety z kontrolami • Usuń odpady stałe • Usuń odpady płynne

Wyniki

Systemy **cobas**® 6800/8800 automatycznie określają stężenie DNA CMV w próbkach i kontrolach. Stężenie DNA CMV wyraża się w jednostkach międzynarodowych IU (International Units) na mililitr (IU/ml).

Kontrola jakości i ważność wyników

- W każdej partii przetwarzana jest jedna ujemna kontrola [(-) C] i dwie kontrole dodatnie: kontrola nisko dodatnia [CMV L(+)]C oraz kontrola wysoko dodatnia [CMV H(+)]C.
- W celu zagwarantowania ważności partii należy sprawdzić w oprogramowaniu **cobas**® 6800/8800 i/lub w raporcie obecność flag oraz powiązane z nimi wyniki.
- Partia jest ważna, jeśli nie zostaną wygenerowane flagi dla wszystkich trzech kontroli (jednej kontroli ujemnej i dwóch kontroli dodatnich): CMV L(+)]C, CMV H(+)]C. Wynik kontroli ujemnej jest wyświetlany jako (-) C, a kontrola nisko dodatnia i wysoko dodatnia są wyświetlane odpowiednio jako CMV L(+)]C i CMV H(+)]C.

Wyniki zostaną automatycznie unieważnione przez oprogramowanie **cobas**® 6800/8800 na podstawie uzyskania niepomysłnych wyników kontroli ujemnej i kontroli dodatnich.

Znaczniki kontroli

Tabela 9 Oflagowania kontroli ujemnej i kontroli dodatnich

Kontrola ujemna	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
(-) C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub wynik obliczonego miana kontroli ujemnej nie jest wynikiem ujemnym.
Kontrola dodatnia	Oflagowanie	Wynik	Interpretacja
CMV L(+)]C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli nisko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.
CMV H(+)]C	Q02 (Nie powiodła się analiza partii kontrolnej)	Invalid	Wynik oznaczony jako nieważny lub obliczone miano dla kontroli wysoko dodatniej nie mieści się w określonym zakresie.

Jeśli partia zostanie unieważniona, należy powtórzyć badanie całej partii z uwzględnieniem próbek i kontroli.

Interpretacja wyników

W przypadku ważnej partii należy sprawdzić w oprogramowaniu **cobas**® 6800/8800 i/lub raportach poszczególne próbki pod kątem obecności flag. Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

- Ważna partia może obejmować zarówno ważne, jak i nieważne wyniki próbek.

Tabela 10 Interpretacja wyników dla poszczególnych targetów

Wyniki	Interpretacja
Target Not Detected	Nie wykryto DNA CMV. Podać wynik jako „Nie wykryto CMV”.
< Titer Min	Obliczone miano jest niższe od dolnej granicy oznaczalności testu (LLoQ). Podać wynik jako „Wykryto CMV, miano poniżej (miano min.)”. Miano min. = 34,5 IU/ml
Miano	Obliczone miano znajduje się w zakresie liniowym testu — jest większe lub równie mianu min. oraz mniejsze lub równe mianu maks. Podać wynik jako „Wykryto (miano) CMV”.
> Titer Max ^a	Obliczone miano jest wyższe od górnej granicy oznaczalności testu (ULoQ). Podać wynik jako „Wykryto CMV, miano powyżej (miano maks.)”. Miano maks. = 1,0E+07 IU/ml

^a Wynik próbki > Titer Max odnosi się do CMV dodatnich próbek z mianami powyżej górnej granicy oznaczalności testu (ULoQ).
Jeśli wymagany jest wynik ilościowy, oryginalną próbkę powinno się rozcieńczyć CMV-ujemnym osoczem ludzkim z dodatkiem EDTA, po czym należy powtórzyć test. Otrzymany wynik należy pomnożyć przez współczynnik rozcieńczenia.

Ograniczenia metody

- Test **cobas**® CMV został oceniony jedynie pod kątem stosowania z **cobas**® CMV Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent oraz **cobas omni** Wash Reagent do użytku w systemach **cobas**® 6800/8800.
- Uzyskanie wiarygodnych wyników zależy od prawidłowych procedur pobierania, przechowywania i dalszego postępowania z próbkami.
- Test ten został zatwierdzony wyłącznie do badania osocza krwi pobranej na EDTA. Badanie innych rodzajów próbek przy użyciu testu **cobas**® CMV może dawać nieprawidłowe wyniki. Pomiarów wiremii w osoczu nie można bezpośrednio porównać z wiremią w innych typach próbek.
- Na oznaczenie ilościowe DNA wirusa CMV wpływ mogą mieć: metoda pobrania próbki, czynniki zależne od pacjenta (tj. wiek, obecność objawów) i (lub) stadium zakażenia.
- Mutacje w obrębie wysoko konserwatywnych regionów genu polimerazy DNA CMV (UL54), z którymi wiążą się startery i (lub) sondy używane w teście **cobas**® CMV — chociaż rzadkie — mogą wpływać na wiązanie starterów i (lub) sond oraz spowodować zaniżenie miana lub niewykrycie wirusa.
- Z uwagi na różnice pomiędzy metodami zaleca się, aby przed zmianą użytkownik przeprowadził w laboratorium badania korelacji stosowanych metod w celu określenia występujących pomiędzy nimi różnic jakościowych. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z własnymi określonymi zasadami/procedurami.
- Test **cobas**® CMV nie jest przeznaczony do przesiewowego badania na obecność wirusa CMV we krwi lub produktach krwiopochodnych i nie został oceniony jako test diagnostyczny potwierdzający zakażenie wirusem CMV.

Niekliniczna ocena wiarygodności

Kluczowe parametry wiarygodności testu

Granica wykrywalności (LoD)

Międzynarodowy standard WHO

Granice wykrywalności testu **cobas**® CMV określono dzięki analizie seryjnych rozcieńczeń 1. międzynarodowego wzorca WHO dla DNA ludzkiego cytomegalowirusa do testów wykonywanych techniką amplifikacji kwasu nukleinowego (1. międzynarodowy wzorzec WHO HCMV) uzyskanego z NIBSC, w ludzkim osoczu z krwi pobranej na EDTA ujemnym pod względem CMV. Panel składający się z ośmiu poziomów stężeń i próbki ślepej był testowany na trzech seriach odczytników testu **cobas**® CMV, wielu przebiegach, dniach, operatorach i aparatach.

Wyniki dla osocza EDTA przedstawia Tabela 11. Badanie wykazuje, że test **cobas**® CMV wykrywa DNA CMV przy stężeniu co najmniej 23 IU/ml z trafnością $\geq 95\%$.

Tabela 11 Granica wykrywalności w osoczu z EDTA

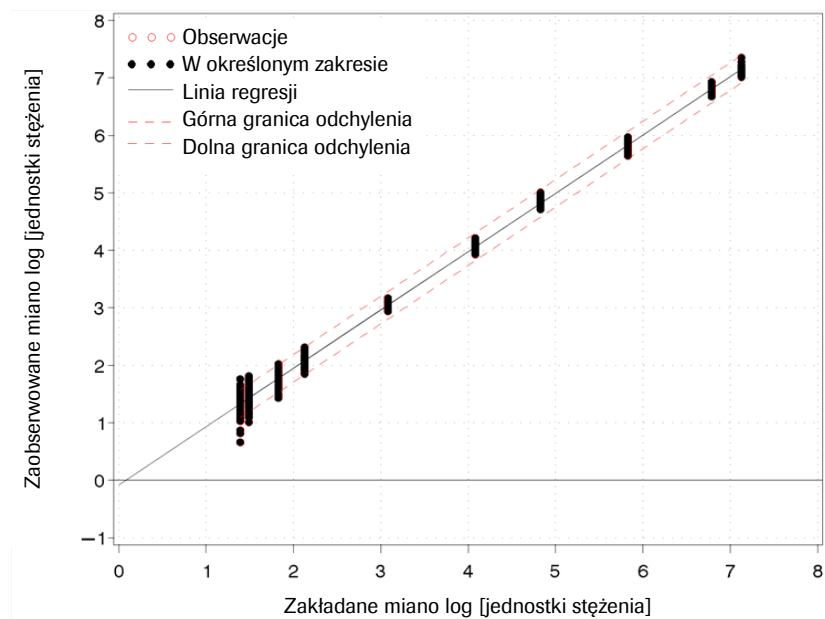
Stężenie wejściowe (DNA CMV IU/ml)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	189	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
LoD w analizie PROBIT przy 95% trafności	20,6 IU/ml 95% przedział ufności: 17,9–24,3 IU/ml		

Zakres liniowości

Liniowość testu **cobas**® CMV oceniono za pomocą serii rozcieńczeń zawierające 10 członków panelu ze stężeniami DNA genotypu gB-1 CMV pokrywającymi zakres liniowy testu (od $2,45E+01$ IU/ml do $1,34E+07$ IU/ml). Wszystkie elementy panelu testowano w 48 powtórzeniach w obrębie trzech serii odczynników testu **cobas**® CMV, a wyniki badania przedstawia Ryc. 3.

Wykazano, że test **cobas**® CMV jest testem liniowym od $2,45E+01$ IU/ml do $1,34E+07$ IU/ml.

Ryc. 3 Określanie zakresu liniowego w osoczu z EDTA



Precyzja wewnątrz laboratorium

Dokładność testu **cobas**® CMV określono przez analizę szeregu rozcieńczeń próbki o wysokim mianie hodowanego wirusa (genotyp Merlin, gB-1) w CMV-ujemnym osoczu z krwi pobranej na EDTA. Dziesięć poziomów rozcieńczeń zbadano w 48 powtórzeniach dla każdego poziomu w trzech seriach odczynników testu **cobas**® CMV przy użyciu trzech urządzeń oraz trzech użytkowników przez 12 dni. Każda próbka przechodziła całą procedurę testu **cobas**® CMV na w pełni zautomatyzowanych **cobas**® 6800/8800 Systems. Dlatego podana precyzja odzwierciedla wszystkie aspekty procedury badawczej. Wyniki przedstawia Tabela 12.

Test **cobas**® CMV wykazywał wysoką precyzję dla trzech serii odczynników badanych w zakresie stężeń od 2,45E+01 IU/ml do 1,34E+07 IU/ml.

Tabela 12 Precyzja wewnątrzlaboratoryjna testu **cobas**® CMV

Stężenie nominalne (IU/ml)	Stężenie założone (IU/ml)	Osocze krwi pobranej na EDTA			
		Seria nr 1	Seria nr 2	Seria nr 3	Wszystkie partie
		OS	OS	OS	OS pulowane
2,00E+07	1,34E+07	0,03	0,06	0,02	0,04
9,11E+06	6,11E+06	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	6,71E+05	0,05	0,03	0,06	0,05
1,00E+05	6,71E+04	0,06	0,05	0,03	0,05
1,80E+04	1,21E+04	0,06	0,04	0,05	0,05
1,80E+03	1,21E+03	0,04	0,03	0,04	0,04
2,00E+02	1,34E+02	0,13	0,10	0,11	0,12
1,00E+02	6,71E+01	0,14	0,11	0,09	0,12
4,60E+01	3,09E+01	0,20	0,23	0,17	0,20
3,65E+01	2,45E+01	0,22	0,20	0,23	0,22

Weryfikacja genotypu

Wiarygodność testu **cobas**® CMV na genotypach CMV glikoproteiny B oceniano na podstawie:

- Weryfikacji granicy wykrywalności dla genotypów od 2 do 4 glikoproteiny B
- Weryfikacji zakresu liniowego dla genotypów od 2 do 4

Weryfikacja granicy wykrywalności dla genotypów gB-2, gB-3 i gB-4 glikoproteiny B

Supernatanty hodowli komórkowych CMV dla trzech różnych (gB-2, gB-3 i gB-4) genotypów glikoproteiny B rozcieńczono do trzech różnych stężeń w osoczu z krwi pobranej na EDTA ujemnym pod względem CMV. Określenie odsetka trafności przeprowadzono w 63 powtórzeniach dla każdego poziomu. Badania przeprowadzono z trzema seriami odczynników **cobas**® CMV. Wyniki przedstawia Tabela 13. Wyniki te weryfikują, że test **cobas**® CMV wykrył DNA CMV dla trzech różnych genotypów przy stężeniach 34,5 IU/ml z odsetkiem trafności wynoszącym $\geq 95\%$.

Tabela 13 Weryfikacja granicy wykrywalności genotypu DNA wirusa CMV

Genotyp	17,25 IU/ml			34,5 IU/ml			51,75 IU/ml		
	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)
gB-2	63	61	96,8 (99,6%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-3	63	57	90,5 (96,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-4	63	55	87,3 (94,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności

Weryfikacji zakresu liniowego dla genotypów gB-2, gB-3 i gB-4

Serie rozcieńczeń stosowane podczas weryfikacji badania liniowości genotypów testu **cobas**® CMV zawierał siedem elementów panelu rozciągającego się na zakres liniowy oznaczenia. Badanie przeprowadzono z dwiema seriami odczynnika **cobas**® CMV; zbadano 16 powtórzeń na poziom w osoczu z krwi pobranej na EDTA.

Zakres liniowy testu **cobas**® CMV zweryfikowano dla wszystkich trzech genotypów (gB-2, gB-3 i gB-4).

Weryfikacja próbek lekoopornego CMV

Wiarygodność testu **cobas**® CMV na lekoopornych próbkach CMV oceniano na podstawie:

- Weryfikacji granicy wykrywalności próbek lekoopornego CMV (opornego na gancyklowir, walgancyklowir, cidofowir lub foskarnet)
- Weryfikacji zakresu liniowego próbek lekoopornego CMV (opornego na gancyklowir, walgancyklowir, cidofowir lub foskarnet)

Weryfikacja granicy wykrywalności próbek lekoopornego CMV (opornego na foskarnet lub gancyklowir, walgancyklowir i cidofowir)

Supernatanty hodowli komórkowej dla dwóch różnych próbek lekoopornego CMV (opornego na foskarnet lub gancyklowir, walgancyklowir i cidofowir) rozcieńczono do trzech różnych stężeń w osoczu z krwi pobranej na EDTA ujemnym pod względem CMV. Określenie odsetka trafności przeprowadzono w 63 powtórzeniach dla każdego poziomu. Badania przeprowadzono z trzema seriami odczynników **cobas**® CMV. Wyniki przedstawia Tabela 14. Wyniki te weryfikują, że test **cobas**® CMV wykrył DNA CMV dla dwóch różnych próbek opornych na foskarnet lub gancyklowir, walgancyklowir i cidofowir przy stężeniach 34,5 IU/ml z odsetkiem trafności wynoszącym $\geq 95\%$.

Tabela 14 Weryfikacja granicy wykrywalności dla próbek lekoopornego CMV

Lekooporność	Miejsce mutacji w UL54	17,25 IU/ml			34,5 IU/ml			51,75 IU/ml		
		Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)	Liczba ważnych powtórzeń testu	Liczba wyników dodatnich	Odsetek trafności w % (95% CI*)
Foskarnet	E756Q	63	58	92,1 (97,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
Gancyklowir, walgancyklowir, cidofowir	L545S	63	59	93,7 (98,2%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Górna granica jednostronnego 95% przedziału ufności

Weryfikacja zakresu liniowego próbek lekoopornego CMV (opornego na foskarnet lub gancyklowir, walgancyklowir i cidofowir)

Serie rozcieńczeń stosowane podczas weryfikacji badania liniowości próbek lekoopornego CMV testu **cobas**® CMV zawierał siedem elementów panelu rozciągającego się na zakres liniowy oznaczenia. Badanie przeprowadzono z dwiema seriami odczynnika **cobas**® CMV; zbadano 16 powtórzeń na poziom w osoczu z krwi pobranej na EDTA.

Zakres liniowy testu **cobas**® CMV zweryfikowano dla dwóch lekoopornych próbek CMV (opornych na foskarnet lub gancyklowir, walgancyklowir i cidofowir).

Swoistość

Swoistość testu **cobas**® CMV określono na podstawie analizy próbek CMV-ujemnego osocza z krwi pobranej na EDTA od indywidualnych dawców. 608 indywidualnych próbek osocza EDTA zbadano przy użyciu dwóch serii odczynników testu **cobas**® CMV. Wszystkie badane próbki były ujemne pod względem DNA CMV. W panelu testu swoistość testu **cobas**® CMV wynosiła 100% (dolny jednostronny 95% przedział ufności wynoszący 99,5%).

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna testu **cobas**® CMV była oceniana w panelu rozcieńczeń mikroorganizmów do stężenia 1,00E+06 cząstek, kopii, IU, odpowiedników genomowych lub CFU/ml w dodatnim pod względem DNA CMV i ujemnym pod względem DNA CMV osoczu krwi pobranej na EDTA. Dwa swoiste badane organizmy podano w Tabeli 15. Każdy element panelu został przebadany przy użyciu testu **cobas**® CMV. Żaden z patogenów innych niż CMV nie zakłócał wiarygodności testu.

Tabela 15 Drobnoustroje badane pod kątem reaktywności krzyżowej

Wirusy	Bakterie	Drożdżaki
Adenowirus typu 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Poliomawirus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Wirus Epsteina-Barra	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Wirus zapalenia wątroby typu B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Wirus zapalenia wątroby typu C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Wirus opryszczki pospolitej typu 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Ludzki wirus opryszczki typu 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Ludzki wirus opryszczki typu 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Ludzki wirus opryszczki typu 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Ludzki wirus upośledzenia odporności 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Ludzki wirus upośledzenia odporności 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Wirus brodawczaka ludzkiego	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Wirus JC	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
Parwovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Wirus ospy wietrznej	-	-

Swoistość analityczna – substancje interferujące

Podwyższone poziomy trójglicerydów (34,5 g/l), bilirubiny związanej (0,25 g/l), bilirubiny niezwiązanej (0,25 g/l), albuminy (58,7 g/l), hemoglobiny (2,9 g/l) i ludzkiego DNA (2 mg/l) w próbkach badano z i bez DNA CMV.

Wykazano, że testowane interferencje endogenne nie zakłócały działania testu **cobas®** CMV.

Wpływ obecności chorób autoimmunologicznych takich, jak tocznia rumieniowatego układowego (SLE), reumatoidalnego zapalenia stawów (RA) oraz obecności przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) oceniano również w obecności i przy braku DNA CMV. Dodatkowo składniki leków (patrz Tabela 16) badano w trzykrotnym C_{max} z i bez DNA CMV.

Żadna z potencjalnie interferujących substancji nie wykazywała interferencji z testem.

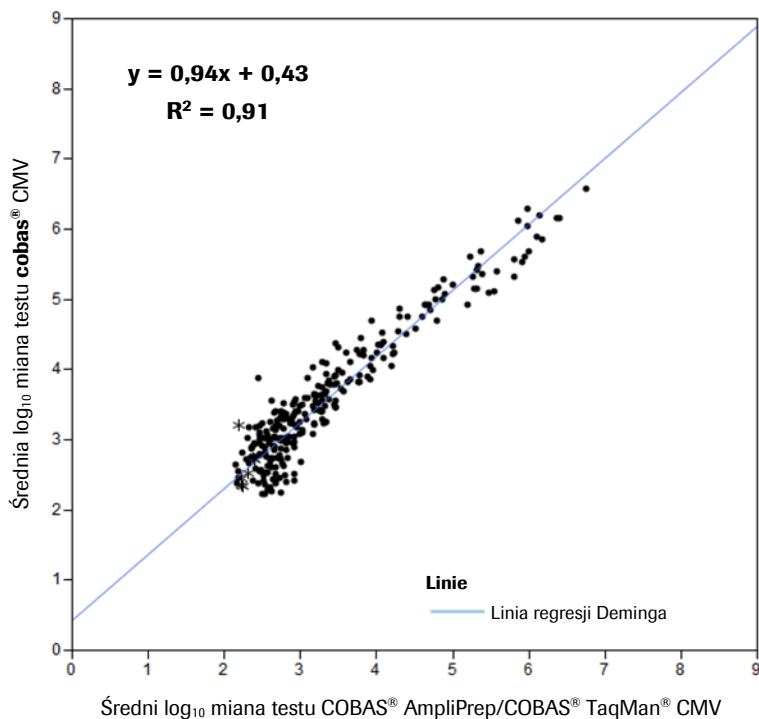
Tabela 16 Składniki leków badane pod kątem interferencji z ilościowym oznaczeniem DNA CMV w teście **cobas®** CMV

Klasa leku	Nazwa własna leku	
Przeciwbakteryjne	Cefotetan	Sulfametoksazol
	Klawulanian potasu	Tikarcylina disodowa
	Flukonazol	Trimetoprim
	Piperacylina	Wankomycyna
	Tazobaktam sodu	-
Preparaty do leczenia zakażeń wirusami opryszczki (Herpes)	Gancyklowir	Cidofowir
	Valgancyklowir	Foskarnet
Lek immunosupresyjny	Azatiopryna	Prednizon
	Cyklosporyna	Sirolimus
	Ewerolimus	Takrolimus
	Mykofenolan mofetylu	-
	Kwas mykofenolowy	-

Skuteczność w porównaniu z testem **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV**

Działanie testu **cobas®** CMV i testu **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®** CMV porównano podczas analizy próbek osocza krwi pobranej na EDTA od osób zakażonych CMV. W sumie 275 próbek osocza krwi pobranej na EDTA dla wszystkich genotypów CMV uzyskało wynik ważny w przeprowadzonej podwójnie analizie i znalazło się w zakresie oznaczalności obu testów. Przeprowadzono analizę regresji Deminga.

Rys. 4 zawiera wyniki regresji Deminga.

Rys. 4 Analiza regresji dla testów **cobas®** CMV vs test ilościowy CAP/CTM CMV Quantitative

Błąd całego systemu

Współczynnik błędu całego systemu dla testu **cobas**® CMV określono badając 100 powtórzeń osocza z krwi pobranej na EDTA z dodaną CMV-dodatnią próbką kliniczną. Próbki te były testowane przy stężeniu wynoszącym około $3 \times \text{LoD}$.

Wyniki tego badania wykazały, że we wszystkich powtórzeniach stwierdzono ważność i reaktywność względem sekwencji docelowej CMV, co dało częstość występowania błędu systemowego na poziomie 0% (95% przedział 0–3,6%).

Kontaminacja między próbkami

Częstość występowania zanieczyszczenia krzyżowego w teście **cobas**® CMV określono przez oznaczenie 240 powtórzeń prawidłowego osocza ludzkiego niezawierającego CMV z EDTA i 225 powtórzeń próbek z wysokim mianem CMV na poziomie $1,00\text{E}+06$ IU/ml. Łącznie wykonano pięć przebiegów z użyciem próbek dodatnich i ujemnych w układzie naprzemiennym.

Wszystkie 240 powtórzeń ujemnej próbki było ważnych i dało wynik ujemny, dając współczynnik zanieczyszczenia krzyżowego wynoszący 0% (95% przedział ufności wynoszący 0–1,5%).

Wiarygodność kliniczna

Odtwarzalność kliniczna

Odtwarzalność testu cobas® CMV oceniono w osoczu pobranym na EDTA w systemie cobas® 6800. Badania odtwarzalności i zmienności między seriami przeprowadzono w 3 ośrodkach z użyciem 3 serii odczynnika. W każdym ośrodku dwóch użytkowników testowało każdą serię odczynnika przez 6 dni (3 dni dla użytkownika 1 i 3 dni dla użytkownika 2). Każdego dnia wykonywano dwa przebiegi, a w każdym analizowano 3 powtórzenia każdego elementu panelu. Dane analizowano za pomocą modelu mieszanego do oceny zmienności całkowitej. Zestawienie wyników oceny przedstawia Tabela 17 do Tabela 19 poniżej.

Tabela 17 poniżej prezentuje odtwarzalność kliniczną oznaczenia w punktach w zakresie liniowości. Pokazano względne udziały różnych czynników w obserwowanej zmienności.

Tabela 17 Możliwe do przypisania procentowe udziały zmienności całkowitej, odchylenia standardowego, odchylenia standardowego precyzji całkowitej i logarytmiczno-normalnego CV (%) stężenia DNA CMV (\log_{10} IU/ml) wg dodatnich elementów panelu

Stężenie DNA wirusa CMV (\log_{10} IU/ml)		Procentowy udział w zmienności całkowitej (logarytmiczno-normalny CV (%)) Odchylenie standardowe ^c						Precyzja całkowita	
Oczekiwane	Stwierdzona średnia ^a	Liczba testów ^b	Seria	Ośrodek	Użytkownik/dzień	Przebieg	W obrębie przebiegu	OS ^d	Logarytmiczno-normalny CV (%) ^e
2,01	2,07	324	1% (2,97) 0,0129	6% (6,49) 0,0282	0% (0,00) 0,0000	3% (4,47) 0,0194	90% (25,15) 0,1076	0,114	26,61
3,26	3,27	322	10% (4,29) 0,0186	13% (4,85) 0,0210	3% (2,50) 0,0109	0% (0,00) 0,0000	74% (11,71) 0,0507	0,059	13,64
3,86	3,90	324	23% (7,26) 0,0315	0% (0,00) 0,0000	0% (0,22) 0,0010	0% (0,00) 0,0000	77% (13,50) 0,0584	0,066	15,36
6,70	6,74	324	15% (5,16) 0,0224	3% (2,31) 0,0100	1% (1,52) 0,0066	0% (0,00) 0,0000	81% (11,98) 0,0518	0,058	13,35

Uwaga: Tabela obejmuje wyłącznie wyniki z wykrytą wiremą.

^a Obliczono z użyciem procedury SAS MIXED.

^b Liczba ważnych testów z wykrywalną wiremą.

^c Obliczono z użyciem składnika zmienności procedury SAS MIXED.

^d Obliczono z użyciem całkowitej zmienności procedury SAS MIXED.

^e Logarytmiczno-normalny CV (%) = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100\%$.

CMV = wirus cytomegalii; CV (%) = procentowy współczynnik zmienności; SD = odchylenie standardowe; sqrt = pierwiastek kwadratowy.

Tabela 18 poniżej przedstawia szacunkową wykrywalną różnicę miana wirusa dla każdego dodatniego elementu panelu. Różnica krotności wykrywalności może zostać wykorzystana do oceny istotnych statystycznie zmian miana wirusa pacjenta przy pomiarach seryjnych.

Tabela 18 Różnica wykrywalnego miana wirusa dla dodatnich elementów panelu

Stężenie DNA wirusa CMV (log ₁₀ IU/ml)						
Oczekiwane	Stwierdzona średnia	Liczba testów ^a	Odchylenie standardowe precyzji całkowitej (log ₁₀ IU/ml)	Odchylenie standardowe różnicy między dwoma pomiarami ^b	95% granica ufności ^c (±log ₁₀ IU/ml)	Wykrywalna różnica krotności ^d
2,01	2,07	324	0,11	0,16	0,31	2,06
3,26	3,27	322	0,06	0,08	0,16	1,46
3,86	3,90	324	0,07	0,09	0,18	1,53
6,70	6,74	324	0,06	0,08	0,16	1,45

Uwaga: tabela obejmuje wyłącznie wyniki z wykrytą wirusią. Dolna granica oznaczalności ilościowego (LLOQ) dla oznaczeń wynosi 3,45E+01 IU/ml, a górna granica oznaczalności ilościowego (ULOQ) to 1,0E+07 IU/ml.

^a Liczba ważnych testów z wykrywalnym mianem wirusa.

^b Odchylenie standardowe różnicy między dwoma pomiarami = $\sqrt{2 \times (\text{odchylenie standardowe precyzji całkowitej})^2}$.

^c 95% CL = 1,96 × odchylenie standardowe różnicy między dwoma pomiarami.

^d Wykrywalna różnica krotności = $10^{(1,96 \times \sqrt{2 \times (\text{całkowite odchylenie standardowe})^2})}$.

CL = granica ufności; CMV = wirus cytomegalii; sqrt = pierwiastek kwadratowy.

Tabela 19 poniżej przedstawia wyniki odtwarzalności dla ujemnego elementu panelu dla systemu cobas® 6800.

Tabela 19 Wyniki odtwarzalności dla ujemnego elementu panelu

Oczekiwane stężenie DNA CMV	Liczba ważnych testów	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Zgodność procentowa wyników ujemnych ^a	95% ścisły CI ^b
Ujemny	323	0	323	100,00	(98,86, 100,00)

^a Zgodność procentowa wyników ujemnych = (liczba wyników ujemnych ÷ łączna liczba ważnych testów dla ujemnego elementu panelu) × 100%.

^b Obliczono dokładną metodą dwumianową przedziału ufności Cloppera-Pearsona.

CI = przedział ufności.; CMV = wirus cytomegalii.

Ocena wiarygodności klinicznej: populacja pacjentów po przeszczepie narządu mięszonego (ang. *Solid Organ Transplant, SOT*)

Badanie zaprojektowano do oceny zgodności klinicznej między testami cobas® CMV i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV Test w populacji po przeszczepie narządu mięszonego. Zbadano pozostałe zamrożone próbki osocza pobranego na EDTA pobrane prospektywnie od biorców przeszczepu nerki uczestniczących w badaniu fazy 2a prowadzonego z podwójnie ślepą próbą i kontrolowanym placebo badaniu schematu profilaktycznego anty-CMV. Przeprowadzono sekwencjonowanie regionów docelowych oznaczenia dla próbek z przesunięciem > 0,5 log₁₀ IU/ml między oznaczeniami oraz dla reprezentatywnego zestawu próbek bez pomiaru przesunięcia. Sekwencje powiązane ze średnim przesunięciem > 0,9 log₁₀ IU/ml zdefiniowano jako „mające wpływ”. Zidentyfikowano tylko sekwencje mające wpływ na sekwencje docelowe testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

Charakterystykę demograficzną populacji pacjentów przedstawia Tabela 20.

Tabela 20 Dane demograficzne i wyjściowa charakterystyka kliniczna uczestników SOT

Charakterystyka	Statystyki
Całkowita liczba, N	107
Wiek (lata)	
Średnia ± OS	49 ± 13,6
Mediana	50
Zakres	18–76
Płeć, n (%)	
Mężczyzna	74 (69,2%)
Kobieta	33 (30,8%)
Pochodzenie etniczne, n (%)	
Latynosi	10 (9,3%)
Nie Latynosi	91 (85,0%)
Nieznany	6 (5,6%)
Rasa, n (%)	
Azjatycka	1 (0,9%)
Rasa czarna/afroamerykańskie	16 (15,0%)
Biała	88 (82,2%)
Inne	2 (1,9%)
Indukcja immunosupresji, n (%)	
Tak	26 (24,3%)
Nie	81 (75,7%)
Grupa badania, n (%)	
Schemat profilaktyki anty-CMV	53 (49,5%)
Placebo	54 (50,5%)
Status serologiczny CMV, n (%)	
Dawca dodatni, biorca ujemny	107 (100,0%)

Uwaga: kategoria „nieznany” wskazuje uczestników, dla których właściwe informacje są niedostępne lub nie zostały zgłoszone.

CMV = wirus cytomegalii, OS = odchylenie standardowe.

Zgodność kliniczna w populacji po przeszczepie narządu mięszonego (ang. *Solid Organ Transplant, SOT*)

Zgodność wyjściowa

Tabela 21 do Tabela 24 poniżej prezentują wyniki analizy zgodności między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowych: TND, < 1,37E+02 / ≥ 1,37E+02 IU/ml, < 5,00E+02 / ≥ 5,00E+02 IU/ml oraz < 1,8E+03 / ≥ 1,8E+03 IU/ml, odpowiednio z kwalifikujących się do oceny próbek pobranych w dniu rozpoczęcia leczenia lub bezpośrednio przed jego rozpoczęciem.

Tabela 21 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej niewykrycia targetu (pary próbek w punkcie wyjściowym rozpoczęcia leczenia anty-CMV) w populacji SOT

Wyjściowa	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI) ^a
	Target Not Detected	Detected		
cobas® CMV				
Target Not Detected	9	0	9	100,0% (66,4%, 100,0%)
Detected	2	60	62	96,8% (88,8%, 99,6%)
Ogółem	11	60	71	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI) ^a	81,8% (48,2%, 97,7%)	100,0% (94,0%, 100,0%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI) ^a	97,2% (90,2%, 99,7%)	-	-	-
Wartość p ^b	0,5000	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym.

^a Założona niezależność między wszystkimi próbkami.

^b Obliczona z użyciem testu McNemara.

1 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

Tabela 22 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 1,37E+02 IU/ml (pary próbek w punkcie wyjściowym rozpoczęcia leczenia anty-CMV) w populacji SOT

Wyjściowa	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI) ^a
	< 1,37E+02 IU/ml (< 2,137 log ₁₀ IU/ml)	≥ 1,37E+02 IU/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IU/ml)		
cobas® CMV				
< 1,37E+02 IU/ml (< 2,137 log ₁₀ IU/ml)	24	1	25	96,0% (79,6%, 99,9%)
≥ 1,37E+02 IU/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IU/ml)	5*	41	46	89,1% (76,4%, 96,4%)
Ogółem	29	42	71	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI) ^a	82,8% (64,2%, 94,2%)	97,6% (87,4%, 99,9%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI) ^a	91,5% (82,5%, 96,8%)	-	-	-
Wartość p ^b	0,2188	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym.

Próbki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) lub wykrywalnym mianem wirusa poniżej 1,37E+02 IU/ml sklasyfikowano jako „< 1,37E+02 IU/ml (< 2,137 log₁₀ IU/ml)”.

* Pośród 5 uczestników z niezgodnymi próbkami, w przypadku 2 uczestników stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

^a Założona niezależność między wszystkimi próbkami.

^b Obliczona z użyciem testu McNemara.

1 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

Tabela 23 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 5,00E+02 IU/ml (pary próbek w punkcie wyjściowym rozpoczęcia leczenia anty-CMV) w populacji SOT

Wyjściowa	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI) ^a
	< 5,00E+02 IU/ml (< 2,699 log ₁₀ IU/ml)	≥ 5,00E+02 IU/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IU/ml)		
cobas® CMV				
< 5,00E+02 IU/ml (< 2,699 log ₁₀ IU/ml)	33	2	35	94,3% (80,8%, 99,3%)
≥ 5,00E+02 IU/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IU/ml)	7*	29	36	80,6% (64,0%, 91,8%)
Ogółem	40	31	71	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI) ^a	82,5% (67,2%, 92,7%)	93,5% (78,6%, 99,2%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI) ^a	87,3% (77,3%, 94,0%)	-	-	-
Wartość p ^b	0,1797	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym.

Próbki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) lub wykrywalnym mianem wirusa poniżej 5,00E+02 IU/ml sklasyfikowano jako „< 5,00E+02 IU/ml (< 2,699 log₁₀ IU/ml)”.

* Pośród 7 uczestników z niezgodnymi próbkami, w przypadku 3 uczestników stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

^a Założona niezależność między wszystkimi próbkami.

^b Obliczona z użyciem testu McNemara.

1 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

Tabela 24 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 1,8E+03 IU/ml (pary próbek w punkcie wyjściowym rozpoczęcia leczenia anty-CMV) w populacji SOT

Wyjściowa	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI) ^a
	< 1,8E+03 IU/ml (< 3,255 log ₁₀ IU/ml)	≥ 1,8E+03 IU/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IU/ml)		
cobas® CMV				
< 1,8E+03 IU/ml (< 3,255 log ₁₀ IU/ml)	48	0	48	100,0% (92,6%, 100,0%)
≥ 1,8E+03 IU/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IU/ml)	4*	19	23	82,6% (61,2%, 95,0%)
Ogółem	52	19	71	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI) ^a	92,3% (81,5%, 97,9%)	100,0% (82,4%, 100,0%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI) ^a	94,4% (86,2%, 98,4%)	-	-	-
Wartość p ^b	0,1250	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym.

Próbki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) lub wykrywalnym mianem wirusa poniżej 1,8E+03 IU/ml sklasyfikowano jako „< 1,8E+03 IU/ml (< 3,255 log₁₀ IU/ml)”.

* Pośród 4 uczestników z niezgodnymi próbkami, w przypadku 1 uczestnika stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

^a Założona niezależność między wszystkimi próbkami.

^b Obliczona z użyciem testu McNemara.

1 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

Analiza rozstrzygnięć w odniesieniu do danego dnia

Tabela 25 przedstawia analizę zgodności rozstrzygnięć epizodów CMV dla uczestników SOT w dniu 14, dniu 21, dniu 28, dniu 35 i dniu 49 po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV.

Tabela 25 Analiza zgodności rozstrzygnięć epizodów CMV dla uczestników, którzy rozpoczęli leczenie anti-CMV w populacji SOT

Punkt czasowy po rozpoczęciu terapii anti-CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
		Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV		
Dzień 14	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	0	0	0	NC
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	0	40	40	100,0% (91,2%, 100,0%)
	Ogółem	0	40	40	
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	NC	100,0% (91,2%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	100,0% (91,2%, 100,0%)	-	-	-
	Wartość p ^b	NC	-	-	-

Uwaga: Pośród uczestników uwzględnionych w tabeli dla dnia 14 u 2 stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji

Punkt czasowy po rozpoczęciu terapii anti-CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
		Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV		
Dzień 21	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	0	0	0	NC
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	1	50	51	98,0% (89,6%, 100,0%)
	Ogółem	1	50	51	-
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	0,0% (0,0%, 97,5%)	100,0% (92,9%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	98,0% (89,6%, 100,0%)	-	-	-
	Wartość p ^b	NC	-	-	-

Uwaga: pośród uczestników uwzględnionych w tabeli dla dnia 21 u 2 stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

Punkt czasowy po rozpoczęciu terapii anty-CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
		Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV		
Dzień 28	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	6	0	6	100,0% (54,1%, 100,0%)
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	4	46	50	92,0% (80,8%, 97,8%)
	Ogółem	10	46	56	-
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	60,0% (26,2%, 87,8%)	100,0% (92,3%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	92,9% (82,7%, 98,0%)	-	-	-
	Wartość p ^b	0,1250	-	-	-

Uwaga: pośród uczestników uwzględnionych w tabeli dla dnia 28 u 3 stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

Punkt czasowy po rozpoczęciu terapii anty-CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
		Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV		
Dzień 35	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	16	1	17	94,1% (71,3%, 99,9%)
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	8	31	39	79,5% (63,5%, 90,7%)
	Ogółem	24	32	56	-
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	66,7% (44,7%, 84,4%)	96,9% (83,8%, 99,9%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	83,9% (71,7%, 92,4%)	-	-	-
	Wartość p ^b	0,0391	-	-	-

Uwaga: pośród uczestników uwzględnionych w tabeli dla dnia 35 u 3 stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

Punkt czasowy po rozpoczęciu terapii anty-CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)	
	cobas® CMV	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a			Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV
Dzień 49	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	38	0	38	100,0% (90,7%, 100,0%)
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	7	12	19	63,2% (38,4%, 83,7%)
	Ogółem	45	12	57	-
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	84,4% (70,5%, 93,5%)	100,0% (73,5%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	87,7% (76,3%, 94,9%)	-	-	-
	Wartość p ^b	0,0156	-	-	-

Uwaga: pośród uczestników uwzględnionych w tej tabeli u 4 stwierdzono występowanie mającej wpływ niezgodności sekwencji.

^a Rozstrzygnięcie epizodu CMV zdefiniowano jako 2 kolejne próbki (najlepiej pobrane w odstępie tygodnia), dla których uzyskano wynik poniżej LLoQ testu TaqMan® CMV (137 IU/ml), co jest wartością zgodną z zaleceniami bieżących wytycznych; tj. zaleca się 2 kolejne próbki z wynikiem „ujemny” jako punkt końcowy miana wirusa w leczeniu epizodów CMV.

^b Obliczona z użyciem testu McNemara.

CI = przedział ufności; NC = niewyliczalny; SOT = przeszczep narządu mięszonego.

Przy stosowaniu jako pomoc w określaniu rozstrzygnięcia epizodów wirerii w dniu 14, 21, 28, 35 i 49 (po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV), OPA między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV mieściła się w zakresie od 83,9% do 100% (Tabela 26).

Tabela 26 Ogólna procentowa zgodność według statusu rozstrzygnięcia (nierozstrzygnięte/rozstrzygnięte) dla uczestników, u których rozpoczęto leczenie anty-CMV w populacji SOT

Punkt czasowy	Zgodność Nierozwiązane	Zgodność Rozwiązane	Procentowa zgodność ogółem	95% ścisły CI Procentowa zgodność ogółem
Dzień 14	100,0% (40/40)	NC	100,0% (40/40)	(91,2%, 100,0%)
Dzień 21	100,0% (50/50)	0,0% (0/1)	98,0% (50/51)	(89,6%, 100,0%)
Dzień 28	100,0% (46/46)	60,0% (6/10)	92,9% (52/56)	(82,7%, 98,0%)
Dzień 35	96,9% (31/32)	66,7% (16/24)	83,9% (47/56)	(71,7%, 92,4%)
Dzień 49	100,0% (12/12)	84,4% (38/45)	87,7% (50/57)	(76,3%, 94,9%)

Uwaga: rozstrzygnięcie epizodu CMV zdefiniowano jako 2 kolejne próbki (najlepiej pobrane w odstępie tygodnia), dla których uzyskano wynik poniżej LLoQ testu TaqMan® CMV (137 IU/ml), co jest wartością zgodną z zaleceniami bieżących wytycznych; tj. zaleca się 2 kolejne próbki z wynikiem „ujemny” jako punkt końcowy miana wirusa w leczeniu epizodów CMV.

2 z łącznej liczby 40 próbek w dniu 14 pochodziły od pacjentów, u których stwierdzono mające wpływ niezgodności sekwencji.

2 z łącznej liczby 51 próbek w dniu 21 pochodziły od pacjentów, u których stwierdzono mające wpływ niezgodności sekwencji.

3 z łącznej liczby 56 próbek w dniu 28 pochodziły od pacjentów, u których stwierdzono mające wpływ niezgodności sekwencji.

3 z łącznej liczby 56 próbek w dniu 35 pochodziły od pacjentów, u których stwierdzono mające wpływ niezgodności sekwencji.

4 z łącznej liczby 57 próbek w dniu 49 pochodziły od pacjentów, u których stwierdzono mające wpływ niezgodności sekwencji.

CMV = wirus cytomegalii; LLoQ = dolna granica oznaczalności; NC = niewyliczalny; SOT = przeszczep narządu mięszonego.

Ogólne zgodności pomiędzy różnymi poziomami miana wirusa

Tabela 27 poniżej przedstawia zgodność wyników miana wirusa testów cobas® CMV oraz TaqMan® CMV dla wszystkich 1898 sparowanych próbek kwalifikujących się do oceny w populacji SOT klinicznego badania zgodności.

Tabela 27 Podsumowanie analiz zgodności (wszystkie pary próbek) w populacji SOT

Wszystkie pary próbek	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ IU/ml)						Ogółem
	Target Not Detected	< 2,137	od 2,137 do < 2,699	od 2,699 do < 3,255	od 3,255 do < 3,899	≥ 3,899	
cobas® CMV (log ₁₀ IU/ml)	Target Not Detected	1 022	8	0	0	0	1 030
	< 2,137	168	193	6	0	0	367
	od 2,137 do < 2,699	3 ^a	76	61	8	0	148
	od 2,699 do < 3,255	0	12 ^c	73	63	1	149
	od 3,255 do < 3,899	1 ^b	5 ^d	8 ^e	44	58	116
	≥ 3,899	0	0	3 ^f	1 ^b	45	39
	Ogółem	1 194	294	151	116	104	1 898

Uwaga: w tabeli uwzględniono wszystkie 1898 sparowane próbki kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej.

Dolna granica oznaczalności (LLoQ) wynosi 3,45E+01 IU/ml dla testu cobas® CMV oraz 1,37E+02 IU/ml dla testu TaqMan® CMV.

log₁₀ (1,37E+02) = 2,137; log₁₀ (5,0E+02) = 2,699; log₁₀ (1,8E+03) = 3,255; log₁₀ (7,943E+03) = 3,899.

^a Te rozbieżne próbki poddano sekwencjonowaniu i stwierdzono, że 2 z 3 zawierały mutację o znaczącym wpływie.

^b Tę rozbieżną próbkę poddano sekwencjonowaniu i stwierdzono, że zawierała mutację o znaczącym wpływie.

^c 8 z 12 rozbieżnych próbek pochodziło od 5 uczestników i wszystkie 8 próbek poddano sekwencjonowaniu, w którym stwierdzono, że zawierały mutacje o znaczącym wpływie.

^d Tych 5 rozbieżnych próbek pochodziło od 3 uczestników, poddano je sekwencjonowaniu i stwierdzono, że wszystkie 5 zawierało mutację o znaczącym wpływie.

^e 7 z 8 rozbieżnych próbek pochodziło od 3 uczestników i wszystkie 7 próbek poddano sekwencjonowaniu w którym stwierdzono, że zawierały mutacje o znaczącym wpływie.

^f Te 3 rozbieżne próbki pochodziły od 2 uczestników, poddano je sekwencjonowaniu i stwierdzono, że wszystkie 3 zawierało mutację o znaczącym wpływie.

Tabela 28 poniżej przedstawia podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla różnych wartości progowych (Target Not Detected, 137 IU/ml, 500 IU/ml i 1800 IU/ml) dla wszystkich par próbek w populacji SOT.

Tabela 28 Podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla różnych wartości progowych dla wszystkich par próbek w populacji SOT

	Zgodność procentowa < wartość progowa 95% CI (n/N)	Zgodność procentowa ≥ wartość progowa (n/N) 95% CI (n/N)	Procentowa zgodność ogółem 95% CI (n/N)
Target Not Detected	85,6% 83,5%, 87,5% (1022/1194)	98,9% 97,8%, 99,5% (696/704)	90,5% 89,1%, 91,8% (1718/1898)
137 IU/ml (2,1 log₁₀ IU/ml*)	93,5% 92,1%, 94,7% (1391/1488)	98,5% 96,8%, 99,5% (404/410)	94,6% 93,5%, 95,5% (1795/1898)
500 IU/ml (2,7 log₁₀ IU/ml**)	93,8% 92,5%, 94,9% (1537/1639)	96,9% 94,0%, 98,7% (251/259)	94,2% 93,1%, 95,2% (1788/1898)
1800 IU/ml (3,3 log₁₀ IU/ml***)	96,5% 95,5%, 97,3% (1693/1755)	99,3% 96,2%, 100,0% (142/143)	96,7% 95,8%, 97,4% (1835/1898)

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko sparowane próbki kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej.

Próbki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) zaklasyfikowano jako „< wartości progowej w IU/ml”.

* log₁₀ z 2,137 skrócony do postaci 2,1 log₁₀ IU/ml.

** log₁₀ z 2,699 skrócony do postaci 2,7 log₁₀ IU/ml.

*** log₁₀ z 3,255 skrócony do postaci 3,3 log₁₀ IU/ml.

95% przedział ufności (CI) obliczony metodą ścisłą przy założeniu niezależności między wszystkimi próbkami.

Tabela 29 poniżej przedstawia zgodność wyników miana wirusa testów **cobas**® CMV oraz TaqMan® CMV dla wszystkich 272 sparowanych próbek kwalifikujących się do oceny z dnia 14, 21, 28, 35 lub 49 po rozpoczęciu leczenia anty-CMV w populacji SOT.

Tabela 29 Podsumowanie analiz zgodności (pary próbek w punktach czasowych będących przedmiotem zainteresowania po rozpoczęciu leczenia anty-CMV) w populacji SOT

Wszystkie punkty czasowe będące przedmiotem zainteresowania	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ IU/ml)						Ogółem
	cobas® CMV (log ₁₀ IU/ml)	Target Not Detected	< 2,137	od 2,137 do < 2,699	od 2,699 do < 3,255	od 3,255 do < 3,899	
Target Not Detected	24	3	0	0	0	0	27
< 2,137	36	42	1	0	0	0	79
od 2,137 do < 2,699	0	27	18	0	0	0	45
od 2,699 do < 3,255	0	4 ^a	25	16	0	0	45
od 3,255 do < 3,899	0	2 ^b	1 ^c	21	12	0	36
≥ 3,899	0	0	2 ^b	0	26	12	40
Ogółem	60	78	47	37	38	12	272

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punktach czasowych będących przedmiotem zainteresowania (dzień 14, 21, 28, 35 lub 49 po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV).

Dolna granica oznaczalności (LLoQ) wynosi 3,45E+01 IU/ml dla testu **cobas**® CMV oraz 1,37E+02 IU/ml dla testu TaqMan® CMV.

$\log_{10}(1,37E+02) = 2,137$; $\log_{10}(5,0E+02) = 2,699$; $\log_{10}(1,8E+03) = 3,255$; $\log_{10}(7,943E+03) = 3,899$.

^a Te 4 próbki poddano sekwencjonowaniu i stwierdzono, że dwie z 4 zawierały mutację o znaczącym wpływie.

^b Te 2 rozbieżne próbki poddano sekwencjonowaniu i stwierdzono, że obie zawierały mutację o znaczącym wpływie.

^c Rozbieżną próbkę poddano sekwencjonowaniu i stwierdzono, że zawierała mutację o znaczącym wpływie.

Tabela 30 poniżej przedstawia podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla różnych wartości progowych (Target Not Detected, 137 IU/ml, 500 IU/ml i 1800 IU/ml) dla wszystkich par próbek kwalifikujących się do oceny w dniu 14, 21, 28, 35 lub 49 po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV w populacji SOT.

Tabela 30 Podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla różnych wartości progowych dla wszystkich par próbek w dniu 14, 21, 28, 35 lub 49 po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV w populacji SOT

	Zgodność procentowa < wartość progowa 95% CI (n/N)	Zgodność procentowa ≥ wartość progowa (n/N) 95% CI (n/N)	Procentowa zgodność ogółem 95% CI (n/N)
Target Not Detected	40,0% 27,6%, 53,5% (24/60)	98,6% 95,9%, 99,7% (209/212)	85,7% 80,9%, 89,6% (233/272)
137 IU/ml (2,1 log₁₀ IU/ml*)	76,1% 68,1%, 82,9% (105/138)	99,3% 95,9%, 100,0% (133/134)	87,5% 83,0%, 91,2% (238/272)
500 IU/ml (2,7 log₁₀ IU/ml**)	81,6% 75,3%, 86,9% (151/185)	100,0% 95,8%, 100,0% (87/87)	87,5% 83,0%, 91,2% (238/272)
1800 IU/ml (3,3 log₁₀ IU/ml***)	88,3% 83,3%, 92,2% (196/222)	100,0% 92,9%, 100,0% (50/50)	90,4% 86,3%, 93,7% (246/272)

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w dniu 14, 21, 28, 35 i 49 po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV.

Próbki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) zaklasyfikowano jako „< wartości progowej w IU/ml”.

* log₁₀ z 2,137 skrócony do postaci 2,1 log₁₀ IU/ml.

** log₁₀ z 2,699 skrócony do postaci 2,7 log₁₀ IU/ml.

*** log₁₀ z 3,255 skrócony do postaci 3,3 log₁₀ IU/ml.

95% przedział ufności (CI) obliczony metodą ścisłą przy założeniu niezależności między wszystkimi próbkami.

Porównanie metod w populacji pacjentów po przeszczepie narządu mięszowego

Przeprowadzono badanie porównania metod w celu oceny skuteczności testu cobas® CMV w porównaniu do innego zatwierdzonego przez FDA testu miana wirusa CMV, TaqMan® CMV. W badaniu wykorzystano 543 sparowane próbki, w tym 381 dodatnich dla CMV próbek ze wspomnianego powyżej badania fazy 2a prowadzonego z podwójnie ślełą próbą i kontrolowanym placebo badaniu schematu profilaktycznego anty-CMV oraz 64 próbki od pacjentów po przeszczepie i 98 spreparowanych próbek przygotowanych przez wprowadzenie hodowlanego wirusa CMV (szczep Merlin) do ujemnego względem CMV osocza krwi pobranej na EDTA.

Tabela 31 oraz rysunki od Rys. 5 do Rys. 7 przedstawiają regresję Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV połączonych wszystkich ośrodków dla populacji po przeszczepie narządu mięszowego.

Tabela 31 Oszacowania parametrów regresji Deminga między mianami wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (cobas® CMV względem TaqMan® CMV)

Próbki	Liczba sparowanych próbek	Parametr	Oszacowanie parametru	Błąd standardowy	95% CI ^a 95% CI ^b	r
Kliniczne i spreparowane	543	Przecięcie	0,348 0,407*	0,033	(0,283, 0,413) (0,356, 0,462)	0,98
		Nachylenie	0,961 0,945*	0,009	(0,944, 0,979) (0,933, 0,957)	
Kliniczne	445	Przecięcie	0,193 0,229*	0,037	(0,120, 0,266) (0,160, 0,301)	0,97
		Nachylenie	1,023 1,010*	0,010	(1,002, 1,044) (0,992, 1,030)	
Spreparowane	98	Przecięcie	0,012 Nie dotyczy	0,063	(-0,114, 0,138) Nie dotyczy	0,99
		Nachylenie	0,985 Nie dotyczy	0,013	(0,960, 1,010) Nie dotyczy	

Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Tabela obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od $1,37E+02$ IU/ml do $9,1E+06$ IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń.

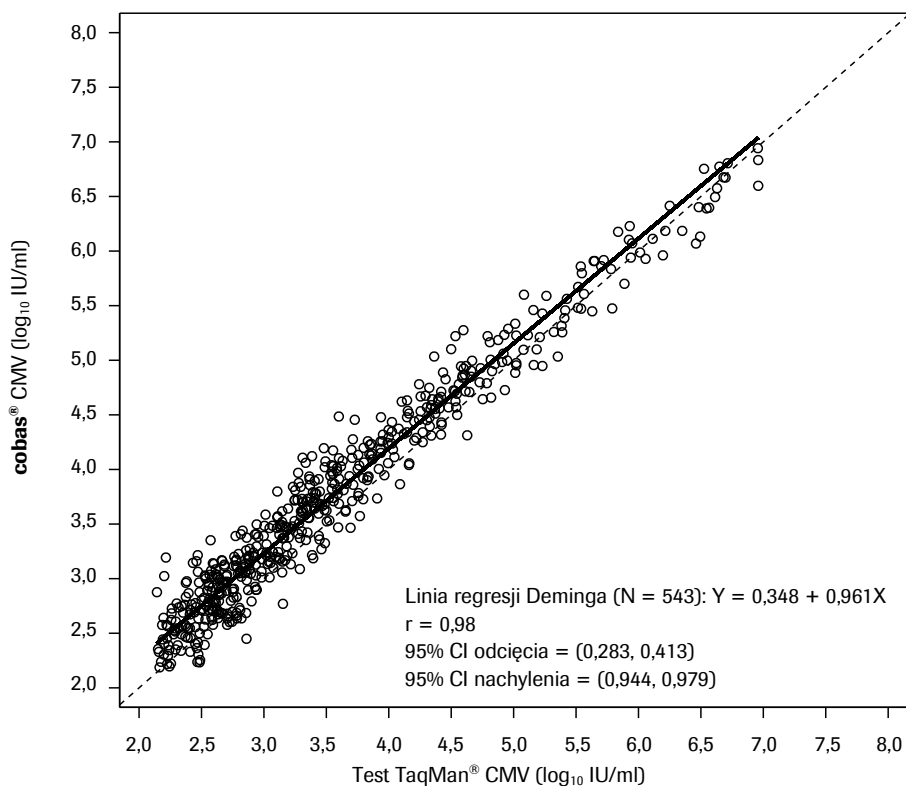
^a Założona niezależność między wszystkimi próbkami.

^b Korelacja między próbkami od tych samych uczestników skorelowana metodą bootstrap z 500 iteracjami.

* Oznacza 50. percentyl skorygowanego metodą bootstrap rozkładu oszacowania parametrów.

CI = przedział ufności; r = współczynnik korelacji.

Rys. 5 Wykres regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (test cobas® CMV względem testu TaqMan® CMV; próbki kliniczne i spreparowane)

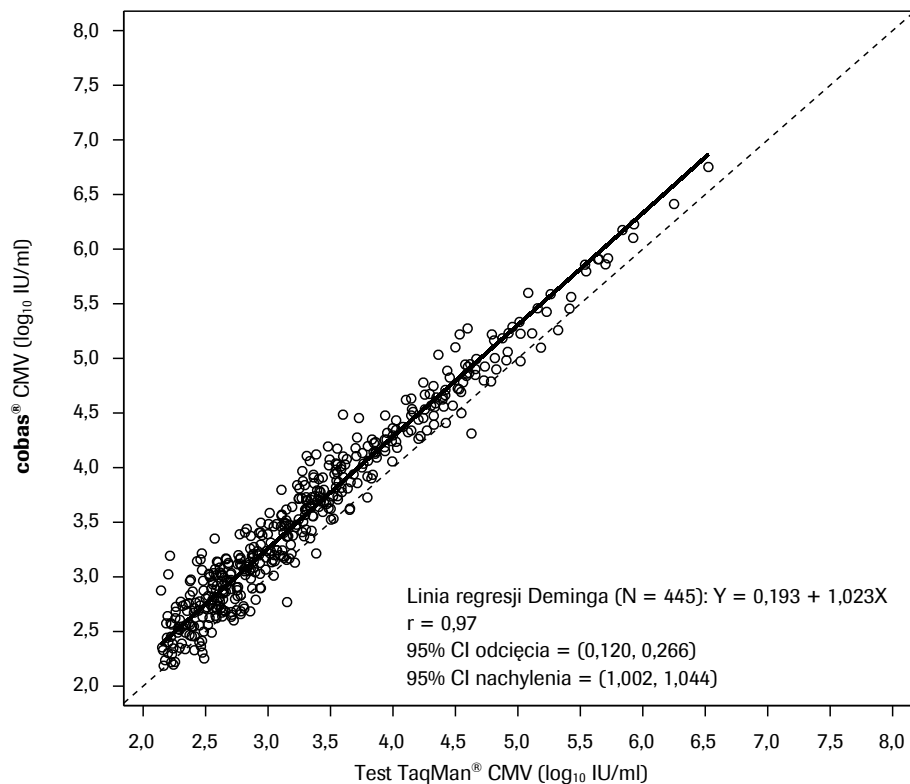


Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji.

Rysunek obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od $1,37E+02$ IU/ml do $9,1E+06$ IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń.

CI = przedział ufności;

r = współczynnik korelacji.

Rys. 6 Wykres regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (cobas® CMV względem TaqMan® CMV; próbki kliniczne)

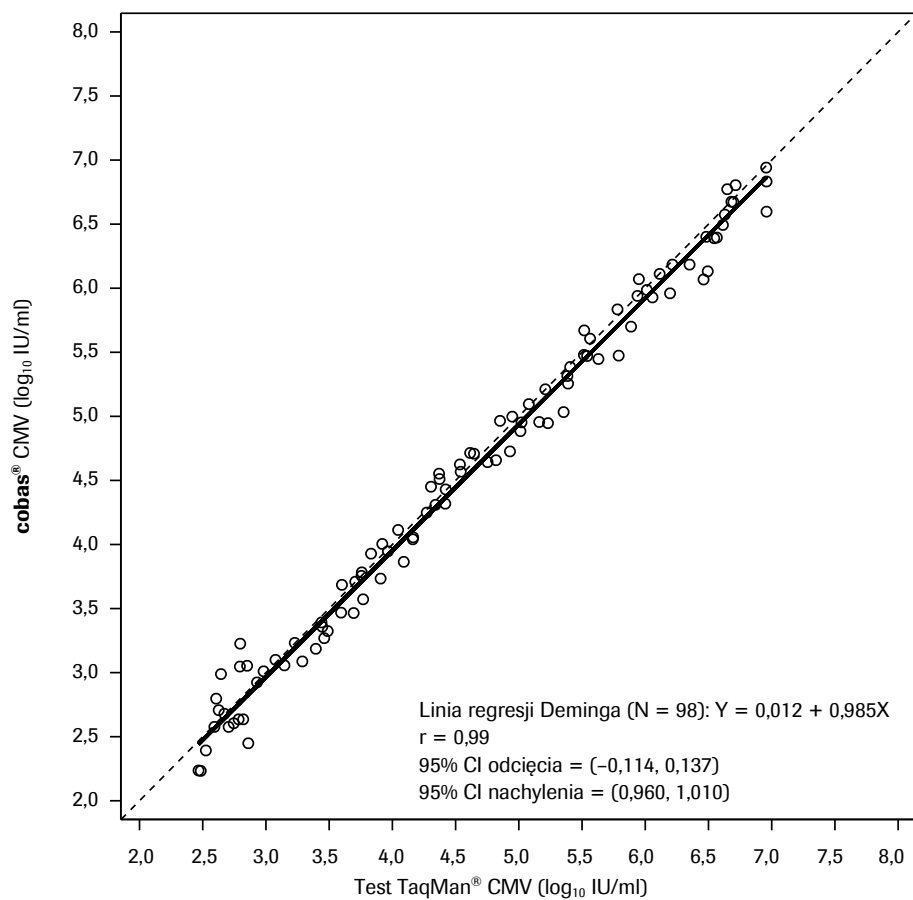
Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji.

Rysunek obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od $1,37E+02$ IU/ml do $9,1E+06$ IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń.

CI = przedział ufności;

r = współczynnik korelacji.

Rys. 7 Wykres regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (cobas® CMV względem TaqMan® CMV; próbki spreparowane)



Uwaga: CI = przedział ufności;
 r = współczynnik korelacji.

Błąd systematyczny przy wybranych poziomach miana wirusa

Tabela 32 poniżej przedstawia błąd systematyczny między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV przy pięciu wybranych poziomach miana wirusa od 2,14 log₁₀ IU/ml do 7,00 log₁₀ IU/ml z powiązаныmi odpowiednikami bez przekształcenia.

Tabela 32 Błąd systematyczny między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV (log₁₀ IU/ml) dla pięciu wybranych poziomów miana wirusa (próbki kliniczne i spreparowane)

Próbki	Poziom miana wirusa (wg testu TaqMan® CMV)	Różnica systematyczna
Kliniczne i spreparowane	2,137 log ₁₀ IU/ml (1,37E+02 IU/ml)	0,265 log ₁₀ IU/ml (1,15E+02 IU/ml)
	2,699 log ₁₀ IU/ml (5,00E+02 IU/ml)	0,243 log ₁₀ IU/ml (3,74E+02 IU/ml)
	3,255 log ₁₀ IU/ml (1,80E+03 IU/ml)	0,221 log ₁₀ IU/ml (1,19E+03 IU/ml)
	4,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+04 IU/ml)	0,192 log ₁₀ IU/ml (5,56E+03 IU/ml)
	7,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+07 IU/ml)	0,075 log ₁₀ IU/ml (1,89E+06 IU/ml)
Kliniczne	2,137 log ₁₀ IU/ml (1,37E+02 IU/ml)	0,242 log ₁₀ IU/ml (1,02E+02 IU/ml)
	2,699 log ₁₀ IU/ml (5,00E+02 IU/ml)	0,255 log ₁₀ IU/ml (4,00E+02 IU/ml)
	3,255 log ₁₀ IU/ml (1,80E+03 IU/ml)	0,268 log ₁₀ IU/ml (1,53E+03 IU/ml)
	4,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+04 IU/ml)	0,285 log ₁₀ IU/ml (9,28E+03 IU/ml)
	7,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+07 IU/ml)	0,354 log ₁₀ IU/ml (1,26E+07 IU/ml)
Spreparowane	2,137 log ₁₀ IU/ml (1,37E+02 IU/ml)	-0,020 log ₁₀ IU/ml (-6,19E+00 IU/ml)
	2,699 log ₁₀ IU/ml (5,00E+02 IU/ml)	-0,028 log ₁₀ IU/ml (-3,17E+01 IU/ml)
	3,255 log ₁₀ IU/ml (1,80E+03 IU/ml)	-0,037 log ₁₀ IU/ml (-1,46E+02 IU/ml)
	4,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+04 IU/ml)	-0,048 log ₁₀ IU/ml (-1,05E+03 IU/ml)
	7,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+07 IU/ml)	-0,093 log ₁₀ IU/ml (-1,93E+06 IU/ml)

^a Różnica w IU/ml obliczona jako 10(szacowany cobas® CMV log₁₀ IU/ml) – 10(poziom miana wirusa TaqMan® CMV log₁₀ IU/ml).

Średnia różnica pary

Tabela 33 poniżej przedstawia średnią różnicę pary między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV przy reprezentatywnych wartościach progowych i powiązane 95% CI obliczone za pomocą sparowanego testu t-Studenta.³⁰

Tabela 33 Średnia różnic pary miana wirusa testów cobas® CMV minus TaqMan® CMV (\log_{10} IU/ml) przy reprezentatywnych przedziałach decyzyjnych (IU/ml) w populacji SOT

Próbki	Reprezentatywne przedziały decyzyjne ^a (IU/ml)	N	Średnia różnica pary (\log_{10} IU/ml)	SE dla średniej różnicy pary (\log_{10} IU/ml)	95% CI (\log_{10} IU/ml)
Kliniczne i spreparowane	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	275	0,234	0,013	(0,208, 0,260)
	od 2,0E+03 do < 2,0E+04	143	0,260	0,019	(0,223, 0,296)
	od 2,0E+04 do < 1,0E+05	62	0,195	0,025	(0,145, 0,245)
	≥ 1,0E+05	63	0,012	0,025	(-0,039, 0,062)
	Ogółem	543	0,211	0,010	(0,191, 0,230)
Kliniczne	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	253	0,256	0,013	(0,230, 0,282)
	od 2,0E+03 do < 2,0E+04	122	0,317	0,016	(0,285, 0,350)
	od 2,0E+04 do < 1,0E+05	47	0,251	0,027	(0,196, 0,305)
	≥ 1,0E+05	23	0,201	0,030	(0,139, 0,262)
	Ogółem	445	0,269	0,009	(0,251, 0,288)
Spreparowane	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	22	-0,017	0,044	(-0,108, 0,074)
	od 2,0E+03 do < 2,0E+04	21	-0,074	0,024	(-0,125, -0,024)
	od 2,0E+04 do < 1,0E+05	15	0,021	0,031	(-0,045, 0,086)
	≥ 1,0E+05	40	-0,097	0,022	(-0,141, -0,053)
	Ogółem	98	-0,056	0,015	(-0,087, -0,025)

Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Tabela obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od 1,37E+02 IU/ml do 9,1E+06 IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń. Sparowane wyniki w zakresie liniowości obu oznaczeń zostały przydzielone do reprezentatywnych przedziałów decyzyjnych na podstawie wyniku testu TaqMan® CMV (IU/ml).

^a Równoważne reprezentatywne przedziały decyzyjne (IU/ml) dla od 1,37E+02 do < 2,0E+03 (IU/ml) = 2,137 do < 3,301 (\log_{10} IU/ml), 2,0E+03 do < 2,0E+04 (IU/ml) = 3,301 do < 4,301 (\log_{10} IU/ml), 2,0E+04 do < 1,0E+05 (IU/ml) = 4,301 do < 5,000 (\log_{10} IU/ml) oraz ≥ 1,0E+05 (IU/ml) = ≥ 5,000 (\log_{10} IU/ml).

N = liczba sparowanych próbek; SE = błąd standardowy; CI = przedział ufności.

Dopuszczalna całkowita różnica (ATD)

Tabela 34 oraz rysunki od Rys. 8 do Rys. 10 poniżej przedstawiają wyniki ATD z użyciem poszczególnych różnic w parach między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV względem ich średniej w reprezentatywnych wartościach progowych i wyliczone odsetki par wyników w strefie ATD.

Tabela 34 Odsetek próbek w populacji SOT wchodzący w przedziały strefy dopuszczalnej różnicy całkowitej (ang. *Allowable Total Difference, ATD*) (IU/ml) (test cobas® CMV względem testu TaqMan® CMV)

Próbki	Kategoria przedziału	Zakres przedziału ^a (IU/ml)	Odsetek par próbek w strefie ATD % (n/N)
Kliniczne i spreparowane	Niski	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	95,6% (239/250)
	Średni	od 2,0E+03 do < 8,0E+03	89,6% (103/115)
	Wysoki	od 8,0E+03 do 9,10E+06	95,5% (170/178)
	Ogółem	-	94,3% (512/543)
Kliniczne	Niski	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	95,2% (216/227)
	Średni	od 2,0E+03 do < 8,0E+03	88,2% (90/102)
	Wysoki	od 8,0E+03 do 9,10E+06	93,1% (108/116)
	Ogółem	-	93,0% (414/445)
Spreparowane	Niski	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	100,0% (23/23)
	Średni	od 2,0E+03 do < 8,0E+03	100,0% (13/13)
	Wysoki	od 8,0E+03 do 9,10E+06	100,0% (62/62)
	Ogółem	-	100,0% (98/98)

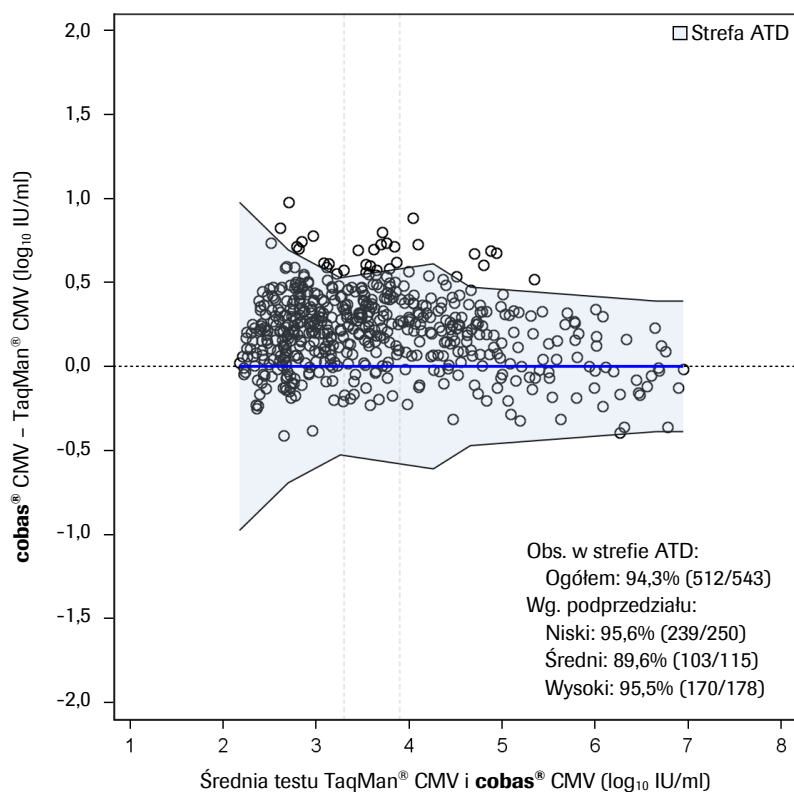
Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Tabela obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od 1,37E+02 IU/ml do 9,1E+06 IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń. Sparowane wyniki zostały przydzielone do przedziałów miana wirusa na podstawie wyniku testu TaqMan® CMV (IU/ml). Strefa ATD = strefa dopuszczalnej różnicy całkowitej.

^a Równoważne istotne medycznie przedziały (IU/ml) dla od 1,37E+02 do < 2,0E+03, od 2,0E+03 do < 8,0E+03 i od 8,0E+03 do 9,1E0 w log₁₀ IU/ml to, odpowiednio, od 2,137 do < 3,301, od 3,301 do < 3,903 oraz od 3,903 do 6,959.

N = łączna liczba sparowanych próbek w ramach odpowiedniego przedziału.

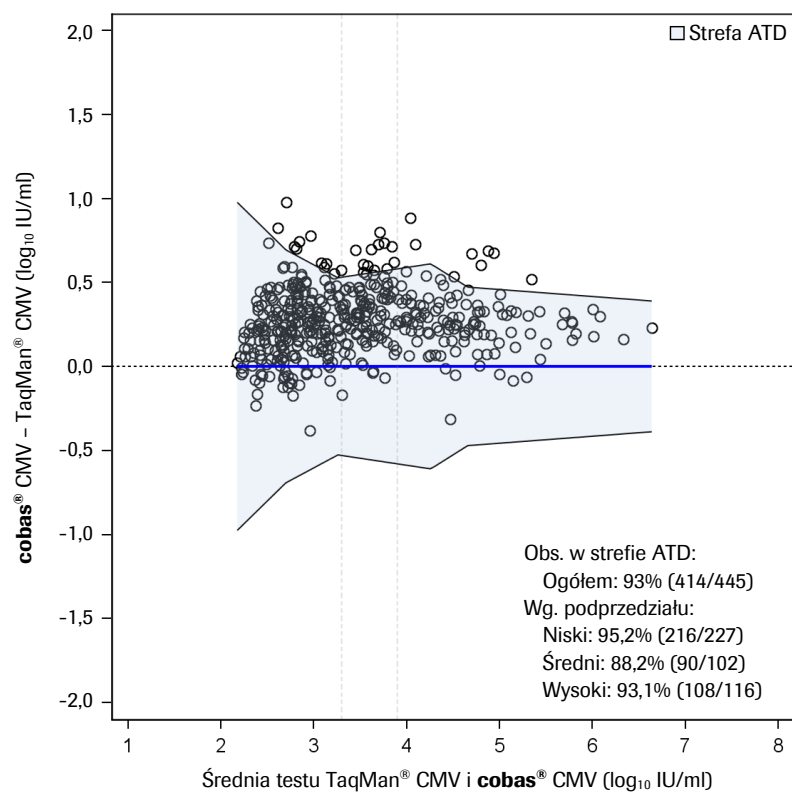
n = łączna liczba sparowanych próbek uwzględnionych w strefie ATD w ramach odpowiedniego przedziału.

Rys. 8 Wykres dopuszczalnej różnicy całkowitej (ATD) poszczególnych różnic miana wirusa względem średniej (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (test cobas® CMV względem testu TaqMan® CMV; próbki kliniczne i spreparowane)



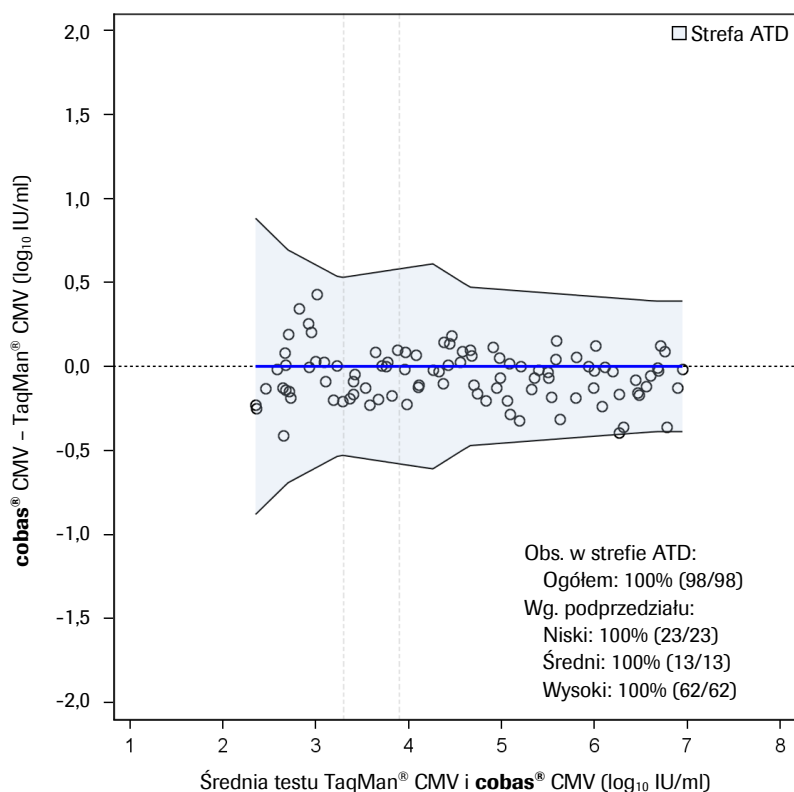
Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Rysunek obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od $1,37E+02$ IU/ml do $9,1E+06$ IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń. Sparowane wyniki zostały przydzielone do przedziałów miana wirusa na podstawie wyniku testu TaqMan® CMV (IU/ml).

Rys. 9 Wykres dopuszczalnej różnicy całkowitej (ATD) poszczególnych różnic miana wirusa względem średniej (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (test cobas® CMV względem testu TaqMan® CMV; próbki kliniczne)



Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono dwadzieścia sześć próbek pochodzących od dziewięciu pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Rysunek obejmuje wyłącznie pary próbek z parami wyników, z których każdy mieścił się w zakresie od $1,37E+02$ IU/ml do $9,1E+06$ IU/ml, nakładającym się zakresie liniowości obu oznaczeń. Sparowane wyniki zostały przydzielone do przedziałów miana wirusa na podstawie wyniku testu TaqMan® CMV (IU/ml).

Rys. 10 Wykres dopuszczalnej różnicy całkowitej (ATD) poszczególnych różnic miana wirusa względem średniej (\log_{10} IU/ml) w populacji SOT (test cobas® CMV względem testu TaqMan® CMV; próbki spreparowane)



Zgodność z próbkami ujemnymi

Za pomocą każdego oznaczenia przetestowano trzydzieści próbek ujemnych dla IgG CMV, a wyniki przedstawia Tabela 35.

Tabela 35 Wyniki próbek ujemnych dla IgG CMV (cobas® CMV względem TaqMan® CMV)

		Test TaqMan® CMV (IU/ml)			Ogółem
		Target Not Detected	< 1,37E+02	≥ 1,37E+02	
Target Not Detected		30	0	0	30
cobas® CMV (IU/ml)	< 1,37E+02	0	0	0	0
	≥ 1,37E+02	0	0	0	0
	Ogółem	30	0	0	30

Uwaga: dolna granica oznaczalności (LLoQ) dla testu TaqMan® CMV wynosi 1,37E+02 IU/ml.

CMV = wirus cytomegalii; IgG = immunoglobulina G.

Ocena wiarygodności klinicznej: populacja pacjentów po przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCT)

Badanie zaprojektowano do oceny zgodności klinicznej między testami cobas® CMV i COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV w populacji przeszczepu hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCT). Zbadano zamrożone próbki pozostałe z fazy 2 randomizowanego, prowadzonego metodą podwójnej ślepej próby i kontrolowanego placebo wielośrodkowego badania klinicznego ze zmianą dawki leki brincidofovir w profilaktyce CMV².

Wszystkie zbadane, kwalifikujące się do oceny próbki zebrano w przedziale czasowym od łącznie 258 uczestników. Przeprowadzono sekwencjonowanie regionów docelowych oznaczenia dla próbek z przesunięciem > 0,5 log₁₀ IU/ml między oznaczeniami oraz dla reprezentatywnego zestawu próbek bez pomiaru przesunięcia. Sekwencje powiązane ze średnim przesunięciem > 0,9 log₁₀ IU/ml zdefiniowano jako „mające wpływ”. Zidentyfikowano tylko sekwencje mające wpływ na sekwencje docelowe testu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

Tabela 36 poniżej podsumowuje dane demograficzne i wyjściową charakterystykę kliniczną 258 uczestników.

Tabela 36 Dane demograficzne i wyjściowa charakterystyka kliniczna uczestników HSCT

Charakterystyka	Statystyki
Całkowita liczba, N	258
Wiek (lata)	
Średnia ± OS	51 ± 12,3
Mediana	51
Zakres	21–71
Płeć, n (%)	
Mężczyzna	144 (55,8%)
Kobieta	114 (44,2%)
Pochodzenie etniczne, n (%)	
Latynosi	24 (9,3%)
Nie Latynosi	230 (89,1%)
Nieznany	4 (1,6%)
Rasa, n (%)	
Azjatycka	15 (5,8%)
Rasa czarna/afroamerykańskie	10 (3,9%)
Biała	228 (88,4%)
Inne	5 (1,9%)
Grupa badania, n (%)	
Schemat profilaktyki anti-CMV	164 (63,6%)
Placebo	61 (23,6%)
Niepowodzenie kwalifikacji	33 (12,8%)

Uwaga: uczestnik, dla którego informacje były niedostępne lub niezgłoszone, klasyfikowany był pod względem właściwej charakterystyki jako „nieznane”. W kategorii profilaktyki anti-CMV grupy badania uwzględniono następujące kohorty: CMX001 kohorta leczenia 1, CMX001 kohorta leczenia 2, CMX001 kohorta leczenia 3 i CMX001 kohorta leczenia 4.

CMV = wirus cytomegalii; OS = odchylenie standardowe.

Zgodność kliniczna w populacji HSCT

Zgodność wyjściowa na podstawie wartości progowych miana wirusa

Tabela 37 przedstawia zgodność między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) w punkcie wyjściowym dla pacjentów, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV.

Tabela 37 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej niewykrycia targetu w populacji HSCT

Wyjściowa	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)	
	cobas® CMV	Target Not Detected			Detected
Target Not Detected		11	0	11	100,0% (71,5%, 100,0%)
Detected		8*	48	56	85,7% (73,8%, 93,6%)
Ogółem		19	48	67	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI)		57,9% (33,5%, 79,7%)	100,0% (92,6%, 100,0%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)		88,1% (77,8%, 94,7%)	-	-	-
Wartość p ^a		0,0078	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym dla uczestników, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV.

* 1 z 8 rozbieżnych próbek pochodziła od uczestnika z wpływającą niezgodnością sekwencji.

^a Obliczona z użyciem testu McNemara.

CI = przedział ufności.

Tabela 38 przedstawia zgodność między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 1,37E+02 IU/ml w punkcie wyjściowym dla pacjentów, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV.

Tabela 38 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 1,37E+02 IU/ml w populacji HSCT

Wyjściowa cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
	< 1,37E+02 IU/ml (< 2,137 log ₁₀ IU/ml)	≥ 1,37E+02 IU/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IU/ml)		
< 1,37E+02 IU/ml (< 2,137 log ₁₀ IU/ml)	36	1	37	97,3% (85,8%, 99,9%)
≥ 1,37E+02 IU/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IU/ml)	1	29	30	96,7% (82,8%, 99,9%)
Ogółem	37	30	67	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	97,3% (85,8%, 99,9%)	96,7% (82,8%, 99,9%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	97,0% (89,6%, 99,6%)	-	-	-
Wartość p ^a	1,0000	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym dla uczestników, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV. Próbkę z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) lub wykrywalnym mianem wirusa poniżej 1,37E+02 IU/ml sklasyfikowano jako „< 1,37E+02 IU/ml (< 2,137 log₁₀ IU/ml)”.

0 z 2 rozbieżnych próbek pochodziło od uczestników z wpływającą niezgodnością sekwencji.

^a Obliczona z użyciem testu McNemara.

1,0E+00 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

CI = przedział ufności.

Tabela 39 przedstawia zgodność między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 5,0E+02 IU/ml w punkcie wyjściowym dla pacjentów, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV.

Tabela 39 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 5,0E+02 IU/ml w populacji HSCT

Wyjściowa cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
	< 5,0E+02 IU/ml (< 2,699 log ₁₀ IU/ml)	≥ 5,0E+02 IU/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IU/ml)		
< 5,0E+02 IU/ml (< 2,699 log ₁₀ IU/ml)	43	1	44	97,7% (88,0%, 99,9%)
≥ 5,0E+02 IU/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IU/ml)	0	23	23	100,0% (85,2%, 100,0%)
Ogółem	43	24	67	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	100,0% (91,8%, 100,0%)	95,8% (78,9%, 99,9%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	98,5% (92,0%, 100,0%)	-	-	-
Wartość p ^a	1,0000	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym dla uczestników, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV. Probki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) lub wykrywalnym mianem wirusa poniżej 5,0E+02 IU/ml sklasyfikowano jako „< 5,0E+02 IU/ml (< 2,699 log₁₀ IU/ml)”.

0 z 1 rozbieżnych próbek pochodziło od uczestników z wpływającą niezgodnością sekwencji.

^a Obliczona z użyciem testu McNemara.

1,0E+00 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

CI = przedział ufności.

Tabela 40 przedstawia zgodność między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 1,8E+03 IU/ml w punkcie wyjściowym dla pacjentów, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV.

Tabela 40 Analiza zgodności wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z użyciem wartości progowej 1,8E+03 IU/ml w populacji HSCT

Wyjściowa cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
	< 1,8E+03 IU/ml (< 3,255 log ₁₀ IU/ml)	≥ 1,8E+03 IU/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IU/ml)		
< 1,8E+03 IU/ml (< 3,255 log ₁₀ IU/ml)	48	0	48	100,0% (92,6%, 100,0%)
≥ 1,8E+03 IU/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IU/ml)	2	17	19	89,5% (66,9%, 98,7%)
Ogółem	50	17	67	-
Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	96,0% (86,3%, 99,5%)	100,0% (80,5%, 100,0%)	-	-
Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	97,0% (89,6%, 99,6%)	-	-	-
Wartość p ^a	0,5000	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punkcie wyjściowym dla uczestników, którzy rozpoczęli leczenie anty-CMV. Próbki z wynikiem „Target Not Detected” (Nie wykryto targetu) lub wykrywalnym mianem wirusa poniżej 1,8E+03 IU/ml sklasyfikowano jako „< 1,8E+03 IU/ml (< 3,255 log₁₀ IU/ml)”.

0 z 2 rozbieżnych próbek pochodziło od uczestników z wpływającą niezgodnością sekwencji.

^a Obliczona z użyciem testu McNemara.

1,0E+00 IU/ml = 1,1 kopii/ml; 1,8E+03 IU/ml = 2000 kopii/ml.

CI = przedział ufności.

Analiza rozstrzygnięcia epizodu CMV

Tabela 41 poniżej przedstawia analizy zgodności rozstrzygnięcia epizodu CMV dla punktów czasowych pacjentów z wiremią, u których rozpoczęto leczenie przeciwko CMV.

Tabela 41 Analiza zgodności rozstrzygnięcia epizodu CMV dla punktów czasowych pacjentów HSCT z wiremią, u których rozpoczęto leczenie przeciwko CMV

Punkt czasowy	cobas® CMV	TaqMan® CMV		Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
		Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV		
Dzień 14	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	0	0	0	NC
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	0	14	14	100,0% (76,8%, 100,0%)
	Ogółem	0	14	14	-
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	NC	100,0% (76,8%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	100,0% (76,8%, 100,0%)	-	-	-

Punkt czasowy	TaqMan® CMV				
	cobas® CMV	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
Dzień 21	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	1	0	1	100,0% (2,5%, 100,0%)
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	0	12	12	100,0% (73,5%, 100,0%)
	Ogółem	1	12	13	-
	Zgodność kolumny (95% ścisły CI)	100,0% (2,5%, 100,0%)	100,0% (73,5%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem (95% ścisłego CI)	100,0% (75,3%, 100,0%)	-	-	-

Punkt czasowy	TaqMan® CMV				
	cobas® CMV	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
Dzień 28	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	2	0	2	100,0% (15,8%, 100,0%)
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	0	7	7	100,0% (59,0%, 100,0%)
	Ogółem	2	7	9	-
	Zgodność kolumny	100,0% (15,8%, 100,0%)	100,0% (59,0%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem	100,0% (66,4%, 100,0%)	-	-	-

Punkt czasowy	TaqMan® CMV				
	cobas® CMV	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	Ogółem	Zgodność wiersza (95% ścisły CI)
Dzień 49	Rozstrzygnięcie epizodu CMV ^a	3	0	3	100,0% (29,2%, 100,0%)
	Brak rozstrzygnięcia epizodu CMV	0	1	1	100,0% (2,5%, 100,0%)
	Ogółem	3	1	4	-
	Zgodność kolumny	100,0% (29,2%, 100,0%)	100,0% (2,5%, 100,0%)	-	-
	Procentowa zgodność ogółem	100,0% (39,8%, 100,0%)	-	-	-

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko uczestników z parami próbek kwalifikującymi się do analizy zgodności klinicznej w dniach 14, 21, 28 lub 49 po rozpoczęciu leczenia przeciwko CMV oraz z dostępnym statusem rozstrzygnięcia dla każdego właściwego oznaczenia. Dla dwóch uczestników rozwiązanie epizodu CMV dostępne było dla obu oznaczeń w dniu 28 i ich statusy rozstrzygnięcia przeniesiono do dnia 49. Żaden z uczestników uwzględnionych w tej analizie nie wykazywał wpływających niezgodności sekwencji.

^a Rozstrzygnięcie epizodu CMV zdefiniowano jako 2 kolejne próbki (najlepiej pobrane w odstępie tygodnia), dla których uzyskano wynik poniżej LLoQ testu TaqMan® CMV (137 IU/ml), co jest wartością zgodną z zaleceniami bieżących wytycznych; tj. zaleca się 2 kolejne próbki z wynikiem „ujemny” jako punkt końcowy miana wirusa w leczeniu epizodów CMV.

CMV = wirus cytomegalii.

Tabela 42 poniżej przedstawia procentową zgodność ogółem z analizy zgodności rozstrzygnięć epizodów CMV między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV dla uczestników z wiremią w dniu 14, 21, 28 i 49. Wartość OPA oszacowano na 100% dla wszystkich punktów będących przedmiotem zainteresowania. W związku z tym spełniono kryterium akceptacji OPA.

Tabela 42 Procentowa zgodność ogółem z analizy zgodności rozstrzygnięcia epizodu CMV pacjentów HSCT z wiremią, u których rozpoczęto leczenie anti-CMV

Punkt czasowy	Procentowa zgodność ogółem Nierozwiązane	Procentowa zgodność ogółem Rozwiązane	Procentowa zgodność ogółem	95% ścisłego CI Procentowa zgodność ogółem
Dzień 14	100,0% (14/14)	NC	100,0% (14/14)	(76,8%, 100,0%)
Dzień 21	100,0% (12/12)	100,0% (1/1)	100,0% (13/13)	(75,3%, 100,0%)
Dzień 28	100,0% (7/7)	100,0% (2/2)	100,0% (9/9)	(66,4%, 100,0%)
Dzień 49	100,0% (1/1)	100,0% (3/3)	100,0% (4/4)	(39,8%, 100,0%)

Uwaga: dla dwóch uczestników rozwiązanie epizodu CMV dostępne było dla obu oznaczeń w dniu 28 i ich statusy rozstrzygnięcia przeniesiono do dnia 49. Żaden z uczestników uwzględnionych w tej analizie nie wykazywał wpływających niezgodności sekwencji. Rozstrzygnięcie epizodu CMV zdefiniowano jako 2 kolejne próbki (najlepiej pobrane w odstępie tygodnia), dla których uzyskano wynik poniżej LLoQ testu TaqMan® CMV (1,37E+02 IU/ml), co jest wartością zgodną z zaleceniami bieżących wytycznych; tj. zaleca się 2 kolejne próbki z wynikiem „ujemny” jako punkt końcowy miana wirusa w leczeniu epizodów CMV.

CMV = wirus cytomegalii; LLoQ = dolna granica oznaczalności; NC = niewyliczalne.

Zgodność ogółem przy poziomach miana wirusa

Tabela 43 poniżej przedstawia ogólną zgodność wyników miana wirusa testów cobas® CMV oraz TaqMan® CMV dla wszystkich 1367 sparowanych próbek klinicznego badania zgodności.

Tabela 43 Zgodność całkowita między wynikami miana wirusa testów cobas® CMV i TaqMan® CMV w populacji HSCT

Wszystkie pary próbek	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ IU/ml)						Ogółem
	cobas® CMV (log ₁₀ IU/ml)	Target Not Detected	< 2,137	od 2,137 do < 2,699	od 2,699 do < 3,255	od 3,255 do < 3,899	
Target Not Detected	918	23	0	0	1	1	943
< 2,137	154	138	9	0	0	0	301
od 2,137 do < 2,699	0	13	24	5	0	0	42
od 2,699 do < 3,255	1*	1	17	17	0	0	36
od 3,255 do 3,899	0	0	0	8	16	1	25
>3,899	0	0	0	0	10	10	20
Ogółem	1 073	175	50	30	27	12	1 367

Uwaga: w tabeli uwzględniono wszystkie sparowane próbki kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej. Dolna granica oznaczalności (LLOQ) dla testu cobas® CMV wynosi 3,45E+01 IU/ml, a dla testu TaqMan® CMV 1,37E+02 IU/ml. Wyniki przypisano do jednego z pięciu zakresów miana wirusa na podstawie wyniku IU/ml każdego właściwego oznaczenia.

W tabeli uwzględniono siedem próbek od trzech uczestników z wpływającymi niezgodnościami sekwencji.

* Próbką pochodzi od uczestnika z wpływającą niezgodnością sekwencji.

$\log_{10}(1,37E+02) = 2,137$; $\log_{10}(5,0E+02) = 2,699$; $\log_{10}(1,8E+03) = 3,255$; $\log_{10}(7,943E+03) = 3,899$.

Tabela 44 poniżej przedstawia podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla wszystkich par próbek od pacjentów z HSCT z użyciem różnych wartości progowych (Target Not Detected, 137 IU/ml, 500 IU/ml i 1800 IU/ml).

Tabela 44 Zestawienie zgodności wyników miana wirusa pacjentów z HSCT z użyciem różnych wartości progowych (wszystkie pary próbek)

Wartość progowa	Zgodność procentowa < wartość progowa	Zgodność procentowa ≥ wartość progowa	Procentowa zgodność ogółem
	95% ścisły CI (n/N)	95% ścisły CI (n/N)	95% ścisły CI (n/N)
Target Not Detected	85,6% (83,3%; 87,6%) (918/1073)	91,5% (87,7%; 94,4%) (269/294)	86,8% (84,9%; 88,6%) (1187/1367)
1,37E+02 IU/ml (2,137 log₁₀ IU/ml)	98,8% (98,0%; 99,3%) (1233/1248)	90,8% (84,1%; 95,3%) (108/119)	98,1% (97,2%; 98,8%) (1341/1367)
5,0E+02 IU/ml (2,699 log₁₀ IU/ml)	98,5% (97,7%; 99,1%) (1279/1298)	89,9% (80,2%; 95,8%) (62/69)	98,1% (97,2%; 98,8%) (1341/1367)
1,8E+03 IU/ml (3,255 log₁₀ IU/ml)	99,4% (98,8%; 99,7%) (1320/1328)	94,9% (82,7%; 99,4%) (37/39)	99,3% (98,7%; 99,6%) (1357/1367)

Uwaga: w tabeli uwzględniono wszystkie sparowane próbki kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej. LoD testu cobas® CMV wynosi 3,45E+01 IU/ml. LoD testu TaqMan® CMV wynosi 1,37E+02 IU/ml.

95% przedziały ufności (CI) obliczony metodą ścisłą przy założeniu niezależności między wszystkimi próbkami.

1 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

Tabela 45 poniżej przedstawia ogólną zgodność wyników miana wirusa testów cobas® CMV oraz TaqMan® CMV dla próbek pacjentów, którzy rozpoczęli leczenie anti-CMV i pobranych w zdefiniowanych punktach czasowych stanowiących przedmiot zainteresowania po rozpoczęciu leczenia anti-CMV.

Tabela 45 Zgodność całkowita między wirami testów cobas® CMV i TaqMan® CMV z próbek w punktach czasowych będących przedmiotem zainteresowania po rozpoczęciu leczenia anti-CMV w populacji HSCT

Wszystkie punkty czasowe	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ IU/ml)						Ogółem
	Target Not Detected	< 2,137	od 2,137 do < 2,699	od 2,699 do < 3,255	od 3,255 do < 3,899	≥ 3,899	
cobas® CMV (log ₁₀ IU/ml)	Target Not Detected	17	1	0	0	0	18
	< 2,137	10	8	0	0	0	18
	od 2,137 do < 2,699	0	0	0	0	0	0
	od 2,699 do < 3,255	1*	0	2	2	0	5
	od 3,255 do 3,899	0	0	0	2	0	2
	>3,899	0	0	0	0	1	2
	Ogółem	28	9	2	4	1	45

Uwaga: w tabeli uwzględniono tylko pary próbek kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej w punktach czasowych (dzień 14, 21, 28 lub 49). Dolna granica oznaczalności (LLOQ) dla testu cobas® CMV wynosi 3,45E+01 IU/ml, a dla testu TaqMan® CMV 1,37E+02 IU/ml. Wyniki przypisano do jednego z pięciu zakresów miana wirusa na podstawie wyniku IU/ml każdego właściwego oznaczenia.

* Próbkę pochodzi od uczestnika z wpływającą niezgodnością sekwencji.

$\log_{10}(1,37E+02) = 2,137$; $\log_{10}(5,0E+02) = 2,699$; $\log_{10}(1,8E+03) = 3,255$; $\log_{10}(7,943E+03) = 3,899$.

Tabela 46 poniżej przedstawia podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla par próbek w punktach czasowych będących przedmiotem zainteresowania po rozpoczęciu leczenia anti-CMV od pacjentów z HSCT z użyciem różnych wartości progowych (Target Not Detected, 137 IU/ml, 500 IU/ml i 1800 IU/ml).

Tabela 46 Podsumowanie zgodności wyników miana wirusa dla pacjentów z HSCT z użyciem różnych wartości progowych (próbki w punktach czasowych będących przedmiotem zainteresowania po rozpoczęciu leczenia anti-CMV)

Wartość progowa	Zgodność procentowa < wartość progowa	Zgodność procentowa ≥ wartość progowa	Procentowa zgodność ogółem
	95% ścisły CI (n/N)	95% ścisły CI (n/N)	95% ścisły CI (n/N)
Target Not Detected	60,7% (40,6%; 78,5%) (17/28)	94,1% (71,3%; 99,9%) (16/17)	73,3% (58,1%; 85,4%) (33/45)
1,37E+02 IU/ml (2,137 log₁₀ IU/ml)	97,3% (85,8%; 99,9%) (36/37)	100,0% (63,1%; 100,0%) (8/8)	97,8% (88,2%; 99,9%) (44/45)
5,0E+02 IU/ml (2,699 log₁₀ IU/ml)	92,3% (79,1%; 98,4%) (36/39)	100,0% (54,1%; 100,0%) (6/6)	93,3% (81,7%; 98,6%) (42/45)
1,8E+03 IU/ml (3,255 log₁₀ IU/ml)	95,3% (84,2%; 99,4%) (41/43)	100,0% (15,8%; 100,0%) (2/2)	95,6% (84,9%; 99,5%) (43/45)

Uwaga: w tabeli uwzględniono wszystkie sparowane próbki kwalifikujące się do analizy zgodności klinicznej. LoD testu cobas® CMV wynosi 3,45E+01 IU/ml. LoD testu TaqMan® CMV wynosi 1,37E+02 IU/ml.

95% przedziały ufności (CI) obliczony metodą ścisłą przy założeniu niezależności między wszystkimi próbkami.

1 IU/ml = 1,1 kopii/ml.

Porównanie metod w populacji pacjentów po przeszczepie hematopoetycznych komórek macierzystych

Przeprowadzono badanie porównania metod w celu oceny skuteczności testu cobas® CMV w porównaniu do innego zatwierdzonego przez FDA testu miana wirusa CMV, TaqMan® CMV dla populacji przeszczepu hematopoetycznych komórek macierzystych. W badaniu wykorzystano 204 sparowane próbki, w tym 107 dodatnich pod względem CMV próbek ze wspomnianego powyżej badania fazy 2 dotyczącego profilaktyki CMV, oraz 97 spreparowanych próbek przygotowanych przez wprowadzenie hodowlanego wirusa CMV (szczep Merlin) do osocza ujemnego względem CMV.

Tabela 47 przedstawia oszacowania parametrów regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) wyników testów cobas® CMV i TaqMan® CMV według typu próbki.

Tabela 47 Oszacowania parametrów regresji Deminga między mianami wirusa (\log_{10} IU/ml) pomiędzy testami cobas® CMV i TaqMan® CMV w populacji HSCT według typu próbki

Rodzaj próbki	Liczba sparowanych próbek	Parametr	Oszacowanie parametru	Błąd standardowy	95% CI ^a 95% CI metodą bootstrap ^b	r
Kliniczne i spreparowane	204	Przecięcie	0,145 0,172*	0,041	(0,064; 0,227) (0,132; 0,219)	0,99
		Nachylenie	0,990 0,982*	0,009	(0,972; 1,008) (0,972; 0,990)	
Kliniczne	107	Przecięcie	-0,146 -0,188*	0,106	(-0,356; 0,064) (-0,462; -0,008)	0,96
		Nachylenie	1,110 1,125*	0,034	(1,041; 1,178) (1,066; 1,217)	
Spreparowane	97	Przecięcie	-0,097 nd.	0,063	(-0,223; 0,028) nd.	0,99
		Nachylenie	1,025 nd.	0,012	(1,000; 1,049) nd.	

Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Tabela obejmuje wyłącznie pary próbek klinicznych i spreparowanych z wynikami, z których każdy mieścił się w zakresie od $1,37E+02$ IU/ml do $9,1E+06$ IU/ml, wspólnym zakresie liniowości obu oznaczeń.

^a Założona niezależność między wszystkimi próbkami.

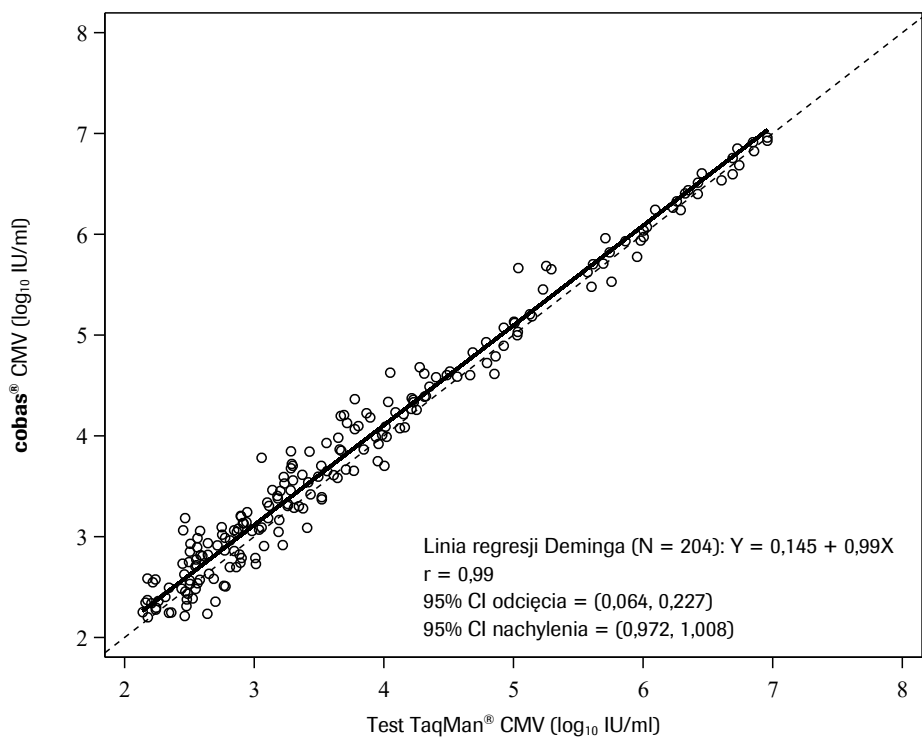
^b Korelacja między próbkami od tego samego uczestnika skorelowana metodą bootstrap z 500 iteracjami.

* Oznacza 50. percentyl skorygowanego metodą bootstrap rozkładu oszacowania parametrów.

CI = przedział ufności; cobas® CMV = cobas® CMV do stosowania w systemach cobas® 6800/8800; nd. = nie dotyczy; r = współczynnik korelacji.

Rys. 11 poniżej przedstawia wykres regresji Deminga wyników miana wirusa (\log_{10} IU/ml) testów cobas® CMV i TaqMan® CMV połączonych próbek klinicznych i spreparowanych.

Rys. 11 Wykres regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji HSCT (próbki kliniczne i spreparowane)

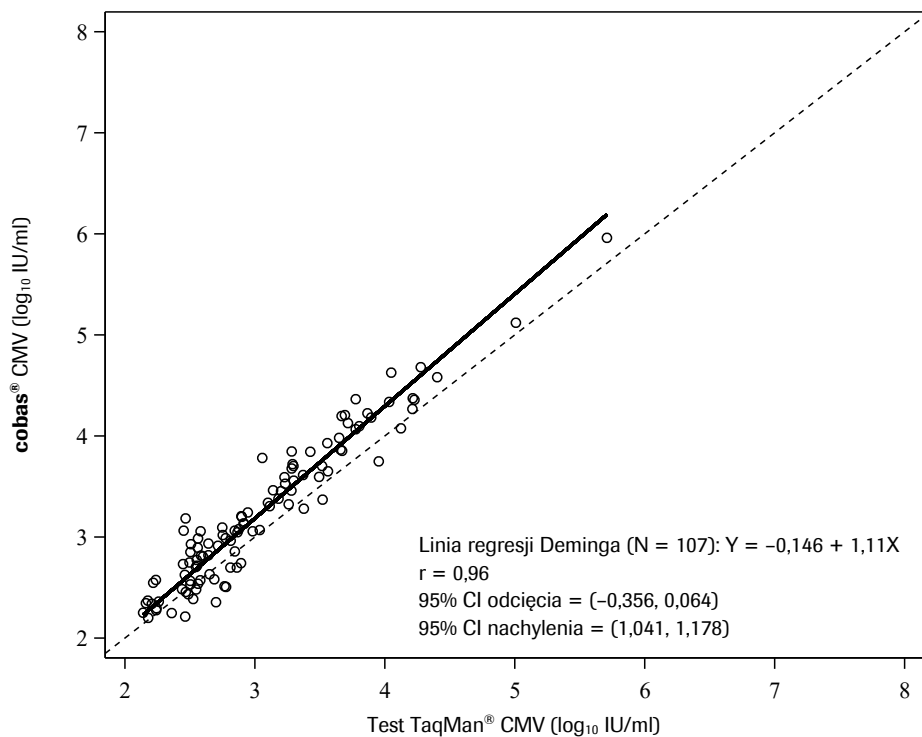


Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji.

CI = przedział ufności; r = współczynnik korelacji.

Rys. 12 poniżej przedstawia wykres regresji Deminga wyników miana wirusa (\log_{10} IU/ml) testów cobas® CMV i TaqMan® CMV próbek klinicznych.

Rys. 12 Wykres regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji HSCT (próbki kliniczne)

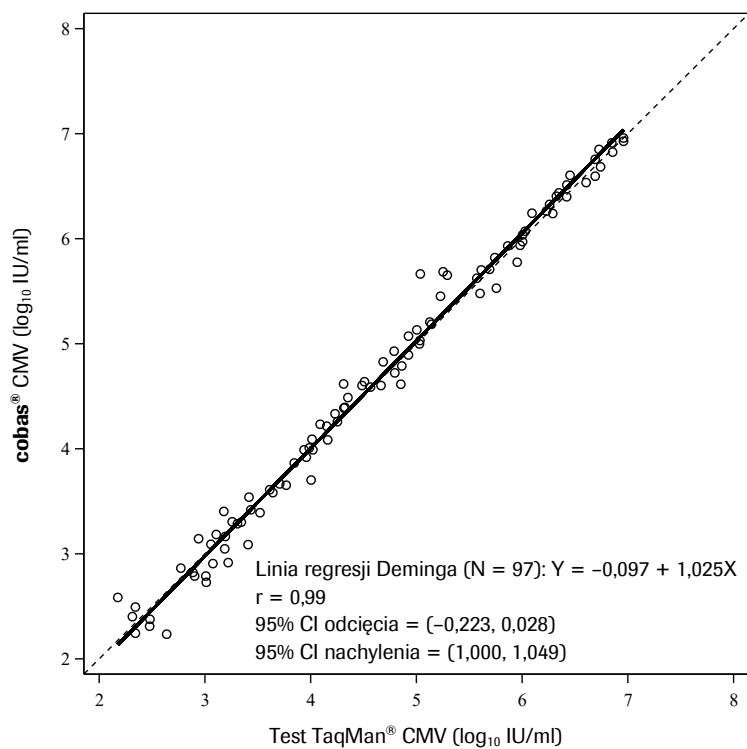


Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji.

CI = przedział ufności; r = współczynnik korelacji.

Rys. 13 poniżej przedstawia wykres regresji Deminga wyników miana wirusa (\log_{10} IU/ml) testów cobas® CMV i TaqMan® CMV próbek spreparowanych.

Rys. 13 Wykres regresji Deminga miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji HSCT (próbki spreparowane)



CI = przedział ufności; r = współczynnik korelacji.

Błąd systematyczny przy wybranych poziomach wirerii

Tabela 48 poniżej przedstawia błąd systematyczny między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV przy pięciu wybranych poziomach miana wirusa od 2,14 log₁₀ IU/ml do 7,00 log₁₀ IU/ml z powiązаныmi odpowiednikami bez przekształcenia.

Tabela 48 Błąd systematyczny między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV (log₁₀ IU/ml) dla pięciu wybranych poziomów miana wirusa w populacji HSCT (próbki kliniczne i spreparowane)

Rodzaj próbki	Poziom miana wirusa (wg. testu TaqMan® CMV)	Różnica systematyczna między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV
Kliniczne i spreparowane	2,137 log ₁₀ IU/ml (1,37E+02 IU/ml)	0,124 log ₁₀ IU/ml (4,51E+01 IU/ml)
	2,699 log ₁₀ IU/ml (5,00E+02 IU/ml)	0,118 log ₁₀ IU/ml (1,56E+02 IU/ml)
	3,255 log ₁₀ IU/ml (1,80E+03 IU/ml)	0,112 log ₁₀ IU/ml (5,32E+02 IU/ml)
	4,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+04 IU/ml)	0,105 log ₁₀ IU/ml (2,74E+03 IU/ml)
	7,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+07 IU/ml)	0,075 log ₁₀ IU/ml (1,89E+06 IU/ml)
Kliniczne	2,137 log ₁₀ IU/ml (1,37E+02 IU/ml)	0,089 log ₁₀ IU/ml (3,12E+01 IU/ml)
	2,699 log ₁₀ IU/ml (5,00E+02 IU/ml)	0,151 log ₁₀ IU/ml (2,08E+02 IU/ml)
	3,255 log ₁₀ IU/ml (1,80E+03 IU/ml)	0,212 log ₁₀ IU/ml (1,13E+03 IU/ml)
	4,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+04 IU/ml)	0,294 log ₁₀ IU/ml (9,68E+03 IU/ml)
	7,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+07 IU/ml)	0,624 log ₁₀ IU/ml (3,21E+07 IU/ml)
Spreparowane	2,137 log ₁₀ IU/ml (1,37E+02 IU/ml)	-0,044 log ₁₀ IU/ml (-1,31E+01 IU/ml)
	2,699 log ₁₀ IU/ml (5,00E+02 IU/ml)	-0,030 log ₁₀ IU/ml (-3,29E+01 IU/ml)
	3,255 log ₁₀ IU/ml (1,80E+03 IU/ml)	-0,016 log ₁₀ IU/ml (-6,36E+01 IU/ml)
	4,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+04 IU/ml)	0,003 log ₁₀ IU/ml (6,93E+01 IU/ml)
	7,000 log ₁₀ IU/ml (1,00E+07 IU/ml)	0,078 log ₁₀ IU/ml (1,97E+06 IU/ml)

Średnia różnica pary

Tabela 49 poniżej prezentuje szacunkowy błąd systematyczny w postaci obserwowanej średniej różnicy miana wirusa pary według typu próbki. Błąd systematyczny ogółem oszacowano jako średnio 0,107 log₁₀ IU/ml w całym wspólnym zakresie liniowości połączonych próbek klinicznych i spreparowanych. Tabela przedstawia również oszacowanie błędu statystycznego z podziałem na reprezentatywne przedziały decyzyjne.

Tabela 49 Średnia różnica miana wirusa w parach (log₁₀ IU/ml) między testami cobas® CMV i TaqMan® CMV przy reprezentatywnych przedziałach decyzyjnych (IU/ml) w populacji HSCT według typu próbki

Rodzaj próbki	Reprezentatywne przedziały decyzyjne (IU/ml) ^a	N	Średnia różnicy pary (log ₁₀ IU/ml)	SE dla średniej różnicy pary (log ₁₀ IU/ml)	95% CI (log ₁₀ IU/ml)
Kliniczne i spreparowane	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	98	0,126	0,023	(0,080, 0,171)
	od 2,0E+03 do < 2,0E+04	49	0,121	0,032	(0,058, 0,184)
	od 2,0E+04 do < 1,0E+05	16	0,061	0,033	(-0,009, 0,131)
	od 1,0E+05 do 9,1E+06	41	0,062	0,024	(0,013, 0,110)
	Ogółem	204	0,107	0,014	(0,078, 0,135)
Kliniczne	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	77	0,170	0,024	(0,122, 0,219)
	od 2,0E+03 do < 2,0E+04	27	0,241	0,041	(0,157, 0,326)
	od 2,0E+04 do < 1,0E+05	1	0,178	-	-
	od 1,0E+05 do 9,1E+06	2	0,181	0,070	(-0,705, 1,068)
	Ogółem	107	0,188	0,021	(0,148, 0,229)
Spreparowane	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	21	-0,037	0,043	(-0,127, 0,053)
	od 2,0E+03 do < 2,0E+04	22	-0,027	0,025	(-0,079, 0,025)
	od 2,0E+04 do < 1,0E+05	15	0,053	0,034	(-0,020, 0,126)
	od 1,0E+05 do 9,1E+06	39	0,056	0,025	(0,006, 0,106)
	Ogółem	97	0,017	0,016	(-0,015, 0,048)

Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Tabela obejmuje wyłącznie pary połączonych próbek klinicznych i spreparowanych z wynikami, z których każdy mieścił się w zakresie od 1,37E+02 IU/ml do 9,1E+06 IU/ml, wspólnym zakresie liniowości obu oznaczeń. Sparowane wyniki zostały przydzielone do istotnych medycznie przedziałów na podstawie wyniku testu TaqMan® CMV (IU/ml).

CI = przedział ufności; N = liczba sparowanych próbek; SE = błąd standardowy.

^a Równoważne reprezentatywne przedziały decyzyjne (IU/ml) dla od 1,37E+02 do < 2,0E+03 (IU/ml) = 2,137 do < 3,301 (log₁₀ IU/ml), 2,0E+03 do < 2,0E+04 (IU/ml) = 3,301 do < 4,301 (log₁₀ IU/ml), 2,0E+04 do < 1,0E+05 (IU/ml) = 4,301 do < 5,000 (log₁₀ IU/ml) oraz ≥ 1,0E+05 (IU/ml) = ≥ 5,000 (log₁₀ IU/ml).

Dopuszczalna całkowita różnica

Tabela 50 poniżej przedstawia odsetki wyników w przedziałach niskiej, średniej i wysokiej strefy dopuszczalnej całkowitej różnicy według typu próbki.

Tabela 50 Odsetki próbek w przedziałach niskiej, średniej i wysokiej strefy dopuszczalnej całkowitej różnicy w populacji HSCT według typu próbki

Rodzaj próbki	Kategoria przedziału	Zakres przedziału (IU/ml) ^a	Odsetek próbek w strefie ATD
Kliniczne i spreparowane	Niski	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	98,9% (88/89)
	Średni	od 2,0E+03 do < 8,0E+03	93,9% (31/33)
	Wysoki	od 8,0E+03 do 9,1E+06	98,8% (81/82)
	Ogółem	-	98,0% (200/204)
Kliniczne	Niski	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	98,5% (65/66)
	Średni	od 2,0E+03 do < 8,0E+03	91,3% (21/23)
	Wysoki	od 8,0E+03 do 9,1E+06	100,0% (18/18)
	Ogółem	-	97,2% (104/107)
Spreparowane	Niski	od 1,37E+02 do < 2,0E+03	100,0% (23/23)
	Średni	od 2,0E+03 do < 8,0E+03	100,0% (10/10)
	Wysoki	od 8,0E+03 do 9,1E+06	98,4% (63/64)
	Ogółem	-	99,0% (96/97)

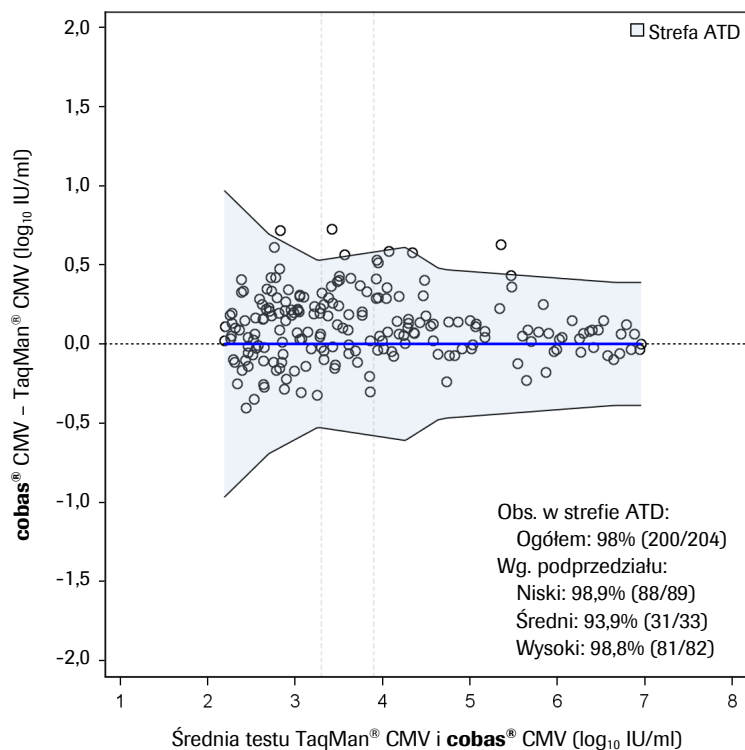
Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji. Tabela obejmuje wyłącznie pary próbek z wynikami, z których każdy mieścił się w zakresie od 1,37E+02 IU/ml do 9,1E+06 IU/ml, wspólnym zakresie liniowości obu oznaczeń. Sparowane wyniki zostały przydzielone do przedziałów na podstawie wyniku testu TaqMan® CMV (IU/ml).

ATD = dopuszczalna różnica całkowita.

^a Równoważne istotne medycznie przedziały (IU/ml) dla od 1,37E+02 do < 2,0E+03, od 2,0E+03 do < 8,0E+03 i od 8,0E+03 do 9,1E+06 w log₁₀ IU/ml to, odpowiednio, od 2,137 do < 3,301, od 3,301 do < 3,903 oraz od 3,903 do 6,959.

Rys. 14 poniżej przedstawia wykres dopuszczalnej całkowitej różnicy wyników miana wirusa (\log_{10} IU/ml) testów cobas® CMV i TaqMan® CMV połączonych próbek klinicznych i spreparowanych.

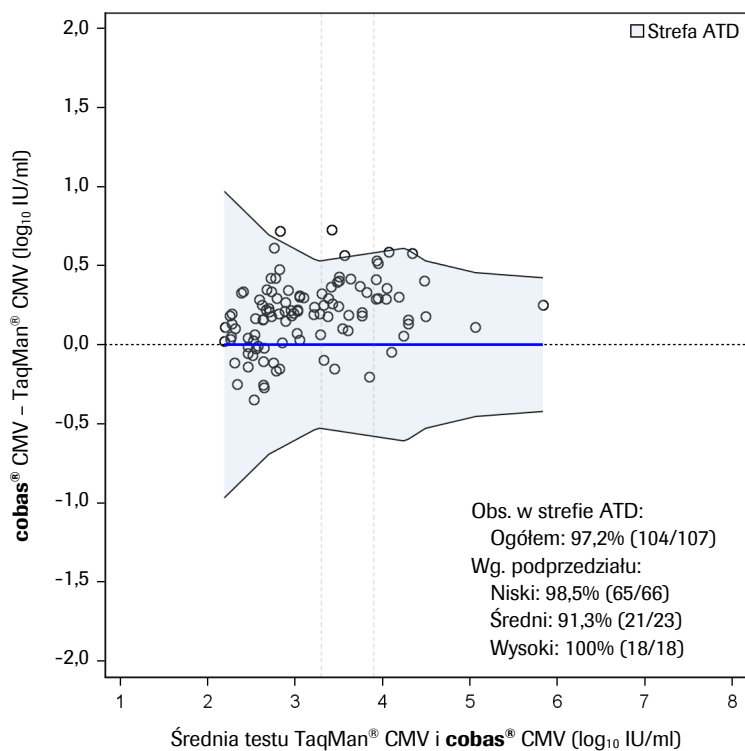
Rys. 14 Wykres dopuszczalnej całkowitej różnicy (ATD) dla różnicy miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji HSCT (próbki kliniczne i spreparowane)



Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji.
 ATD = dopuszczalna różnica całkowita; Obs. = obserwowane sparowane wyniki

Rys. 15 poniżej przedstawia wykres dopuszczalnej całkowitej różnicy wyników miana wirusa (\log_{10} IU/ml) testów cobas® CMV i TaqMan® CMV próbek klinicznych.

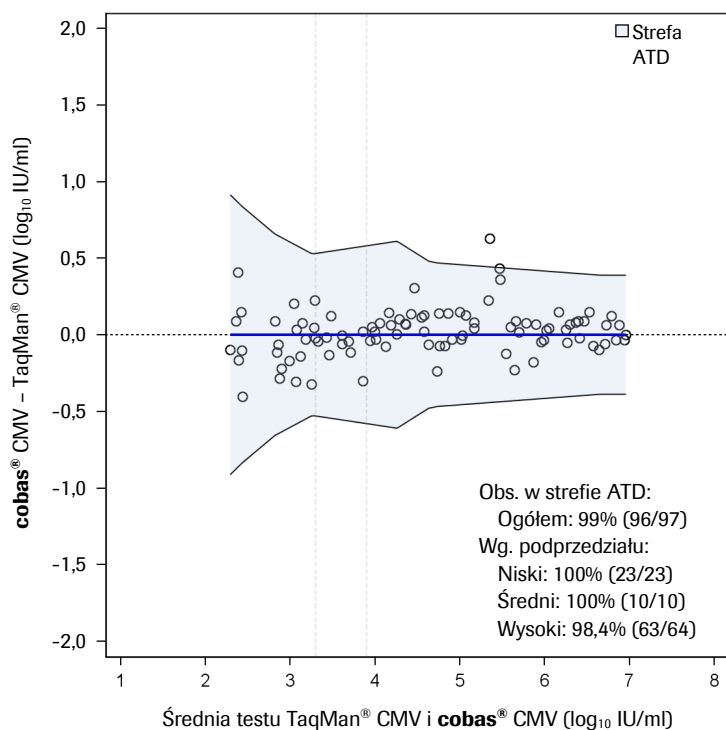
Rys. 15 Wykres dopuszczalnej całkowitej różnicy dla różnicy miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji HSCT (próbki kliniczne)



Uwaga: z analizy porównawczej metod wyłączono siedem próbek pochodzących od trzech pacjentów, z powodu wpływających rozbieżności sekwencji.
 ATD = dopuszczalna różnica całkowita; Obs. = obserwowane sparowane wyniki

Rys. 16 poniżej przedstawia wykres dopuszczalnej całkowitej różnicy wyników miana wirusa (\log_{10} IU/ml) testów cobas® CMV i TaqMan® CMV próbek spreparowanych.

Rys. 16 Wykres dopuszczalnej całkowitej różnicy dla różnicy miana wirusa (\log_{10} IU/ml) w populacji HSCT (próbki spreparowane)



ATD = dopuszczalna różnica całkowita; Obs. = obserwowane sparowane wyniki

Zgodność z próbkami ujemnymi

Za pomocą każdego oznaczenia przetestowano trzydzieści pochodzących od pacjentów HSCT próbek ujemnych dla IgG CMV, a wyniki przedstawia Tabela 51 poniżej.

Tabela 51 Wyniki próbek ujemnych dla IgG CMV testowanych testem cobas® CMV i TaqMan® CMV

cobas® CMV	TaqMan® CMV			Ogółem
	Target Not Detected	< 1,37E+02 IU/ml	≥ 1,37E+02 IU/ml	
Target Not Detected	30	0	0	30
< 1,37E+02 IU/ml	0	0	0	0
≥ 1,37E+02 IU/ml	0	0	0	0
Ogółem	30	0	0	30

Uwaga: dolna granica oznaczalności dla testu cobas® CMV wynosi 34,5 IU/ml, a dla testu TaqMan® CMV 1,37E+02 IU/ml.

IgG = immunoglobulina G.

Wnioski

Test cobas® CMV oznacza ilościowo poziom DNA CMV w osoczu krwi pobranej na EDTA z dobrą zgodnością z wynikami zatwierdzonego przez FDA testu TaqMan® CMV. Wyniki tych badań wykazały zgodność kliniczną testu cobas® CMV z testem TaqMan® CMV przy stosowaniu we wskazaniu do monitorowania leczenia u pacjentów po przeszczepach narządów miękkich oraz przeszczepach hematopoetycznych komórek macierzystych.

Dodatkowe informacje





















































Najważniejsze cechy testu

Rodzaj próbki	Osocze krwi pobranej na EDTA
Wymagana ilość próbki	500 µl
Objętość przetwarzania	350 µl
Czułość analityczna	34,5 IU/ml
Zakres liniowości	34,5 IU/ml – 1E+07 IU/ml
Swoistość	100%
Wykrywane genotypy	Genotypy 1–4 glikoproteiny B CMV
Wykryte próbki lekoopornego CMV	Próbki CMV opornego na gancyklowir, walgancyklowir, cidofowir i foskarnet

Oznaczenia

Na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR stosuje się następujące oznaczenia.

Tabela 52 Oznaczenia stosowane na etykietach produktów diagnostycznych Roche PCR

 Age/DOB Wiek lub data urodzenia	 Wyrób nieprzeznaczony do testów przy pacjencie	 QS IU/PCR IU QS na reakcję PCR, użyć jednostek międzynarodowych (IU) QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.
 Oprogramowanie pomocnicze	 Wyrób nieprzeznaczony do samodzielnego testowania	 SN Numer seryjny
 Assigned Range [copies/ml] Przypisany zakres (kopie/ml)	 Dystrybutor <i>(Uwaga: pod symbolem może być wskazany właściwy kraj/region.)</i>	 Site Ośrodek
 Assigned Range [IU/ml] Przypisany zakres (IU/ml)	 Nie używać повторно	 Procedure Standard Procedura standardowa
 EC REP Autoryzowany Przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej	 Kobieta	 STERILE EO Produkt sterylizowany tlenkiem etylenu
 BARCODE Arkusz kodów kreskowych	 Wyłącznie do oceny działania w badaniach IVD	 Przechowywać z dala od światła
 LOT Kod partii	 GTIN Numer globalny jednostki handlowej	 Przestrzegać zakresu temperatury
 Zagrożenie biologiczne	 Importer	 TDF Plik definicji testów
 REF Numer katalogowy	 IVD Wyrób do diagnostyki <i>in vitro</i>	 Tą stroną do góry
 Oznaczenie zgodności CE — wyrób ten jest zgodny z obowiązującymi wymogami dotyczącymi oznaczenia CE dla wyrobu medycznego do diagnostyki <i>in vitro</i>	 LLR Dolna granica przypisanego zakresu	 Procedure UltraSensitive Procedura ultraczula
 Collect Date Data pobrania	 Męczyzna	 UDI Niepowtarzalny kod identyfikacyjny wyrobu
 Sprawdź w instrukcji użytkowania	 Wytwórca	 ULR Górna granica przypisanego zakresu
 Zawartość wystarczająca na <n> testów	 CONTROL - Kontrola ujemna	 Urine Fill Line Linia napełniania moczem
 CONTENT Zawartość zestawu	 Wyrób niejadalny	 Rx Only Tylko Stany Zjednoczone: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie lekarzowi lub na zamówienie takiego lekarza.
 CONTROL Próba kontrolna	 Nazwisko pacjenta	 Termin przydatności
 Data produkcji	 Numer pacjenta	
 Wyrób do testów przy pacjencie	 Rozerwać tutaj	
 Wyrób do samodzielnego testowania	 CONTROL + Kontrola dodatnia	
	 QS copies / PCR Kopie QS na reakcję PCR, użyć kopii QS na reakcję PCR w obliczeniach wyników.	

Pomoc techniczna

W celu uzyskania wsparcia (pomocy) technicznego należy skontaktować się z lokalnym przedstawicielem:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Wytwórca

Tabela 53 Wytwórca



Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Wyprodukowano w Stanach Zjednoczonych

Znaki towarowe i patenty

Patrz <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Prawo autorskie

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Piśmiennictwo

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattson JR, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. 4th ed. London; John Wiley and Sons, 2000: pp. 79-116.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2675-2706.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus. Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin Heidelberg; Springer-Verlag: 2008, pp. 297-313.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis.* 1983;5:205-215.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser.* 1989;44:507-534.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5:204-210.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2629-2674.
8. Asberg A, Humar A, Rollag H, et al.; A VICTOR Study Group. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2007;7:2106-2113.
9. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. *J Infect Dis.* 2002;186:829-833.
10. 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;68:1305-1311.
11. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010;89(7):779-95.
12. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.; Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation.* 2013;96:333-360.
13. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, Rolles K, Griffiths PD, Emery VC. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. *J Infect Dis.* 1997;176:1484-1490.
14. Razonable RR, Emery VC; 11th Annual Meeting of the IHMF (International Herpes Management Forum). Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27–29 February 2004. *Herpes.* 2004;11:77-86.
15. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol.* 2008;41:237-241.
16. Salmon-Céron D, Mazon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS.* 2000;14:1041-1049.

17. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, Grywacz M, Knight S, Griffiths PD. Quantitative effects of valacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis.* 1999;180:695-701.
18. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS.* 1997;11:889-893.
19. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS.* 2002;16:877-887.
20. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al.; American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice; Canadian Society of Transplantation. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transpl.* 2009;9:258-268.
21. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clinical and Applied Immunology Reviews.* 2002;2:155-167.
22. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant.* 2005;5:218-227.
23. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
24. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493.
25. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878.
26. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
27. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
28. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Wersja dokumentu

Informacje dotyczące wersji dokumentu	
Doc. Rev. 5.0 01/2023	<p>Dodano dane badań klinicznych w USA</p> <p>Zaktualizowano sekcję Znaki towarowe i patenty oraz link.</p> <p>Dodano część Pomoc techniczna.</p> <p>Zaktualizowano stronę z ujednoliconymi symbolami.</p> <p>Zaktualizowano do aktualnych podmiotów gospodarczych.</p> <p>W razie jakichkolwiek pytań prosimy o kontakt z lokalnym przedstawicielem firmy Roche.</p>