

cobas[®] CMV

**Kvantitativní test nukleových kyselin
pro použití se systémem cobas[®] 4800**

Pro diagnostické použití in vitro

cobas[®] CMV	120 Tests	P/N: 07865970190
cobas[®] CMV Control Kit	10 Sets	P/N: 07865988190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

OBSAH

Účel použití

Souhrn a výklad testu

Základní informace.....	4
Důvod pro testování nukleových kyselin CMV.....	5
Princip testu	5
Principy postupu.....	5

Materiály a činidla

Činidla	7
Požadavky na uchovávání činidel a manipulaci s nimi	12
Další potřebný materiál	12
Potřebné vybavení a software, které není součástí dodávky	13
Použitelné zkušební vzorky.....	13

Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci

Varování a bezpečnostní opatření	14
Správná laboratorní praxe	15
Manipulace s činidly	15
Kontaminace	15
Integrita	16
Likvidace	16
Rozlití a čištění.....	16

Odběr, přeprava a uchovávání vzorků

Odběr vzorků.....	17
Přeprava, uchovávání a stabilita vzorků	17

Návod k použití

Spuštění testu	18
Velikost cyklu	18
Pracovní postup	19

Výsledky

Kontrola kvality a platnost výsledků	21
Interpretace výsledků kontrol	21
Vyhodnocení výsledků	22
Seznam značek.....	23
Procedurální omezení.....	24

Hodnocení neklinických funkčních parametrů

Klíčové funkční charakteristiky.....	25
Mez detekce (Limit of Detection, LoD).....	25
Mezinárodní standard WHO	25
Lineární rozmezí	25
Přesnost – v rámci jedné laboratoře	27
Verifikace genotypů.....	27
Verifikace meze detekce u genotypů gB-2, gB-3 a gB-4 pro glykoprotein B.....	27
Verifikace lineárního rozmezí u genotypů gB-2, gB-3 a gB-4 pro glykoprotein B	28
Verifikace vzorků CMV rezistentních vůči léčivům	28
Verifikace meze detekce u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči foskarnetu nebo gancikloviru, valgancikloviru a cidofoviru)	28
Verifikace lineárního rozmezí u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči foskarnetu nebo gancikloviru, valgancikloviru a cidofoviru)	28
Analytická specifita	29
Analytická specifita – interferenční látky	29
Selhání celého systému	30
Zkřížená kontaminace.....	30

Hodnocení klinické výkonnosti

Korelace metody	31
Specifita	31

Doplňující informace

Hlavní parametry testu	32
Symboly	33
Technická podpora.....	34
Výrobce a dovozce.....	34
Ochranné známky a patenty	34
Autorská práva	34
Literatura	35
Revize dokumentu	37

Účel použití

Test **cobas**® CMV je *in vitro* amplifikační test nukleové kyseliny pro kvantitativní měření DNA cytomegaloviru (CMV) v lidské EDTA plazmě. Test **cobas**® CMV je určen k použití jako pomůcka k diagnóze a léčbě CMV u pacientů s transplantací orgánů a u pacientů s transplantací hematopoetických kmenových buněk. U těchto populací lze tímto testem stanovit, zda potřeba zahájit antivirovou léčbu. U pacientů na anti-CMV terapii lze sériová měření DNA použít ke stanovení virové odpovědi na léčbu. Výsledky testu **cobas**® CMV je třeba interpretovat v kontextu všech relevantních klinických a laboratorních nálezů.

Souhrn a výklad testu

Základní informace

Lidský cytomegalovirus (CMV) je lidský virový patogen náležící do rodiny herpetických virů, který je obecně rozšířený v komunitách po celém světě.^{1, 2} U imunokompetentních hostitelů jsou infekce CMV obvykle asymptomatické, ale primární infekce může probíhat jako akutní syndrom podobný mononukleóze. Po infekci CMV většinou přetrvává celý život v latentní formě, která se může přechodně reaktivovat. Má se za to, že hlavními místy infekce CMV jsou periferní mononukleární krevní buňky myeloidního původu (nikoli však lymfocyty) a endoteliální buňky.³ V latentní fázi u lidí zůstává CMV v monocytach/makrofázích.² Latentně nakažení jednotlivci mohou virus asymptomaticky vydávat s tělesnými tekutinami (např. močí, slinami), a tak nakazit ostatní. Imunokompromitovaní jedinci, včetně novorozenců, pacientů po transplantaci a pacientů s AIDS, mají vyšší riziko vývoje vážných primárních infekcí CMV nebo reaktivací latentních infekcí CMV, které vedou k vysoké nemocnosti a úmrtnosti.⁴ Vážné klinické projevy onemocnění CMV zahrnují retinitidu, polyradikulopatii, gastroenteritidu, hepatitidu, encefalitidu, esofagitidu, enterokolitidu, pankreatitidu, nefritidu, odmítnutí orgánu dárce, pneumonii a virový syndrom CMV.^{2, 5, 6}

Současná představa o klinicky relevantních prahových hodnotách pro vývoj onemocnění CMV pochází z řady studií, které používaly různé technologie, populace studie a cílové parametry.^{7–14} Obecně vyšší virové nálože souvisejí těsněji s rizikem vývoje onemocnění CMV. Vztah virémie a onemocnění je sigmoidní, takže riziko onemocnění CMV významně vzroste poté, co virová nálož CMV dosáhne „kritické prahové hodnoty“. Například při použití laboratorně vyvinutého testu na CMV DNA v celé krvi příjemců transplantátu jater byla kritická prahová hodnota $\geq 5 \log_{10}$ kopií CMV DNA/ml.¹² U pacientů s HIV/AIDS existuje korelace hladiny CMV DNA s rizikem onemocnění CMV a celkovou úmrtností.^{13–18}

Současné laboratorně vyvinuté metody kvantifikace CMV DNA jsou omezeny nedostatkem standardizovaných výsledků, což může vést k vysoké variabilitě mezi jednotlivými laboratořemi a testy.¹⁷ Validace reprodukovatelnosti virové nálože CMV DNA je kriticky důležité k zajištění konzistence výsledků při péči o pacienty s onemocněním CMV. Současné pokyny založené na přesnosti testů PCR naznačují, že teprve nejméně 3násobné ($0,5 \log_{10}$ kopií/ml) změny v sériovém měření virové nálože představují biologicky důležité změny. Protože variabilita je největší při nízkých koncentracích, hodnoty změn virové nálože poblíž dolního limitu kvantifikace testu by měly být více než 5-ti násobné ($0,7 \log_{10}$ kopií/ml), aby je bylo možno považovat za významné.^{9, 19}

Ačkoli přesná prahová hodnota je stále předmětem diskusí kvůli variabilitě mezi jednotlivými testy, zdá se, že koncept kritické prahové hodnoty je platný a byl zaznamenán ve studiích přirozené anamnézy, které ukazují, že vyšší hodnoty virové nálože korelují se zvýšeným rizikem onemocnění CMV.^{7–12} Jedna studie používající test COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR Test (CACM Test, status v USA pouze pro použití ve výzkumu, schválen CE-IVD) zavedla hraniční hodnotu pro předpověď onemocnění mezi 2000 a 5000 kopií/ml u příjemců transplantovaných jater séropozitivních na CMV.⁸

Důvod pro testování nukleových kyselin CMV

Laboratorní metody diagnózy rozptýlené infekce a aktivní viscerální choroby u lidského CMV zahrnují izolaci viru kultivací z periferních krevních leukocytů (PBL), histologii biopsií, sérologická vyšetření, měření hodnot antigenu pp65 v krvi a detekci CMV DNA pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR).¹⁸ Sérologie má význam pouze pro zjištění, zda byl pacient dříve infikován CMV a podléhá riziku reaktivace. Metody založené kultivací mají nízkou prediktivní hodnotu, doba jejich provedení přesahuje 48 hodin a mají omezené použití zvláště u imunokompromitovaných pacientů. Test antigenu pp65 v krvi je pracný a kvůli snižování hladiny antigenu v krvi při skladování vyžaduje zpracování krve do 6 hodin od odběru.²⁰ Test pp65 lze také obtížně provádět u pacientů s neutropenií. Přímá detekce CMV DNA, např. metodami PCR v reálném čase, potenciálně nabízí široký dynamický rozsah, přesnost a vysokou citlivost.

Princip testu

Test **cobas®** CMV slouží ke kvantitativnímu stanovení pomocí systému **cobas®** 4800. Test **cobas®** CMV umožňuje detekci a kvantifikaci CMV DNA, který se shoduje s 1. mezinárodním standardem WHO pro lidský CMV v EDTA plazmě infikovaných pacientů. Virová nálož je kvantifikována pomocí kvantifikačního standardu DNA (DNA QS) jiného původu, než je CMV, který je do každého vzorku přidán během přípravy. Standard DNA QS slouží také k monitorování celého procesu přípravy vzorku a PCR amplifikace. Test navíc využívá tři externí kontroly: pozitivní kontrolu s vysokým titrem, pozitivní kontrolu s nízkým titrem a negativní kontrolu. Vysoce a nížce pozitivní externí kontroly jsou vyrobeny ředěním ze zásobního materiálu s titrem zjistitelným podle mezinárodního standardu WHO pro CMV. Každá šarže soupravy pro amplifikaci/detekci je kalibrována s návazností na mezinárodní standard WHO pro CMV.

Principy postupu

Test **cobas®** CMV se zakládá na plně automatizované přípravě vzorků (extrakce a purifikace nukleové kyseliny) s následnou PCR amplifikací a detekcí. Systém **cobas®** 4800 sestává z přístroje **cobas x 480** a analyzátoru **cobas z 480**. Software systému **cobas®** 4800 provádí automatické zpracování dat, při kterém přiřazuje kategorii „Target not detected“ (cílová sekvence nedetekována) výsledkům $< \text{LLOQ}$, „below lower limit of quantitation“ (pod dolní mezí kvantifikace) nebo $> \text{ULoQ}$, „above upper limit of quantitation“ (nad horní mezí kvantifikace); anebo kategorii „CMV DNA detected“ (detekována DNA viru CMV) s hodnotou v lineárním rozmezí $\text{LLOQ} \leq x \leq \text{ULoQ}$. Výsledky lze prohlížet přímo na obrazovce systému, exportovat nebo vytisknout jako zprávu.

Extrakce nukleových kyselin ze vzorků pacientů, externích kontrol a přidáných molekul DNA QS lambda probíhá současně. Souhrnem, dochází k uvolnění virových nukleových kyselin přidáním proteinázy a lyzační reagentie ke vzorku. Uvolněné nukleové kyseliny se váží na křemičitanový povrch přidáných magnetických částic. Nenavázané látky a nečistoty, jako například denaturované proteiny, buněčný odpad a případné inhibitory PCR jsou odstraněny během následujících kroků promývacím pufrům; purifikované nukleové kyseliny jsou eluovány z magnetických skleněných částic elučním pufrům při zvýšené teplotě.

K selektivní amplifikaci cílové nukleové kyseliny ze vzorku dochází pomocí dopředných a zpětných primerů specifických pro cílové virové sekvence vybrané z vysoce chráněných oblastí genu pro DNA polymerázu CMV (UL54). K selektivní amplifikaci standardu DNA QS dochází pomocí sekvenčně specifických dopředných a zpětných primerů vybraných tak, že nejsou homologické s genomem CMV. Tepelně stabilní enzym DNA polymeráza se používá pro amplifikaci. Cílové sekvence a sekvence DNA QS jsou amplifikovány současně pomocí univerzálního PCR amplifikačního profilu s předem definovanými teplotami kroků a počtem cyklů. Reagentie master mix obsahuje deoxyuridin trifosfát (dUTP), namísto deoxythimidin trifosfátu (dTTP), který je zabudováván do nově syntetizované DNA (amplikon). Jakýkoli kontaminující amplikon z předcházejících cyklů PCR je zničen enzymem AmpErase, který je přítomen ve směsi PCR, při zahřátí během prvního kroku

tepelného cyklování.^{21–23} Nově vytvořené amplikony však eliminovány nejsou, protože enzym AmpErase je po vystavení teplotám nad 55 °C inaktivován.

Činidlo Master Mix pro test **cobas®** CMV obsahuje jednu detekční sondu specifickou pro cílové sekvence CMV a jednu detekční sondu pro standard DNA QS. Sondy jsou označeny cílově specifickými fluorescenčními oznamovacími barvivy, která umožňují současnou detekci cílových sekvencí CMV a standardu DNA QS pomocí dvou různých detekčních kanálů.^{24, 25} Fluorescenční signály intaktních sond, které nejsou navázány na cílové sekvence, jsou potlačeny tlumícím barvivem. Během kroku PCR amplifikace dochází kvůli hybridizaci sond se specifickým templátem jednořetězcové DNA k štěpení sondy 5'–3' nukleázovou aktivitou DNA polymerázy, která způsobí oddělení oznamovacího a tlumícího barviva a vznik fluorescenčního signálu. Každý cyklus PCR vytváří větší množství rozštěpených sond a kumulativní signál oznamovacího barviva se současně zvyšuje. Detekce a rozlišení PCR produktů v reálném čase se provádí měřením fluorescence uvolněných oznamovacích barviv pro virové cíle a standard DNA QS.

Materiály a činidla

Činidla

Veškerá neotevřená činidla a kontroly budou uchovávány podle doporučení v tabulce Požadavky na uchovávání činidel a manipulaci s nimi.

Souprava	Součásti a složky činidel	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování
cobas® CMV 120 testů (P/N: 07865970190)	MMX R1 (Činidlo Master Mix 1 pro systém cobas®) Octan hořečnatý, hydroxid draselný, < 0,1 % azid sodný	10 × 1,75 ml	N/A
	CMV MMX R2 (Činidlo CMV Master Mix 2 pro systém cobas®) Tricinový pufr, octan draselný, 18 % dimethylsulfoxid, glycerol, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % dopředné a zpětné CMV primery, < 0,01 % dopředné a zpětné primery kvantifikačního standardu, < 0,01 % fluorescenčně značené oligonukleotidové sondy specifické pro virus CMV a kvantifikační standard, < 0,01 % oligonukleotidový aptamer, < 0,01 % Z05D DNA polymeráza (mikrobiální), < 0,01 % enzym AmpErase (uracil-N-glykosyláza) (mikrobiální), < 0,1 % azid sodný	10 × 0,5 ml	N/A
	DNA QS (Kvantifikační standard DNA pro systém cobas®) Tris pufr, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % non- CMV DNA konstrukt obsahující non-CMV oblast pro navázání primeru a jedinečné sondy (neinfekční DNA), 0,002 % Poly rA RNA (syntetická), < 0,1 % azid sodný	10 × 1,75 ml	N/A

Souprava	Součásti a složky činidel	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování ^a
cobas® CMV Control Kit 10 souprav (P/N: 07865988190)	CMV L(+)C (Nízce pozitivní kontrola CMV cobas®) < 0,001 % syntetická (plazmidová) DNA viru CMV enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu lambda, normální lidská plazma nereagující na protilátky proti HCV, HIV-1/2, HBsAg, protilátku proti HBc podle licenčních testů; RNA HIV-1, RNA HIV-2, RNA HCV, DNA HBV, RNA HEV, RNA WNV a DNA CMV nedetekovatelné PCR metodami. 0,1 % konzervantu ProClin® 300	10 × 0,75 ml	  VAROVÁNÍ H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. P261: Zamezte vdechování prachu/ dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P272: Kontaminovaný pracovní oděv neodnášejte z pracoviště. P280: Používejte ochranné rukavice. P333 + P313: Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ ošetření. P362 + P364: Kontaminovaný oděv svlékněte a před opětovným použitím vyperte. P501: Odstraňte obsah/obal předáním zařízení schválenému pro likvidaci odpadů.
	CMV H(+)C (Vysoce pozitivní kontrola CMV cobas®) < 0,001 % syntetická (plazmidová) DNA viru CMV s vysokým titrem enkapsulovaná v obalovém proteinu bakteriofágu lambda, normální lidská plazma nereagující na protilátky proti HCV, HIV-1/2, HBsAg, protilátku proti HBc podle licenčních testů; RNA HIV-1, RNA HIV-2, RNA HCV, DNA HBV, RNA HEV, RNA WNV a DNA CMV nedetekovatelné PCR metodami. 0,1 % konzervantu ProClin® 300	10 × 0,75 ml	
	(–)C2 (Negativní kontrola 2 pro systém cobas®) Normální lidská plazma nereagující na protilátky proti HCV, HIV-1/2, HBsAg, protilátku proti HBc podle licenčních testů; RNA HIV-1, RNA HIV-2, RNA HCV, DNA HBV, RNA HEV, RNA WNV a DNA CMV nedetekovatelné PCR metodami. < 0,1 % konzervantu ProClin® 300	10 × 0,75 ml	

^a Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

Souprava	Součásti a složky činidel	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování
Souprava 2 pro přípravu vzorků pro systém cobas® 4800 240 testů (P/N: 06979513190)	MGP 2 (MGP činidlo 2 pro systém cobas® 4800) Magnetické skleněné částice, Tris pufr, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (Eluční pufr 2 pro systém cobas® 4800) Tris pufr, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoát	10 × 17 ml	
Souprava 2 pro přípravu vzorků pro systém cobas® 4800 960 testů (P/N: 06979521190)	MGP 2 (MGP činidlo 2 pro systém cobas® 4800) Magnetické skleněné částice, Tris pufr, 0,1 % methyl-4-hydroxybenzoát, < 0,1 % azid sodný	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (Eluční pufr 2 pro systém cobas® 4800) Tris pufr, 0,2 % methyl-4-hydroxybenzoát	10 × 17 ml	
Souprava promývacího pufru pro systém cobas® 4800 240 testů (P/N: 05235863190)	WB Dihydrát citrátu sodného, 0,05 % N-methylizothiazolon HCl	10 × 55 ml	N/A
Souprava promývacího pufru pro systém cobas® 4800 960 testů (P/N: 05235871190)	WB Dihydrát citrátu sodného, 0,05 % N-methylizothiazolon HCl	10 × 200 ml	N/A

Souprava	Součásti a složky činidel	Množství v soupravě	Bezpečnostní symboly a varování ^a
Lytická souprava 2 pro systém cobas ® 4800 240 testů (P/N: 06979530190)	P 2 (Proteáza 2 pro systém cobas ® 4800) Tris pufr, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % (w/v) proteináza	10 × 1,0 ml	 NEBEZPEČÍ H302+H332: Zdraví škodlivý při požití a při vdechování. H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. H318: Způsobuje vážné poškození očí. H334: Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže. H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.
	LYS 2 (Lytický pufr 2 pro systém cobas ® 4800) 43 % (w/w) guanidinthiokyanát, 5 % (w/v) polydokanol, 2 % (w/v) dithiothreitol, dihydrát citrátu sodného	10 × 27 ml	EUH032: Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami. P261: Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranné brýle/obličejový štít. P284: Používejte vybavení pro ochranu dýchacích cest. P304 + P340 + P312: PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P305 + P351 + P338 + P310: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P342 + P311: Při dýchacích potížích: Volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře.

^a Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

Souprava	Součásti a složky činidel	Množství na test	Bezpečnostní symboly a varování ^a
Lytická souprava 2 pro systém cobas ® 4800 960 testů (P/N: 06979548190)	P 2 (Proteáza 2 pro systém cobas ® 4800) Tris pufr, < 0,05 % EDTA, chlorid vápenatý, octan vápenatý, 8 % (w/v) proteináza	10 × 1,0 ml	 NEBEZPEČÍ H302+H332: Zdraví škodlivý při požití a při vdechování. H317: Může vyvolat alergickou kožní reakci. H318: Způsobuje vážné poškození očí. H334: Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže. H412: Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. EUH032: Uvolňuje vysoce toxický plyn při styku s kyselinami. P261: Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. P280: Používejte ochranné rukavice/ochranné brýle/obličejový štít. P284: Používejte vybavení pro ochranu dýchacích cest. P304 + P340 + P312: PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. Necítíte-li se dobře, volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P305 + P351 + P338 + P310: PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře. P342 + P311: Při dýchacích potížích: Volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO/lékaře.
	LYS 2 (Lytický pufr 2 pro systém cobas ® 4800) 43 % (w/w) guanidinthiokyanát, 5 % (w/v) polydokanol, 2 % (w/v) dithiothreitol, dihydrát citrátu sodného	10 × 84 ml	

^a Bezpečnostní označení produktů vychází primárně z pokynů GHS EU.

Požadavky na uchovávání činidel a manipulaci s nimi

Činidlo	Teplota uchovávání	Doba uchovávání
cobas® CMV	2-8 °C	Stabilní do uvedeného data použitelnosti
cobas® CMV Control Kit*	2-8 °C	Stabilní do uvedeného data použitelnosti
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8 °C	Stabilní do uvedeného data použitelnosti
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25 °C	Stabilní do uvedeného data použitelnosti
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2-8 °C	Stabilní do uvedeného data použitelnosti

* Uchovávejte krabici Control Kit ve vzpřímené poloze

Činidla nezmrazujte.

Další potřebný materiál

Materiál	P/N
Extrakční destička (s hlubokými jamkami) 2,0 ml pro systém cobas® 4800	06884008001
Mikrotitrační destička AD 0,3 ml pro systém cobas® 4800	05232724001
Aplikátor zalepovací fólie	04900383001
Špičky CORE, 1000 µl, stojan s 96 ks	04639642001
Zásobník na činidla 200 ml	05232759001
Zásobník na činidla 50 ml	05232732001
Nosič s 24 pozicemi	04639502001
Nosič s 32 pozicemi	04639529001
Pytel na pevný odpad	05530873001 (malý) nebo 04691989001 (velký)
Plastová skluzavka na odpad Hamilton STAR	04639669001
Rukavice na jedno použití bez pudru	Jakékoliv rukavice na jedno použití bez pudru.
Vortex mixer (pro jednu zkumavku)	Jakýkoliv vířivý mixér.
Centrifuga s kyvnou nádobou rotoru s min. otáčkami 1500	Jakákoliv vhodná centrifuga.

Více informací ohledně samostatně prodávaných materiálů získáte u svého místního zástupce společnosti Roche.

Potřebné vybavení a software, které není součástí dodávky

Potřebné vybavení a software, které není součástí dodávky
Systém cobas® 4800 Přístroj cobas x 480 Analyzátor cobas z 480 Řídicí jednotka
Aplikační software pro systém cobas® 4800 (základní) verze 2.2 nebo vyšší
Systém cobas® 4800 cobas® CMV AP verze 1.2.0 nebo vyšší

Pozn.: Kontaktujte místního zástupce společnosti Roche ohledně podrobných seznamů pro objednávky stojanů na vzorky, stojanů na špičky, stojanů na činidla a nosiče destiček, které se vejdou do přístrojů.

Použitelné zkumavky na vzorky

Pro test jsou vhodné běžně používané primární a sekundární zkumavky na vzorky.

Jsou použitelné následující zkumavky na vzorky:

Primární zkumavky (objem zpracování 400 µl)

Nominální průměr (mm)	Vstupní objem vzorku – zpracovaná (odstředěná) plná krev	Zkumavka na EDTA plazmu
11-14	1800 µl nebo více	S gelem nebo bez
14,5-16	Více než 4000 µl	S gelem nebo bez

Kontaktujte místního zástupce společnosti Roche ohledně informací pro objednávání konkrétních zkumavek na vzorky a minimálních vstupních objemech vzorku pro konkrétní primární zkumavky.

Sekundární zkumavky (objem zpracování 400 µl)

Nominální průměr (mm)	Vstupní objem vzorku
11-16	1000 µl nebo více (některé sekundární zkumavky mají minimální vstupní objem menší než 1000 µl)

Kontaktujte místního zástupce společnosti Roche ohledně informací pro objednávání konkrétních zkumavek na vzorky a minimálních vstupních objemech vzorku pro konkrétní sekundární zkumavky.

Bezpečnostní opatření a požadavky na manipulaci

Varování a bezpečnostní opatření

Jak je tomu při každém testovacím postupu, je pro správné fungování tohoto testu zásadním požadavkem dodržovat principy správné laboratorní praxe. Vzhledem k vysoké analytické citlivosti testu je třeba dbát opatrnosti, aby mezi činidly, vzorky a amplifikačními směsmi nedošlo ke kontaminaci.

- Pouze pro účely diagnostiky *in vitro*.
- Systém **cobas®** CMV nebyl vyhodnocen k použití jako skrínigový test pro přítomnost CMV v krvi nebo krevních produktech.
- Se všemi vzorky pacientů je nutno zacházet, jako by byly infekční, za použití správných laboratorních postupů, tak jak jsou popsány v publikaci Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories a v dokumentu CLSI číslo M29-A4.^{26, 27} Tento postup smí provádět pouze personál zkušený v zacházení s infekčními vzorky, testem **cobas®** CMV a systémem **cobas®** 4800.
- Veškeré materiály pocházející z lidských zdrojů by měly být považovány za potenciálně infekční a musí se s nimi zacházet dle všeobecných bezpečnostních opatření. Kontrolní souprava **cobas®** CMV obsahuje plazmu z lidské krve. Zdrojový materiál byl analyzován pomocí licenčních testů na protilátky a byl shledán nereaktivním vůči protilátce proti HCV, protilátce proti HIV-1/2, HBsAg a protilátce proti HBc. Testování normální lidské plazmy metodami PCR také neprokázalo žádnou detekovatelnou RNA HIV-1 (skupin M a O), RNA HIV-2, RNA HCV, DNA HBV, RNA HEV, RNA WNV ani DNA CMV. Nicméně žádná známá testovací metoda nepředstavuje dokonalou záruku, že se s deriváty z lidské krve nepřenesou nějaká infekční agens.
- Zamezte expozici MGP vůči zdrojům magnetického pole.
- **Nezmrazujte plnou krev ani žádné vzorky v primárních zkumavkách.**
- Pro zajištění optimální účinnosti testu používejte pouze spotřební materiál, který je součástí dodávky, nebo specifikovaný požadovaný materiál.
- Bezpečnostní listy (SDS) zašle na vyžádání Váš místní zástupce společnosti Roche.
- Pečlivě dodržujte uvedené postupy a předpisy, aby se zajistilo správné provedení testů. Jakákoliv odchylka od postupů a předpisů může negativně ovlivnit optimální účinnost testu.
- Uchovávejte krabici s kontrolní soupravou **cobas®** CMV ve vzpřímené poloze.
- Pokud nebude během manipulace a zpracování vzorků patřičně kontrolována kontaminace přenosem, mohou vzniknout falešně pozitivní výsledky.
- Další varování, upozornění a postupy pro snížení nebezpečí kontaminace zařízení **cobas x** 480 nebo analyzátoru **cobas z** 480 najdete v Asistentu uživatele systému **cobas®** 4800 (dříve znám jako uživatelská příručka). Pokud existuje podezření na kontaminaci, proveďte čištění a týdenní údržbu dle popisu v Asistentu uživatele systému **cobas®** 4800.
- Pokud dojde k jakýmkoli závažným incidentům během použití tohoto testu, informujte o tom místní odpovědný orgán.

Pozn.: Konkrétní pokyny viz „Odběr, přeprava a uchovávání vzorků“.

Správná laboratorní praxe

- Nepipetujte ústy.
- V pracovních laboratorních prostorách nejezte, nepijte a nekuřte.
- Po manipulaci se vzorky a činidly soupravy si důkladně umyjte ruce, jakož i po svléknutí rukavic.
- Při práci s jakýmkoliv činidly používejte rukavice na jedno použití, pracovní oděv a ochranné brýle. Dbejte na to, aby se tyto materiály nedostaly do styku s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud ke styku dojde, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody. Pokud by byla tato opatření zanedbána, může dojít k popáleninám. Pokud dojde k rozlití, zředte je před vytřením dosucha vodou.
- Všechny pracovní plochy důkladně očistěte a vydezinfikujte čerstvě připraveným 0,5% roztokem chlornanu sodného v destilované nebo deionizované vodě (zředěný bělicí prostředek pro domácnosti 1:10). Dále povrch otřete 70% etanolem.
- V laboratoři udržujte stálou teplotu, která splňuje specifikace systému ohledně pracovního prostředí, uvedené v uživatelské nápovědě systému **cobas® 4800**.

Manipulace s činidly

- Aby nedošlo u vzorků nebo kontrol ke kontaminaci přenosem, zacházejte se všemi činidly, kontrolami a vzorky podle zásad správné laboratorní praxe.
- Před použitím vizuálně zkontrolujte každou láhev a lahvičku s činidly, zda nejeví žádné známky netěsnosti. Pokud známky netěsnosti vykazuje, nepoužívejte tento materiál k testování.
- Lytický pufr 2 pro systém **cobas® 4800** obsahuje potenciálně nebezpečnou látku guanidinthiokyanát. Vyhněte se kontaktu činidel s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám.
- Souprava 2 pro přípravu vzorků pro test **cobas® CMV** na systému **cobas® 4800** obsahuje konzervační prostředek azid sodný. Vyhněte se kontaktu činidel s pokožkou, očima nebo sliznicemi. Pokud dojde ke kontaktu, okamžitě postiženou oblast omyjte velkým množstvím vody, jinak může dojít k popáleninám. Pokud se činidlo rozlije, zředte ho před vytřením dosucha vodou.
- Lytický pufr 2 pro systém **cobas® 4800**, jenž obsahuje guanidinthiokyanát, se nesmí dostat do styku s roztokem chlornanu sodného (bělicím prostředkem). Tato směs vytváří vysoce toxický plyn.

Kontaminace

- Je nutné nosit rukavice. Aby nedošlo ke kontaminaci, musí se rukavice vyměňovat mezi manipulací se vzorky a manipulací s činidly **cobas® CMV**. Zabraňte kontaminaci rukavic při manipulaci se vzorky a kontrolami. Při práci se vzorky a soupravami činidel používejte laboratorní rukavice, laboratorní pláště a ochranné brýle.
- Zamezte mikrobiální a ribonukleázové kontaminaci činidel.
- Pokud se během zacházení se vzorkem nezabrání kontaminaci vzorků, mohou být získány falešně pozitivní výsledky.

Integrita

- Nepoužívejte soupravy po uplynutí data použitelnosti.
- Činidla nemíchejte.
- Položky k jednorázovému použití nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.
- Všechny položky k jednorázovému použití použijte jen jednou. Pufr znovu nepoužívejte.
- Veškeré vybavení je nutné řádně udržovat podle pokynů výrobce.

Likvidace

- Test **cobas®** CMV a souprava 2 pro přípravu vzorků pro systém **cobas®** 4800 obsahují azid sodný (viz „**Varování a bezpečnostní opatření**“). Ten může reagovat s olověným nebo měděným potrubím a vytvářet vysoce explozivní kovové azidy. Při likvidaci roztoků obsahujících azid sodný do laboratorního umyvadla propláchněte odtok velkým množstvím studené vody, abyste tak zabránili vytváření azidů.
- Nespotřebovaná činidla a odpad likvidujte v souladu s celostátními a místními předpisy.

Pozn.: Likvidace kapalného odpadu viz uživatelská nápověda systému cobas® 4800.

Rozlití a čištění

- Lytický pufr 2 pro systém **cobas®** 4800 obsahuje guanidinthiokyanát. Pokud se kapalina obsahující guanidinthiokyanát rozlije, postižené místo vyčistěte vodou s vhodným laboratorním detergentem. Jestliže rozlitá kapalina obsahuje potenciálně infekční látky, vyčistěte místo NEJPRVE vodou s vhodným laboratorním detergentem a potom 0,5% chlornanem sodným.
- Pokud dojde k rozlití kapaliny na přístroj **cobas x** 480, řiďte se při čištění pokyny v Asistentu uživatele systému **cobas®** 4800.
- K čištění přístroje **cobas x** 480 nebo analyzátoru **cobas z** 480 nepoužívejte roztok chlornanu sodného (bělidlo). Vyčistěte přístroj **cobas x** 480 nebo analyzátor **cobas z** 480 podle pokynů v Asistentu uživatele systému **cobas®** 4800.

Odběr, přeprava a uchovávání vzorků

- Všechny vzorky uchovávejte při stanovených teplotách.
- Zvýšené teploty ovlivňují stabilitu vzorků.
- Pokud používáte vzorky zmrazené v sekundárních zkumavkách, ponechte je při pokojové teplotě (15–30 °C) do úplného roztátí a pak krátce promíchejte (např. na vortexu 3–5 sekund) a odstředěním shromážděte veškerý objem na dně zkumavky.

Pozn.: Se všemi vzorky je třeba zacházet jako s infekčními.

Odběr vzorků

Krev se odebírá do zkumavek pro přípravu plazmy BD Vacutainer® PPT™ nebo zkumavek s víčky levandulové barvy pro molekulární diagnostické testovací metody nebo do sterilních zkumavek za použití EDTA jako antikoagulantu.

Pozn.: Uživatel musí dodržovat pokyny výrobce zkumavky pro přípravu plazmy.

Přeprava, uchovávání a stabilita vzorků

- Krev odebranou do zkumavek pro přípravu plazmy BD Vacutainer® PPT™ nebo zkumavek s víčky levandulové barvy nebo do sterilních zkumavek za použití EDTA jako antikoagulantu pro molekulární diagnostické testovací metody lze uchovávat nebo přepravovat po dobu do 36 hodin při teplotě 2 °C až 25 °C před přípravou plazmy a následným testováním.
- Alternativně lze vzorky plazmy uchovávat v primárních zkumavkách po dobu do 36 hodin při teplotě 2 °C až 25 °C nebo 6 dní při 2 °C až 8 °C.
- Vzorky plazmy lze uchovávat v sekundárních zkumavkách po dobu do 36 hodin při teplotě 2 °C až 30 °C, do 6 dní při teplotě 2 °C až 8 °C nebo do 6 týdnů při teplotě -15 °C až -25 °C. Separované vzorky plazmy v sekundárních zkumavkách jsou stabilní až do tří cyklů zmrazení a rozmrazení, pokud jsou uchovávány zmrazené při teplotě -15 °C až -25 °C.
- Pokud mají být vzorky přepravovány, musí být zabaleny a označeny dle platných státních anebo mezinárodních předpisů o přepravě vzorků a etiologických agens.

Návod k použití

Spuštění testu

Objem pro zpracování vzorku systémem **cobas®** CMV je 400 µl.

Obrázek 1: Pracovní postup **cobas®** CMV

1	Spustíte systém.
2	Provedte údržbu přístroje.
3	Vyjměte vzorky a činidla z místa uchovávání.
4	Spustíte cyklus.
5	Naskenujte karty parametrů
6	Zavedte vzorky
7	S LIS: potvrďte objednávku. Bez LIS: vytvořte objednávku.
8	Zavedte spotřební materiál (destičku s hlubokými jamkami, mikrotitrační destičku, stojany na špičky).
9	Zavedte činidla
10	Spustíte cyklus přípravy vzorku
11	Vyjměte a zalepte mikrotitrační destičku
12	Zavedte mikrotitrační destičku do analyzátoru
13	Vyjměte vzorky, použitá činidla a destičku s hlubokými jamkami.
14	Zkontrolujte výsledky
15	S LIS: odešlete výsledky do LIS
16	Vyprázdněte analyzátor

Pozn.: Podrobné provozní pokyny viz Asistent uživatele systému cobas® 4800.

Velikost cyklu

Generická činidla pro přípravu vzorků (souprava 2 pro přípravu vzorků pro systém **cobas®** 4800, lytická souprava 2 pro systém **cobas®** 4800 a souprava promývacího pufru pro systém **cobas®** 4800) jsou k dispozici v soupravách dvou velikostí; každá obsahuje množství činidel dostatečné pro 10 cyklů po 24 nebo 96 vzorcích, které zahrnují kontroly a vzorky pro analýzu. Souprava **cobas®** CMV se dodává v jedné velikosti, která stačí na testování 120 (10×12) vzorků včetně kontrol. Kontrolní souprava **cobas®** CMV se dodává v jedné velikosti a podporuje všechny konfigurace cyklu. Pro každou dávku testu je nutno použít jednu nízce pozitivní kontrolu CMV, jednu vysoce pozitivní kontrolu CMV a jednu negativní kontrolu. Pro jeden cyklus testu je povolen maximální počet 93 vzorků a 3 kontroly.

Obrázek 1 uvádí souhrn postupu.

Pozn.: Za účelem optimálního využití činidel lze generická činidla pro přípravu vzorků použít pro cyklus obsahující celkem 1–21 vzorků (velikost testovací soupravy 10 ×24) nebo celkem 1–93 vzorků (velikost testovací soupravy 10×96). Soupravy promývacího pufru pro systém cobas® 4800, soupravy 2 pro přípravu vzorků pro systém cobas® 4800 a lytické soupravy 2 pro systém cobas® 4800 různých velikostí však nelze vzájemně kombinovat. Pokud je například na začátku cyklu nasnímána láhev s promývacím pufrem pro 96 testů, musí být použita také činidla z dalších dvou souprav o velikosti pro 96 testů.

Pracovní postup

Test **cobas®** CMV se provádí s použitím úplného pracovního postupu v softwaru **cobas®** 4800. Skládá se z přípravy vzorku na přístroji **cobas x** 480 a poté následuje amplifikace a detekce na analyzátoru **cobas z** 480. Test **cobas®** CMV může být prováděn samostatně nebo v režimu kombinovaných dávek s testy, které sdílejí stejný automatický proces extrakce a PCR profil amplifikace a detekce. Při kroku výběru testu software zobrazí testy kompatibilní s testem **cobas®** CMV v režimu kombinovaných dávek. Podrobnosti viz uživatelská nápověda systému **cobas®** 4800.

1. Zapněte systém podle pokynů Asistenta uživatele systému **cobas®** 4800.
2. Provedte údržbu podle pokynů uživatelské nápovědy systému **cobas®** 4800.
3. Nachystejte si všechna činidla a potřebný spotřební materiál. Všechna činidla kromě CMV MMX R2 a MMX R1 musí mít před zavedením do přístroje **cobas x** 480 okolní teplotu laboratoře. Činidla CMV MMX R2 a MMX R1 je možné vzít přímo z místa uchovávání o teplotě 2–8 °C, protože se vytemperují na okolní teplotu laboratoře v přístroji **cobas x** 480 předtím, než budou použita v procesu.

Pozn.: Veškerá činidla a zásobníky na činidla jsou označená čárovým kódem a jsou určena pro jedno použití. Software přístroje cobas® 4800 sleduje použití činidel a zásobníků na činidla a zamítne již dříve použitá činidla nebo zásobníky na činidla.

4. Zahajte nový cyklus a zvolte typ pracovního postupu CMV. Chcete-li provést cyklus se smíšenou dávkou, zvolte kromě CMV další vhodné typy pracovního postupu (tj. HIV-1, HCV nebo HCV GT).
5. Postupujte podle softwarového průvodce a na kartách parametrů oskenujte čárové kódy kalibračních koeficientů a rozmezí kontrol.

Pozn.: Oskenujte karty parametrů činidel, která nejsou prošlá. Software nekontroluje datum expirace činidel na kartách parametrů. Před oskenováním čárového kódu zkontrolujte datum expirace vytištěné na příslušné kartě parametrů nebo v soupravě činidel.

6. Vložte vzorky. Lze vložit primární nebo sekundární zkumavky na vzorky; minimální objem vzorku závisí na typu a velikosti zkumavky.
7. Vytvořte objednávku. Existují tři způsoby, jak vytvářet objednávku:
 - Pomocí editoru vzorků před vložením kteréhokoli stojanu na vzorky do přístroje **cobas x** 480 (tlačítko „Editor“ se nachází na pravé straně hlavní nabídky). Objednávky je možné v případě potřeby uložit, upravit a znovu nahrát. Při výběru požadovaných výsledků zvolte „CMV“.
 - Pomocí softwarového průvodce pro nový cyklus vložením vzorků do přístroje **cobas x** 480, jakmile je k tomu uživatel vyzván. Čárové kódy budou automaticky nasnímány a musí být definovány požadované výsledky pro každý vzorek. Při výběru požadovaných výsledků zvolte „CMV“.
 - Pomocí systému LIS vašeho zdravotnického zařízení.

Další podrobnosti viz uživatelská nápověda systému **cobas®** 4800. Zaveďte vzorky a definujte/zvolte objednávku nebo použijte LIS dle potřeby.

8. Vložte vzorky podle pokynů softwarového průvodce. Nedoplňujte jednotlivé špičky do částečně použitého stojanu na špičky, ani je nevytahujte, protože software sleduje počet zbývajících špiček. Pokud zde není dostatek špiček pro uskutečnění cyklu, software vydá varování pro uživatele.

9. Vložte činidla.

Vložte činidla pro přípravu vzorků do zásobníků na činidla označených čárovým kódem. Zásobníky na činidla jsou k dispozici ve dvou velikostech: 200 ml a 50 ml. Při výběru správné velikosti zásobníku na činidla postupujte podle softwarového průvodce. Čárové kódy zásobníků na činidla musí směřovat na pravou stranu nosiče. Pro činidla pro přípravu vzorků použijte metodu „naskenovat-naskenovat-nalít-umístit“:

- Naskenujte čárový kód lahvičky s činidlem.
- Naskenujte čárový kód zásobníku na činidla.
- Nalijte činidlo do zásobníku na činidla.
- Umístěte naplněný zásobník na činidla na určenou pozici do nosiče na činidla.

Pozn.: Systém cobas® 4800 je vybaven vnitřními hodinami, které monitorují čas, po který jsou činidla umístěná v přístroji. Jakmile je LYS 2 nebo WB naskenován, zbývá 1 hodina na provedení dávkování vzorků a kliknutí na tlačítko Start. Na záložce „Workplace“ se zobrazí ubíhající čas. Jestliže vyprší čas, po který mohou být činidla umístěná v přístroji, systém nedovolí spuštění cyklu.

Pozn.: Aby přenos MGP proběhl správně, bezprostředně před dávkováním do zásobníku na činidla lahvičku s MGP protřepejte na třepačce nebo s ní silně zatřepejte.

10. Vložte lahvičky s činidly (CMV MMX R2, MMX R1 a DNA QS), lahvičky s kontrolami [CMV L(+)C, CMV H(+)C a (–) C] a lahvičky s generickými činidly (P2 podle potřeby) přímo do nosiče činidel.

Pozn.: Aby nedocházelo ke zbytečnému přerušení cyklů a kontaminaci, je důležité sklepnout dolů obsah lahviček s činidly, aby nevznikaly bubliny / filmy tekutiny. Kontroly je třeba otevírat od těch, které jsou nejbližší (od pozice 24 do 1). Vyměňte si rukavice po zacházení s pozitivními kontrolami.

11. Spusťte cyklus přípravy vzorku. Po úspěšném cyklu přípravy vzorků budou k dispozici tlačítka „Sample Preparation results“ a tlačítko „Unload“. Pokud si přejete, zkontrolujte výsledky stisknutím tlačítka „Sample Preparation results“ a pak vyjměte nosiče destiček stisknutím tlačítka „Unload“. Tlačítkem „Unload“ můžete též vyjmout nosiče destiček bez prohlížení výsledků. Viz uživatelská nápověda systému **cobas® 4800**.
12. Podle pokynů uživatelské nápovědy systému **cobas® 4800** mikrotitrační destičku po vyjmutí zalepte a přeneste do analyzátoru **cobas z 480**.
13. Vložte mikrotitrační destičku do analyzátoru a spusťte cyklus amplifikace a detekce podle pokynů uživatelské nápovědy systému **cobas® 4800**.

Pozn.: Systém cobas® 4800 má vnitřní hodiny, které monitorují čas po přidání připravených vzorků do aktivní směsi Master Mix. Amplifikaci a detekci je nutné spustit co nejdříve, ale ne později než 40 minut po dokončení cyklu přístroje cobas x 480. Na záložce „Workplace“ se zobrazí ubíhající čas. Jestliže vyprší čas, systém přeruší cyklus.

14. Vyjměte vzorky, použitá činidla a destičku s hlubokými jamkami podle pokynů uživatelské nápovědy systému **cobas® 4800**.
15. Po dokončení cyklu amplifikace a detekce si prohlédněte a přijměte výsledky podle pokynů uživatelské nápovědy systému **cobas® 4800**.
16. Pokud používáte LIS, odešlete výsledky do LIS.
17. Podle pokynů uživatelské nápovědy systému **cobas® 4800** vyjměte mikrotitrační destičku z analyzátoru **cobas z 480**.

Výsledky

Systém **cobas**® 4800 automaticky stanoví koncentraci CMV DNA ve vzorcích a kontrolách. Koncentrace CMV DNA je vyjádřena v mezinárodních jednotkách na mililitr (IU/ml).

Kontrola kvality a platnost výsledků

- S každou dávkou je zpracována jedna negativní kontrola (–)C2 a dvě pozitivní kontroly; níže pozitivní kontrola CMV L(+)C a vysoce pozitivní kontrola CMV H(+)C.
- Zkontrolujte platnost dávky v softwaru **cobas**® 4800 anebo v příslušné zprávě.
- Software **cobas**® 4800 vyhláší neplatnost výsledků automaticky na základě selhání negativních a pozitivních kontrol.

Interpretace výsledků kontrol

Tabulka 1: Interpretace výsledků negativních a pozitivních kontrol

Negativní kontrola	Výsledek	Interpretace
(–)C2	Target Not Detected	Kontrola je platná. CMV DNA nebyla detekována.
	Invalid	Neplatný výsledek nebo vypočtený výsledek titru negativní kontroly není negativní.
Pozitivní kontrola	Výsledek	Interpretace
CMV L(+)C	Titř	Kontrola je platná. Vypočítaný titř je v rozmezí kontroly.
	Invalid	Neplatný výsledek nebo vypočtený výsledek titru níže pozitivní kontroly není v přiřazeném rozmezí.
CMV H(+)C	Titř	Kontrola je platná. Vypočítaný titř je v rozmezí kontroly.
	Invalid	Neplatný výsledek nebo vypočtený výsledek titru vysoce pozitivní kontroly není v přiřazeném rozmezí.

Vyhodnocení výsledků

Pozn.: Veškerou validaci testů a dávek provádí software cobas® 4800.

Pozn.: Platná dávka může zahrnovat jak platné tak i neplatné výsledky vzorků.

Interpretace výsledků vzorků platné dávky viz Tabulka 2.

Tabulka 2: Cílové výsledky pro individuální interpretaci

cobas® CMV	Výsledkový protokol a interpretace
Target Not Detected	CMV DNA nebyla detekována. Výsledky nahlaste jako „CMV nedetekován“.
< Titer Min	Vypočtený titr je pod spodním limitem kvantifikace (LLoQ) analýzy. Výsledky nahlaste jako „CMV detekován, méně než (min. titr)“. Min. titr = 3,45E+01 IU/ml
Titr	Vypočtený titr leží v lineárním rozmezí analýzy – větší nebo roven min. titru a menší nebo roven max. titru. Výsledky nahlaste jako „(Titr) CMV detekován“.
> Titer Max ^a	Vypočtený titr je nad horním limitem kvantifikace (ULoQ) analýzy. Výsledky nahlaste jako „CMV detekován, více než (max. titr)“. Max. titr = 1,00E+07 IU/ml

^a Výsledek vzorku > „Titer Max“ představuje detekované CMV pozitivní vzorky s titrem nad horním limitem kvantifikace (ULoQ). Je-li požadován kvantitativní výsledek, měl by být originální vzorek rozředěn CMV-negativní EDTA plazmou podle typu původního vzorku; test by měl být zopakován. Vynásobte uváděný výsledek faktorem ředění.

Seznam značek

Následující tabulka uvádí všechny značky relevantní pro interpretaci výsledků.

Tabulka 3: Seznam značek

Kód značky	Popis	Doporučený úkon
R4800	Cíl je neplatný z důvodu selhání výpočtu.	Cíl je neplatný z důvodu selhání výpočtu. 1. Zopakujte analýzu vzorku. 2. Pokud problém přetrvává, kontaktujte servis společnosti Roche.
R4801	Kvantifikační standard je neplatný.	Kvantifikační standard je neplatný pro daný vzorek. 1. Zopakujte analýzu vzorku. 2. Pokud problém přetrvává, kontaktujte servis společnosti Roche.
R4802	Externí kontrola je neplatná.	Externí kontrola je neplatná. ^a 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými činidly. 2. Pokud problém přetrvává, kontaktujte servis společnosti Roche.
R4803	Kvantifikační standard je neplatný.	Kvantifikační standard je neplatný pro danou externí kontrolu. 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými činidly. 2. Pokud problém přetrvává, kontaktujte servis společnosti Roche.
R4804	Externí kontrola je mimo rozsah.	Externí kontrola je mimo rozsah. ^b 1. Zopakujte celý cyklus s čerstvými činidly. 2. Pokud problém přetrvává, kontaktujte servis společnosti Roche.
X3	Chyba: Byla detekována sraženina. Vzorek nebyl zpracován.	Ověřte, že zpracování vzorků proběhlo podle popisu v pracovním postupu. 1. Zkontrolujte, zda se ve vzorku nenacházejí sraženiny. 2. Zopakujte analýzu vzorku.
X4	Chyba: Došlo k chybě při pipetování. Vzorek nebyl zpracován.	Nejpravděpodobnějším důvodem je nedostatečný objem vzorku nebo mechanická chyba při pipetování. 1. Ověřte, že je k dispozici dostatečný objem vzorku. 2. Zkontrolujte, zda je správně umístěna destička vyhadzovače pipetovacích špiček. 3. Zopakujte analýzu vzorku.

^a Toto je značka týkající se vzorku; objeví se, pokud je výsledek externí kontroly v cyklu označen „invalid“.

^b Tato značka se týká všech situací, v nichž je výsledek externí kontroly „invalid“ (označení cílového výsledku nebo titru).

Pozn.: Zbývající značky systému jsou popsány v uživatelské nápovědě systému cobas® 4800.

Procedurální omezení

1. Test **cobas**® CMV byl vyhodnocen pouze pro použití v kombinaci s kontrolní soupravou CMV pro systém **cobas**®, soupravou 2 pro přípravu vzorku pro systém **cobas**® 4800, lytickou soupravou 2 pro systém **cobas**® 4800 a soupravou promývacího pufru pro systém **cobas**® 4800.
2. K získání spolehlivých výsledků je třeba dodržovat příslušné postupy odběru, transportu, uchovávání a zpracování vzorků. Řiďte se postupy v tomto návodu k použití (také je označován jako příbalová informace) a uživatelské nápovědě systému **cobas**® 4800.
3. Tento test je validován pouze pro vyšetřování EDTA plazmy. Testování jiných typů vzorků může vést k nepřesným výsledkům.
4. Kvantifikace CMV DNA závisí na tom, kolik virových částic je ve vzorku přítomno, na což mají vliv metody odběru vzorku, faktory pacienta (tj. věk, příznaky) anebo stádium infekce.
5. I když se vyskytují vzácně, mutace ve vysoce konzervovaných oblastech virového genomu pokryté testem **cobas**® CMV mohou ovlivnit vázání primerů anebo sond, a tak vést k podhodnocení množství nebo selhání detekce viru.
6. Prediktivní hodnota testu závisí na prevalenci onemocnění v určité populaci.
7. Přidání enzymu AmpErase k činidlu **cobas**® CMV Master Mix umožňuje selektivní amplifikaci cílové nukleové kyseliny. Aby se však předešlo kontaminaci činidel a amplifikačních směsí, je třeba uplatňovat zásady správné laboratorní praxe a důsledně dodržovat postupy uvedené v tomto návodu k použití.
8. Tento produkt smí používat pouze personál vyškolený v technikách PCR a v používání systému **cobas**® 4800.
9. Pouze přístroj **cobas x** 480 a analyzátor **cobas z** 480 byl validován pro použití s tímto produktem. S tímto produktem se nesmí používat žádný jiný přístroj na přípravu vzorků nebo jiný systém PCR.
10. Vzhledem k rozdílům mezi technologiemi se doporučuje, aby uživatelé před přechodem od jedné technologie k druhé provedli ve své laboratoři studie pro stanovení rozdílů mezi těmito technologiemi. Uživatelé by měli dodržovat své vlastní zásady/postupy.
11. Křížová kontaminace může způsobit falešně pozitivní výsledky. V neklinické studii byla zjištěna křížová kontaminace mezi vzorky v testu **cobas**® CMV ve výši 0,0 %. Křížová kontaminace mezi cykly nebyla pozorována.
12. Test **cobas**® CMV není určen k plošnému screeningovému vyšetřování krve či krevních derivátů na přítomnost CMV, ani jako diagnostický test k potvrzení infekce virem CMV.

Hodnocení neklinických funkčních parametrů

Klíčové funkční charakteristiky

Mez detekce (Limit of Detection, LoD)

Mez detekce (Limit of detection, LoD) testu **cobas**® CMV byla zjištěna analýzou sériových ředění mezinárodního standardu WHO (kmen Merlin, genotyp 1 pro glykoprotein B) a ověřen u genotypů gB-2, gB-3 až gB-4 pro glykoprotein B, jakož i u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům. Uváděná hodnota LoD pro EDTA plazmu je 34,5 IU/ml.

Mezinárodní standard WHO

Mez detekce testu **cobas**® CMV byla zjištěna analýzou sériových ředění 1. mezinárodního standardu WHO pro DNA lidského cytomegaloviru pro testy amplifikace nukleových kyselin (1st HCMV WHO International Standard²⁸) získaného od NIBSC, v lidské EDTA plazmě negativní na CMV. Panely sedmi hladin koncentrace plus slepý vzorek byly testovány na třech šaržích činidel testu **cobas**® CMV při větším počtu cyklů v různých dnech s různou obsluhou a přístroji.

Výsledky uvádí Tabulka 4. Studie ukázala, že test **cobas**® CMV detekoval CMV DNA při koncentraci 20,5 IU/ml s úspěšností detekce ≥ 95 % podle analýzy PROBIT.

Tabulka 4: Mez detekce

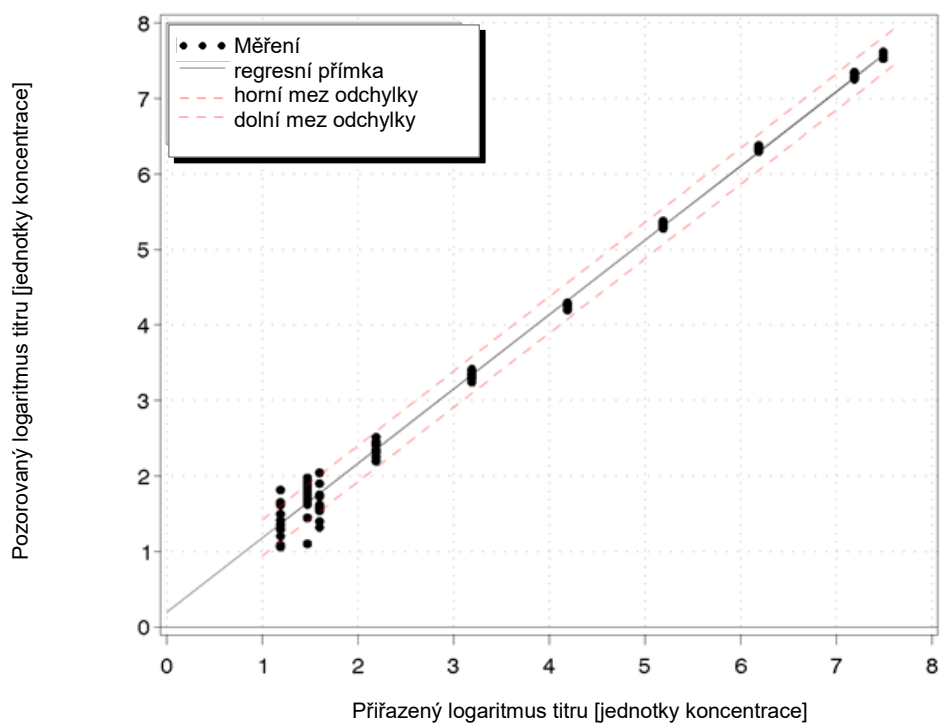
Vstupní titr koncentrace (CMV DNA IU/ml)	Počet platných replikátů	Počet pozitivních výsledků	Úspěšnost detekce v %
60,0	126	126	100,0
46,0	126	126	100,0
34,5	124	124	100,0
23,0	126	122	96,8
15,0	126	111	88,1
10,0	126	97	77,0
5,0	126	63	50,0
0,0	72	0	0,0
LoD podle analýzy PROBIT při 95% úspěšnosti detekce	20,5 IU/ml (95% CI: 16,9–23,3 IU/ml)		

Lineární rozmezí

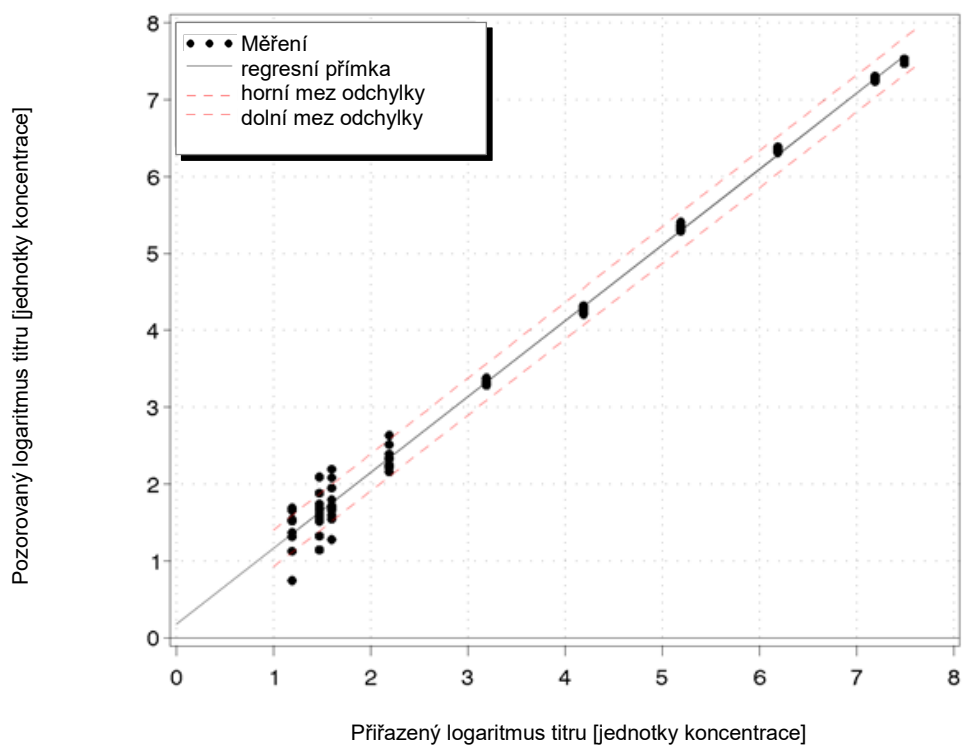
Linearita testu **cobas**® CMV byla vyhodnocena pomocí série ředění sestávající z 10 položek panelu s koncentracemi CMV DNA genotypu gB-1, které obsáhly lineární rozmezí testu (1,55 E+01 až 3,11 E+07 IU/ml). Byly použity dvě šarže činidel testu **cobas**® CMV a každá položka panelu byla testována ve 12 replikátech na šarži; výsledky studie uvádí Obrázek 2 a Obrázek 3 jako reprezentativní výsledky.

Údaje vykázaly lineární závislost od 1,55E+01 do 3,11 E+07 IU/ml. Uváděné lineární rozmezí testu **cobas**® CMV je 34,5 až 1,0 E+07 IU/ml

Obrázek 2: Linearita, šarže 1



Obrázek 3: Linearita, šarže 2



Přesnost – v rámci jedné laboratoře

Přesnost testu **cobas**® CMV byla zjištěna analýzou sériových ředění CMV DNA genotypu gB-1. Bylo testováno šest hladin ředění ve 90 replikátech pro každou hladinu u tří šarží činidel testu **cobas**® CMV při použití dvou přístrojů a čtyř obsluh v intervalu 15 dní. Každý vzorek prošel úplnou procedurou **cobas**® CMV na systému **cobas**® 4800. Zde uváděná přesnost tedy zahrnuje všechny aspekty testovacího postupu. Výsledky uvádí Tabulka 5.

U testu **cobas**® CMV byla prokázána vysoká přesnost u tří šarží činidel testovaných v rozsahu koncentrace od 3,90 E+01 IU/ml až 1,52 E+06 IU/ml.

Tabulka 5: Přesnost testu **cobas**® CMV v rámci jedné laboratoře*

Nominální koncentrace (IU/ml)	Přiřazená koncentrace (IU/ml)	Šarže 1	Šarže 2	Šarže 3	Všechny šarže
		Směrod. odch.	Směrod. odch.	Směrod. odch.	Směrod. odch. směsi
1,80E+06	1,55E+06	0,04	0,04	0,04	0,04
1,80E+05	1,55E+05	0,05	0,03	0,05	0,04
1,80E+04	1,55E+04	0,06	0,04	0,06	0,05
1,80E+03	1,55E+03	0,06	0,05	0,04	0,05
1,80E+02	1,55E+02	0,13	0,10	0,13	0,12
4,60E+01	3,97E+01	0,17	0,15	0,24	0,19

* Distribuce logaritmu titrů je pokládána za normální; data jsou analyzována po logaritmické ($\log_{10}$) transformaci. Sloupce směrodatné odchylky (SD) uvádějí souhrnný logaritmický titr pro každou ze tří šarží činidel.

Verifikace genotypů

Účinnost testu **cobas**® CMV u různých genotypů CMV byla vyhodnocena pomocí:

- Verifikace meze detekce u genotypů 2 až 4 pro glykoprotein B
- Verifikace lineárního rozmezí u genotypů 2 až 4

Verifikace meze detekce u genotypů gB-2, gB-3 a gB-4 pro glykoprotein B

Supernatanty buněčných kultur CMV dvou různých genotypů pro glykoprotein B (gB-2 a gB-3) a plazmidová DNA CMV genotypu 4 pro glykoprotein B (gB-4) byly zředěny v CMV negativní EDTA plazmě. Úspěšnost detekce byla zjišťována u 42 replikátů na jedné úrovni koncentrace. Testy byly provedeny s jednou šarží činidel **cobas**® CMV. Výsledky uvádí Tabulka 6. Tyto výsledky ověřily, že test **cobas**® CMV detekoval CMV DNA pro tři různé genotypy při koncentraci 34,5 IU/ml s úspěšností detekce ≥ 95 %.

Tabulka 6: Verifikace LoD CMV u genotypů gB-2, gB-3 a gB-4 pro glykoprotein B

Genotyp pro glykoprotein B	Úspěšnost detekce při 34,5 IU/ml
gB-2	100,0 %
gB-3	100,0 %
gB-4	100,0 %

Verifikace lineárního rozmezí u genotypů gB-2, gB-3 a gB-4 pro glykoprotein B

Sériová ředění použitá k verifikaci lineárního rozmezí (jež bylo určeno u CMV genotypu 1 pro glykoprotein B) u všech uváděných genotypů CMV pro glykoprotein B (gB-2, gB-3 a gB-4) sestávala ze sedmi položek, které obsahly předpokládané lineární rozmezí. Testy byly provedeny s jednou šarží činidel **cobas®** CMV; bylo testováno 12 replikátů na každé úrovni v EDTA plazmě.

Lineární rozmezí testu **cobas®** CMV bylo ověřeno pro všechny tři genotypy (gB-2, gB-3 a gB-4). Maximální odchylka mezi lineární regresí a lépe se hodící nelineární regresí byla menší nebo rovna $0,06 \log_{10}$.

Verifikace vzorků CMV rezistentních vůči léčivům

Účinnost testu **cobas®** CMV u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům byla vyhodnocena pomocí:

- Verifikace meze detekce u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči gancikloviru, valgancikloviru, cidofoviru nebo foskarnetu)
- Verifikace lineárního rozmezí u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči gancikloviru, valgancikloviru, cidofoviru nebo foskarnetu)

Verifikace meze detekce u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči foskarnetu nebo gancikloviru, valgancikloviru a cidofoviru)

Supernatanty buněčných kultur CMV dvou různých vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči foskarnetu nebo gancikloviru, valgancikloviru a cidofoviru) byly zředěny v CMV negativní EDTA plazmě. Úspěšnost detekce byla zjišťována u 42 replikátů na jedné úrovni koncentrace. Testy byly provedeny s jednou šarží činidel **cobas®** CMV. Výsledky uvádí Tabulka 7. Tyto výsledky ověřily, že test **cobas®** CMV detekoval DNA CMV pro všechny testované vzorky rezistentní na běžné léky na CMV při koncentracích 34,5 IU/ml s úspěšností detekce ≥ 95 %.

Tabulka 7: Verifikace LoD u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům

Fenotyp rezistence	Úspěšnost detekce při 34,5 IU/ml
foskarnet	100,0 %
ganciklovir, valganciklovir, cidofovir	100,0 %

Verifikace lineárního rozmezí u vzorků CMV rezistentních vůči léčivům (rezistence vůči foskarnetu nebo gancikloviru, valgancikloviru a cidofoviru)

Sériová ředění použitá k verifikaci lineárního rozmezí (jež bylo určeno u CMV genotypu 1 pro glykoprotein B) u vzorků rezistentních vůči běžným léčivům onemocnění CMV sestávala ze sedmi položek, které obsahly předpokládané lineární rozmezí. Testy byly provedeny s jednou šarží činidel **cobas®** CMV; bylo testováno 12 replikátů na každé úrovni v EDTA plazmě.

Lineární rozmezí testu **cobas®** CMV bylo verifikováno u všech testovaných vzorků rezistentních vůči běžným léčivům onemocnění CMV. U obou testovaných vzorků rezistentních vůči léčivům se nejlépe hodil model lineární regrese.

Analytická specifická

Analytická specifická testu **cobas**® CMV byla vyhodnocena zředěním panelu patogenů (Tabulka 8) EDTA plazmou pozitivní na CMV DNA a negativní na CMV DNA. Patogeny byly přidány do negativní EDTA plazmy a testovány s CMV DNA i bez ní. Test **cobas**® CMV poskytl negativní výsledky u všech vzorků patogenů bez cílové sekvence CMV a pozitivní výsledky u všech vzorků patogenů s cílovou sekvencí CMV. Navíc byl průměrný $\log_{10}$ titr každého z CMV pozitivních vzorků obsahujících potenciálně zkříženě reagující organismy v rozmezí $\pm 0,10 \log_{10}$ průměrného $\log_{10}$ titru odpovídající přidané pozitivní kontroly.

Tabulka 8: Patogeny testované pro zkříženou reaktivitu

Viry	Baktérie	Houby
Virus Epstein-Barrové (EBV)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Virus hepatitidy B (HBV)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus hepatitidy C (HCV)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Virus selhání lidské imunity typ 1 (HIV-1)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Virus selhání lidské imunity typ 2 (HIV-2)	<i>Enterococcus faecalis</i>	
Virus Herpes simplex typ 1 (HSV-1)	<i>Escherichia coli</i>	
Virus Herpes simplex typ 2 (HSV-2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Lidský herpesvirus typ 6 (HHV-6)	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Lidský herpesvirus typ 7 (HHV-7)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Lidský herpesvirus typ 8 (HHV-8)	<i>Chlamydia trachomatis</i>	
Adenovirus typu 5	<i>Listeria monocytogenes</i>	
JC virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Parvovirus B19	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
BK polyomavirus	<i>Mycobacterium avium</i>	
Varicella zoster virus (VZV)	<i>Clostridium perfringens</i>	
Lidský papilloma virus (HPV)		

Analytická specifická – interferenční látky

Zvýšené hladiny triglyceridů (33,0 g/l), konjugovaný bilirubin (0,2 g/l), nekonjugovaný bilirubin (0,2 g/l), albumin (60,0 g/l), hemoglobin (2,0 g/l) a lidská DNA (2 mg/l) ve vzorcích byly testovány v přítomnosti i nepřítomnosti CMV DNA. Ukázalo se, že u testovaných látek nedochází k interferenci s účinností testu **cobas**® CMV. Navíc byly provedeny testy na přítomnost markerů autoimunních onemocnění systémový lupus erythematosus, revmatoidní artritida a antinukleární protilátky.

Navíc byly testovány látky léčiv, které uvádí Tabulka 9, při hodnotách trojnásobku $C_{\max}$ v přítomnosti i nepřítomnosti CMV DNA.

Ukázalo se, že u žádné z potenciálně interferujících látek nedochází k interferenci s účinností testu. Test **cobas**® CMV poskytl negativní výsledky u všech vzorků bez cílové sekvence CMV a pozitivní výsledky u všech vzorků s cílovou sekvencí CMV. Navíc byl průměrný $\log_{10}$ titr každého z CMV pozitivních vzorků obsahujících potenciálně interferujících látek v rozmezí $\pm 0,36 \log_{10}$ průměrného $\log_{10}$ titru odpovídající přidané pozitivní kontroly.

Tabulka 9: Složky léčiv testované na interferenci s kvantifikací CMV DNA pomocí testu **cobas®** CMV

Třída léčiva	Generický název léčiva	
Antimikrobiální	Cefotetan	Sulfamethoxazol
	Klavulanát draselný	Ticarcillin sodný
	Fluconazole	Trimethoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobaktam sodný	
Látky pro léčbu herpetických virů	Gancyklovir	Cidofovir
	Valgancyklovir	Foskarnet
Imunosupresivní	Azathioprin	Kyselina mykofenolová
	Cyklosporin	Prednison
	Everolimus	Sirolimus
	Mykofenolát mofetil	Takrolimus

Selhání celého systému

Míra selhání celého systému testu **cobas®** CMV byla zjištěna testováním 100 replikátů EDTA plazmy s přidanou cílovou sekvencí CMV. Tyto vzorky byly testovány při přibližné koncentraci $3 \times \text{LLoQ}$ (104 IU/ml).

Z této studie vyplynulo, že všechny replikáty byly platné a pozitivní na CMV, což znamená výslednou míru selhání celého systému ve výši 0,0 %. Dvoustranný 95% přesný interval spolehlivosti byl 0,0 % pro dolní mez a 3,6 % pro horní mez [0,0 %: 3,6 %].

Zkřížená kontaminace

Míra zkřížené kontaminace byla u testu **cobas®** CMV zjištěna analýzou 230 replikátů CMV-negativních vzorků EDTA plazmy a 233 replikátů vzorků s vysokým titrem CMV $1,55 \text{ E}+07 \text{ IU/ml}$. Celkem bylo provedeno pět cyklů s pozitivními a negativními vzorky uspořádanými do šachovnice.

Všech 230 replikátů negativních vzorků bylo platných a detekovaných jako negativní, s výslednou mírou zkřížené kontaminace 0,0 % s jednostranným 95% intervalem spolehlivosti 1,3 %.

Hodnocení klinické výkonnosti

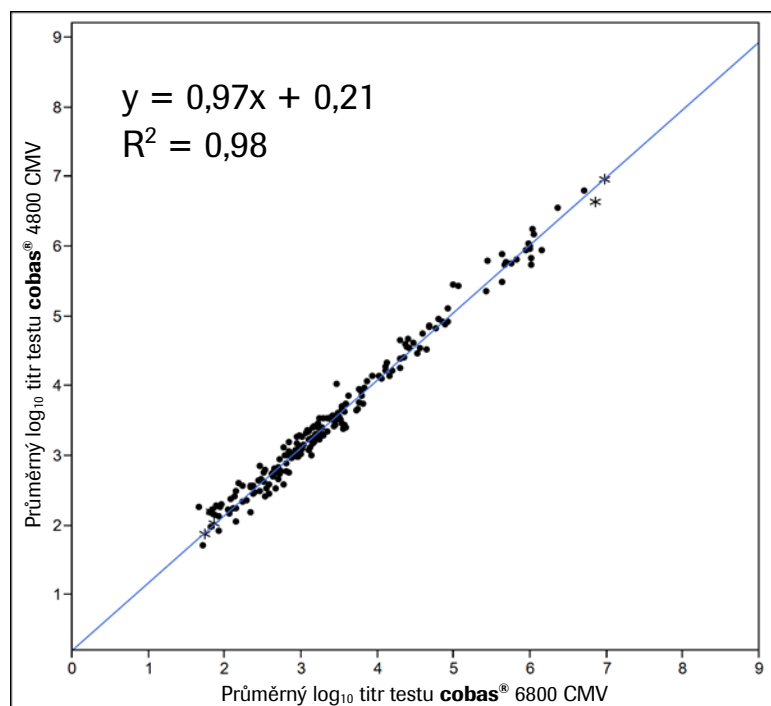
Korelace metody

Vyhodnocení výkonnosti testu cobas® CMV pro použití se systémem cobas® 4800 ve srovnání s testem cobas® CMV pro použití se systémy cobas® 6800/8800

Výkonnost testu **cobas®** CMV pro použití se systémem **cobas®** 4800 a testu **cobas®** CMV pro použití se systémy **cobas®** 6800/8800 byla porovnána pomocí analýzy vzorků EDTA plazmy od pacientů infikovaných CMV. Celkově bylo analyzováno v duplikátu 197 vzorků EDTA plazmy zahrnujících všechny genotypy CMV; všechny vzorky byly platné a nacházely se v kvantifikačním rozmezí obou testů. Byla provedena regresní analýza dle Deminga. Průměrná odchylka vzorků testovaných oběma testy byla 0,11 log₁₀ (95% interval spolehlivosti: 0,09; 0,13).

Výsledky regrese dle Deminga uvádí Obr. 4. Symbol * v číslech znamená jedno stanovení.

Obr. 4. Regresní analýza testu **cobas®** CMV pro použití na systému **cobas®** 4800 ve srovnání s testem **cobas®** CMV pro použití na systémech **cobas®** 6800/8800



Specifická

Specifická testu **cobas®** CMV byla zjištěna analýzou vzorků CMV negativní EDTA plazmy od individuálních dárců. Bylo testováno 611 individuálních vzorků EDTA plazmy se třemi šaržemi činidel **cobas®** CMV. 611 vzorků mělo negativní výsledek testu na CMV DNA. V panelu testu byla specifická testu **cobas®** CMV 100 % (dolní jednostranná 95% mez spolehlivosti: 99,5 %).

Doplňující informace

Hlavní parametry testu

Typ vzorku	EDTA plazma
Objem pro zpracování vzorku	400 µl
Analytická citlivost	34,5 IU/ml
Lineární rozmezí	34,5 IU/ml – 1,0E+07 IU/ml
Specifická	100 %
Detekované genotypy	CMV genotyp 1–4 pro glykoprotein B
Detekované vzorky CMV rezistentní vůči léčivům	Vzorky CMV rezistentní vůči gancikloviru, valgancikloviru, cidofoviru a foskarnetu

Symbols

V označování diagnostických produktů společnosti Roche PCR se používají následující symboly.

Tabulka 10: Symboly použité při označování diagnostických produktů PCR společnosti Roche

Age/DOB Věk nebo datum narození	 Prostředek není pro testování u lůžka pacienta	QS IU/PCR Kopie IU na reakci PCR, použijte mezinárodní jednotky (UI) QS na reakci PCR při výpočtu výsledků.
 Pomocný software	 Prostředek není určen pro samotestování	SN Sériové číslo
Assigned Range [copies/mL] Přiřazené rozmezí (kopie/mL)	 Distributor (Pozn.: pod symbolem může být uvedena příslušná země/oblast.)	Site Pracoviště
Assigned Range [IU/mL] Přiřazené rozmezí (IU/mL)	 Nepoužívat opakovaně	Procedure Standard Standardní postup
EC REP Zplnomocněný zástupce pro evropské společenství	 Žena	STERILE EO Sterilizováno ethylenoxidem
BARCODE Datový list s čárovými kódy	 Pouze pro vyhodnocení výkonnosti IVD	 Uchovávejte v temnu
LOT Číslo šarže	GTIN Globální číslo obchodní položky	 Omezení teploty
 Biologická rizika	 Dovozce	 Definiční soubor testu
REF Katalogové číslo	IVD Zdravotnický prostředek pro <i>in vitro</i> diagnostiku	 Neklopit
 Značka shody CE. Tento prostředek odpovídá příslušným požadavkům pro značku shody CE pro diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>	LLR Dolní mez přiřazeného rozmezí	Procedure UltraSensitive Ultracitlivý postup
Collect Date Datum odběru	 Muž	UDI Jedinečná identifikace prostředku
 Čtěte návod k použití	 Výrobce	ULR Horní mez přiřazeného rozmezí
 Obsah vystačí pro <n> testů	CONTROL - Negativní kontrola	Urine Fill Line Hladina pro naplnění močí
CONTENT Obsah soupravy	 Nesterilní	Rx Only Pouze pro USA: podle federálního zákona smí být tento přístroj prodáván pouze lékařem nebo na jeho objednávku.
CONTROL Kontrola	 Jméno pacienta	 Datum expirace
 Datum výroby	 Číslo pacienta	
 Prostředek pro testování u lůžka pacienta	 Zde odloupnout	
 Prostředek pro samotestování	CONTROL + Pozitivní kontrola	
	QS copies / PCR Kopie QS na reakci PCR, použijte kopie QS na reakci PCR při výpočtu výsledků.	

Technická podpora

Pro technickou podporu (asistenci) kontaktujte místní zastoupení:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.html

Výrobce a dovozce

Tabulka 11: Výrobce a dovozce



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Vyrobeno v USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ochranné známky a patenty

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

Autorská práva

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Literatura

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, editors. *Principles and Practice of Clinical Virology*. 6th Edition. London: John Wiley and Sons; 2009. pp. 161-197.
2. Mocarski ES, Shenk T, Griffiths P, Pass RF. Cytomegalovirus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields' Virology*. 6th Edition. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2013. pp.1960-2014.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. *Human Cytomegalovirus*. Berlin Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2008. pp. 2976-314.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis*. 1983;5:205-15.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser*. 1989;44:507-34.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:204-10.
7. 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;186:829-33.
8. 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;68:1305-11.
9. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102:900-31.
10. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, et al. 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;176:1484-90.
11. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:703-27.
12. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol*. 2008;41:237-41.
13. Salmon-Ceron 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;14:1041-9.
14. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, et al. Quantitative effects of valgacyclovir 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.
15. 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;11:889-93.
16. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-87.
17. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68.

18. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev*. 2002;2:155-67.
19. Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1793-7.
20. 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;5:218-27.
21. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
22. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
23. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
26. Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Service, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Revised Dec 2009; Accessed 10 July 2023. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. M29-A4: Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; approved guideline-Fourth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. Accessed 10 July 2023. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf.
28. Fryer JF, Heath AB, Minor PD, Collaborative Study G. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification technology. *Biologicals*. 2016;44:242-51.

Revize dokumentu

Informace k revizi dokumentu	
Doc Rev. 3.0 07/2023	Dokument byl revidován tak, aby byl v souladu s požadavky IVDR. Byly přidána další část Hodnocení klinické výkonnosti. Na první stranu byl přidán symbol „Rx Only“. Aktualizovaná stránka s harmonizovanými symboly. Byly aktualizovány adresy výrobce. Máte-li jakékoli dotazy, kontaktujte zástupce společnosti Roche.

Shrnutí zprávy o bezpečnosti a výkonnosti najdete na této webové adrese: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>