

cobas[®] CMV

**Kvantitatív nukleinsavteszt
a cobas[®] 4800 rendszeren való használatra**

In vitro diagnosztikai célra

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	P/N: 06979513190
	960 Tests	P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests	P/N: 05235863190
	960 Tests	P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests	P/N 06979530190
	960 Tests	P/N 06979548190

TARTALOMJEGYZÉK

Alkalmazási terület

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér	4
A CMV NAT-teszt elméleti alapjai	5
A vizsgálat háttere	5
Az eljárás alapelvei	5

Anyagok és reagensek

Reagensek	7
A reagensek tárolási és kezelési követelmények	11
További szükséges anyagok	12
Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek	12
Támogatott mintacsövek	13

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések	14
Helyes laboratóriumi gyakorlat	15
Reagensek kezelése	15
Szennyeződés	15
Felhasználhatóság	16
Hulladékkezelés	16
Kiömlés és tisztítás	16

Minták levétele, szállítása és tárolása

Mintavétel	17
Minták szállítása, tárolása és stabilitása	17

Használati utasítás

A teszt futtatása	18
Futtatási mennyiség	18
Munkafolyamat	19

Eredmények

Minőség-ellenőrzés és az eredmények érvényessége	22
Kontrolleredmények értékelése	22
Eredmények értelmezése	23
Jelzők listája	24
Az eljárással kapcsolatos korlátozások	25

A nem klinikai teljesítmény értékelése

A fontosabb teljesítményjellemzők	26
Kimutatási határ (LoD)	26
WHO Nemzetközi standard	26
Lineáris tartomány	26
Pontosság – laboratóriumon belül	28
Genotípus szerinti ellenőrzés.....	28
A kimutatási határ ellenőrzése a gB-2-es, gB-3-as és gB-4-es glikoprotein B genotípus esetén.....	28
A lineáris tartomány ellenőrzése a gB-2-es, gB-3-as és gB-4-es glikoprotein B genotípus esetén	29
Gyógyszerrezisztens CMV-minták ellenőrzése.....	29
A kimutatási határ ellenőrzése gyógyszerrezisztens CMV-mintákon (rezisztencia a következőkkel szemben: Foscarnet vagy Ganciclovir, Valganciclovir vagy Cidofovir)	29
A lineáris tartomány ellenőrzése gyógyszerrezisztens CMV-mintákon (rezisztencia a következőkkel szemben: Foscarnet vagy Ganciclovir, Valganciclovir vagy Cidofovir)	29
Analitikai specifititás	30
Analitikai specifititás – zavaró anyagok	30
Teljes rendszerhiba.....	31
Keresztzennyeződés.....	31

Klinikai teljesítmény értékelése

Módszerkorreláció	32
Specifititás	32

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai.....	33
Szimbólumok	34
Technikai segítségnyújtás.....	35
Gyártó és importőr.....	35
Védjegyek és szabadalmak	35
Szerzői jogok	35
Hivatkozások.....	36
Dokumentumverzió	38

Alkalmazási terület

A **cobas**® CMV egy *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt a cytomegalovírus (CMV) DNS-ének kvantitatív meghatározására humán EDTA-s plazmában. A **cobas**® CMV segítségképpen használható a CMV-fertőzés diagnózisában és kezelésében szilárdszerv-, valamint vérképzőszőjt-beültetésen átesett betegeknél. A teszt ezeknél a populációknál használható annak eldöntésére, hogy kell-e antivirális kezelést kezdeményezni. A CMV elleni kezelésben részesülő betegeknél a DNS sorozatos mérésével lehet felmérni a kezelésre adott vírusválaszt. A **cobas**® CMV eredményeit az összes vonatkozó klinikai és laboratóriumi eredménnyel együtt kell értelmezni.

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér

A humán cytomegalovírus (CMV) egy humán kórokozó vírus, amely a herpesz víruscsalád tagja, és az egész világon előfordul a közösségekben.^{1,2} Immunokompetens szervezet esetén a CMV-fertőzés gyakran tünetmentes, de az elsődleges fertőzés megjelenhet akut, a mononukleózishoz hasonló tünetegyüttesként. Aki CMV-vel fertőződött, annál a fertőzés általában élethosszig tart látens, esetleg időnként kiújuló formában. Úgy tűnik, hogy a CMV-fertőzés fő helyei valószínűleg a perifériás vér mieloid sejtvonalhoz tartozó mononukleáris sejtjei (a limfociták kivételével) és endotheliális sejtjei.³ A CMV látens állapotban van jelen az emberi monocitákban/makrofágokban.² Látensen fertőzött egyének tünetmentesen üríthetik a vírust testfolyadékaikkal (pl. vizelettel vagy nyállal), és így fertőzhetnek másokat. Immunkompromittált egyéneknél, például újszülötteknél, szervátültetetteknek és AIDS-betegeknél nagy a kockázat a súlyos CMV-fertőzések kialakulására vagy a látens CMV-fertőzés újraaktiválódására, ami nagyobb mértékű morbiditáshoz és mortalitáshoz vezet.⁴ A CMV-betegség súlyos formában is megnyilvánulhat. Ilyen például a szemideghártya-gyulladás, több ideggyök egyidejű betegsége, gyomor- és bélhurut, májgyulladás, agyvelőgyulladás, nyelőcsőgyulladás, bél- és vastagbélgyulladás, hasnyálmirigy-gyulladás, vesegyulladás, a beültetett szerv kilökődése, tüdőgyulladás és a CMV-vírus-tünetegyüttes.^{2,5,6}

A CMV-betegség kialakulásának klinikai küszöbértékeit jelenleg különféle technológiákkal, populációkon és végpontokat vizsgáló tanulmányok alapján állapítjuk meg.⁷⁻¹⁴ Általánosságban megállapítható, hogy a víruskoncentráció mértéke és a CMV-betegség kialakulásának kockázata szorosan összefügg. A vér víruskoncentrációja és a betegség kialakulása közötti összefüggés szigmoidális, vagyis a CMV-betegség kockázata jelentősen nő, amikor a CMV koncentrációja eléri egy „kritikus küszöböt”. Egy májátültetésen átesett betegekkel végzett tanulmány szerint például a laboratóriumi, teljes vért vizsgáló CMV-DNS-teszt $\geq 5 \log_{10}$ kópia/ml értéke volt a kritikus küszöb.¹² HIV/AIDS-betegeknél úgy találták, hogy a CMV-DNS-szint korrelál a CMV-betegség kockázatával és az általános mortalitással.¹³⁻¹⁸

A CMV-DNS mennyiségi meghatározásának jelenlegi laboratóriumi módszereit azonban korlátozza, hogy nincsenek standardizált eredmények, és ezért nagyok lehetnek az eltérések az egyes laboratóriumok és tesztek által használt értékek között.¹⁷ A CMV-DNS víruskoncentrációja reprodukálhatóságának validálása elengedhetetlen a CMV-betegkek kezelésekor kapott eredmények következetessége érdekében. A PCR-tesztek pontosságán alapuló jelenlegi irányelvek valószínűsítik, hogy a sorozatos víruskoncentráció-mérések közötti változásnak legalább 3-szorosnak kell lennie ($0,5 \log_{10}$ kópia/ml) ahhoz, hogy biológiailag jelentős változásokkal függjenek össze. Mivel a variabilitás alacsony koncentrációnál a legnagyobb, a vizsgálat alacsonyabb számszerűsítési határához közeli értékeknél a víruskoncentráció változásainak több mint 5-szörösnek kell lenniük ($0,7 \log_{10}$ kópia/ml) ahhoz, hogy jelentősnek lehessen tekinteni.^{9,19}

Bár a pontos küszöbérték a különböző tesztek közötti eltérések miatt még vitatott, a kritikus küszöb elképzelés érvényesnek tűnik, és élettani vizsgálatok szerint a magasabb víruskoncentráció összefügg a CMV-betegség kialakulásának nagyobb kockázatával.⁷⁻¹² A COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR teszttel (CACM teszt, csak kutatási célra szolgáló

állapot az Egyesült Államokban, és a CE-IVD hagyta jóvá) a CMV-szeropozitív májátültetettek körében végzett egyik vizsgálat szerint a betegség előrejelzéséhez szükséges érték 2000 és 5000 kópia/ml között van.⁸

A CMV NAT-teszt elméleti alapjai

A humán CMV okozta disszeminált fertőzés és aktív viscerális betegség diagnosztikájára használt laboratóriumi módszerek a következők lehetnek: a vírus izolálása sejt kultúrában perifériás fehérvérsejtekből, biopsziák szövettani vizsgálata, szerológiai módszerek, pp65 antigén mérése, valamint CMV-DNS kimutatása polimeráz-láncreakció (PCR) segítségével.¹⁸ A szerológia csak annak meghatározására nyújt támpontot, hogy egy beteg korábban fertőződött-e CMV-vel, és fennáll-e az újraaktiválódás kockázata. A tenyésztési módszerek prediktív értéke gyenge, eredmény csak 48 óra után keletkezik, és immunkompromittált betegek esetén korlátozottan használhatók. A pp65 antigén kimutatása intenzív laboratóriumi munkát igényel, és az antigén-koncentráció tárolás közbeni csökkenése miatt a vért 6 órán belüli fel kell dolgozni.²⁰ A pp65 vizsgálat további hátránya, hogy neutropeniás betegek esetén nehéz kivitelezni. A CMV-DNS közvetlen kimutatása például valós idejű PCR-módszerrel nagyobb dinamikus tartományt, pontosságot, valamint magas érzékenységet biztosíthat.

A vizsgálat háttere

A **cobas**® CMV a **cobas**® 4800 rendszeren futtatható kvantitatív teszt. A **cobas**® CMV lehetővé teszi a CMV-DNS-ének kimutatását és kvantitatív meghatározását a fertőzöttek EDTA-s plazmájából a WHO 1. nemzetközi HCMV szabványa szerint. A víruskoncentrációt a teszt egy nem CMV-DNS mennyiségi standard (DNA QS) szerint határozza meg, amit a mintafeldolgozás során adnak az egyes mintákhoz. A DNA QS egyben monitorozza a teljes minta-előkészítést és PCR-amplifikálást is. Ezenfelül a teszt három külső kontrollt használ: egy magas titerű pozitívot, egy alacsony titerű pozitívot és egy negatívot. A magas pozitív és alacsony pozitív külső kontrollokat hígítással állítják elő olyan törzsanyagból, amelynek a titere visszavezethető a WHO CMV-re vonatkozó nemzetközi standardjára. Az amplifikáló-/kimutatókészletek minden gyártási tételének kalibrálása visszavezethető a WHO CMV-re vonatkozó nemzetközi standardjára.

Az eljárás alapelvei

A **cobas**® CMV teljesen automatizált minta-előkészítésen (nukleinsav-extrahálás és -tisztítás) alapul, amelyet PCR-amplifikálás és -kimutatás követ. A **cobas**® 4800 rendszer a **cobas x 480** eszközből és a **cobas z 480** analizátorból áll. Az automatizált adatkezelést a **cobas**® 4800 szoftver végzi, amely az összes teszthez a következő eredmények egyikét rendeli: „Target Not Detected” (nem kimutatható target), „< LLoQ” (vagyis az alsó számszerűsítési határ alatt), „> ULoQ” (vagyis a felső számszerűsítési határ felett) vagy „CMV DNA detected” (CMV DNS kimutatható), egy érték az $LLoQ \leq x \leq ULoQ$ lineáris tartományban. Az eredményeket át lehet tekinteni közvetlenül a rendszer képernyőjén, de exportálhatók vagy jelentésként nyomtathatók is.

A rendszer a betegek mintáiból származó nukleinsavakat, külső kontrollokat és a hozzáadott lambda DNS (DNA QS) molekulákat egyszerre extrahálja. Összegezve, a mintába proteináz és lízisreagens kerül, és ennek hatására a vírus nukleinsavai felszabadulnak. A felszabadult nukleinsavak a hozzáadott mágneses üvegpartikulumok szilikonfelületéhez kötnek. A kötetlen anyagokat és szennyeződések, például a denaturált fehérjéket, sejttörmeléket és lehetséges PCR-inhibitorokat az ezt követő mosópufferes lépések eltávolítják, és egy eluáló puffer magasabb hőmérsékleten eluálja a tisztított nukleinsavakat a mágneses üvegpartikulumokról.

A teszt a mintában a célnukleinsav szelektív amplifikálását a célvírusra specifikus forward és reverz primerekkel éri el, amelyeket a CMV-DNS polimeráz (UL54) gén nagy fokban konzervált régióiból választ. A DNA QS szelektív amplifikálását a teszt szekvenciaspecifikus forward és reverz primerekkel éri el, amelyeket úgy választ, hogy ne legyenek homológok a CMV genomjával. Az amplifikálás hőstabil DNS-polimeráz enzim segítségével történik. A target és DNA QS

szekvenciákat egyszerre amplifikálja egy univerzális PCR-amplifikáló profillal, amely tartalmazza az előre meghatározott hőmérséklet-lépcsőket és a ciklusok számát. A master mix dezoxitimidin-trifoszfát (dTTP) helyett dezoxiuridin-trifoszfátot (dUTP) tartalmaz, amely beépül az újonnan szintetizált DNS-be (amplikon). Az első hevítési lépés során a PCR Mix reagensben lévő AmpErase enzim az előző PCR-futtatásokból származó minden szennyező amplikont inaktívál.²¹⁻²³ Az újonnan kialakuló amplikonokat viszont nem semmisíti meg, mert az 55 °C-ot meghaladó hőmérséklet miatt az AmpErase enzim maga is inaktív lesz.

A **cobas®** CMV Master Mix egy kimutatási próbát tartalmaz, amely a CMV-targetszekvenciákra specifikus, valamint egyet a DNA QS-hez. A próbákat fluoreszcens targetspecifikus jelzőfestékek jelölik, ami lehetővé teszi a CMV-target és a DNA QS egyszerre történő kimutatását két különböző targetcsatornán.^{24, 25} Amikor az érintetlen próba fluoreszcens jelei nem kötődnek a targetszekvenciához, azokat egy blokkolófesték elnyomja. A PCR-amplifikálás minden egyes lépése során a próbák a specifikus, egyszálú DNS-templáthoz hibridizálnak. Ennek eredményeként a próbát a DNS-polimeráz 5'-3'-nukleázaktivitása hasítja, így a jelzőfesték és a blokkolófesték elválik, és fluoreszcens jel keletkezik. Minden PCR-ciklus során megnő a hasított próbák mennyisége, és így növekszik a jelzőfestékből származó összesített jel is. A PCR-termékek valós idejű kimutatása és megkülönböztetése a felszabadult, vírustargeteket és DNA QS-t reprezentáló jelzőfestékek fluoreszcenciájának mérésével megy végbe.

Anyagok és reagensek

Reagensek

Minden felbontatlan reagenst és kontrollt „A reagensek tárolási és kezelési követelmények” táblázat ajánlásai szerint tároljon.

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés
cobas® CMV 120 teszt (P/N: 07865970190)	MMX R1 (cobas® Master Mix reagens 1) Mangán-acetát, kálium-hidroxid, < 0,1% nátrium-azid	10 × 1,75 ml	N/A
	CMV MMX R2 (cobas® CMV Master Mix reagens 2) Tricin puffer, kálium-acetát, 18% dimetil-szulfoxid, glicerin, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% CMV forward és reverz primerek, < 0,01% Quantitation Standard (mennyiségi standard) forward és reverz primerek, < 0,01% fluoreszcensen jelölt, a CMV-re és a mennyiségi standardra specifikus oligonukleotid-próbák, < 0,01% oligonukleotid aptamer, < 0,01% Z05D DNS-polimeráz (mikrobiális), < 0,01% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális), < 0,1% nátrium-azid	10 × 0,5 ml	N/A
	DNA QS cobas® DNS mennyiségi standard Trisz puffer, < 0,05% EDTA, < 0,001% nem CMV-DNS primerkötő- és egyedi próbarégiót tartalmazó nem CMV-konstrukció (nem fertőző DNS), 0,002% poli-rA RNS (szintetikus), < 0,1% nátrium-azid	10 × 1,75 ml	N/A

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés
cobas® CMV Kontrollkészlet 10 készlet (P/N: 07865988190)	CMV L(+)C (cobas® CMV alacsony pozitív kontroll) < 0,001% szintetikus (plazmid) CMV-DNS lambda bakteriofág burokfehérjébe csomagolva, normál humán plazma, engedélyezett tesztek alapján nem-reaktív HCV-, HIV-1/2-, HBsAg- és HBc-antitestre; HIV-1 RNS, HIV-2 RNS, HCV RNS, HBV DNS, HEV RNS, WNV RNS és CMV DNS PCR-eljárásokkal nem mutatható ki 0,1% ProClin® 300 tartósítószer	10 × 0,75 ml	  FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. P261: Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. P272: Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben.
	CMV H(+)C (cobas® CMV magas pozitív kontroll) < 0,001% magas titerű szintetikus (plazmid) CMV DNS Lambda bakteriofág burokfehérjébe csomagolva, normál humán plazma, engedélyezett tesztek alapján nem-reaktív HCV-, HIV-1/2-, HBsAg- és HBc-antitestre; HIV-1 RNS, HIV-2 RNS, HCV RNS, HBV DNS, HEV RNS, WNV RNS és CMV DNS PCR-eljárásokkal nem mutatható ki 0,1% ProClin® 300 tartósítószer	10 × 0,75 ml	
	(-)C2 (cobas® negatív kontroll 2) Normál humán plazma, engedélyezett tesztek alapján nem-reaktív HCV-, HIV-1/2-, HBsAg- és HBc-antitestre; HIV-1 RNS, HIV-2 RNS, HCV RNS, HBV DNS, HEV RNS, WNV RNS és CMV DNS PCR-eljárásokkal nem mutatható ki < 0,1% ProClin® 300 tartósítószer	10 × 0,75 ml	

^a A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 teszt (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP reagens 2) Mágneses üvegpartikulumok, trisz puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (cobas® 4800 eluáló puffer 2) Tris puffer, 0,2% metil-4-hidroxi-benzoát	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 teszt (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP reagens 2) Mágneses üvegpartikulumok, trisz puffer, 0,1% metil-4-hidroxibenzoát, < 0,1% nátrium-azid	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (cobas® 4800 eluáló puffer 2) Tris puffer, 0,2% metil-4-hidroxi-benzoát	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 teszt (P/N: 05235863190)	WB Nátrium-citrát-dihidrát, 0,05% N-metilizotiazolon-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 teszt (P/N: 05235871190)	WB Nátrium-citrát-dihidrát, 0,05% N-metilizotiazolon-HCl	10 × 200 ml	N/A

Készlet	Összetevők és reagensek	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 teszt (P/N: 06979530190)	P 2 (cobas® 4800 proteáz 2) Tris puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% (m/V) proteináz	10 × 1,0 ml	   VESZÉLY
	LYS 2 (cobas® 4800 lízispuffer 2) 43% (m/m) guanidin-tiocianát, 5% (m/V) polidokanol, 2% (m/V) ditiotritol, nátrium-citrát-dihidrát	10 × 27 ml	H302 + H332: Lenyelve vagy belélegezve ártalmas. H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H318: Súlyos szemkárosodást okoz. H334: Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. P261: Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. P280: Védőkesztyű/szemvédő/arcvédő használata kötelező. P284 Légzésvédelem használata kötelező. P304 + P340 + P312: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P342 + P311: Légzési problémák esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

^a A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak

Készlet	Összetevők és reagensek	Tesztenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 teszt (P/N: 06979548190)	P 2 (cobas® 4800 proteáz 2) Tris puffer, < 0,05% EDTA, kalcium-klorid, kalcium-acetát, 8% (m/V) proteináz	10 × 1,0 ml	   VESZÉLY
	LYS 2 (cobas® 4800 lízispuffer 2) 43% (m/m) guanidin-tiocianát, 5% (m/V) polidokanol, 2% (m/V) ditiotreitol, nátrium-citrát-dihidrát	10 × 84 ml	H302 + H332: Lenyelve vagy belélegezve ártalmas. H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H318: Súlyos szemkárosodást okoz. H334: Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. P261: Kerülje a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. P280: Védőkesztyű/szemvédő/arcvédő használata kötelező. P284: Légzésvédelem kötelező. P304 + P340 + P312: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Rosszullét esetén forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. P342 + P311: Légzési problémák esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz.

^a A termék biztonsági címkéi megfelelnek az EU GHS előírásainak

A reagensek tárolási és kezelési követelmények

Reagens	Tárolási hőmérséklet	Tárolási idő
cobas® CMV	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® CMV Control Kit*	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil

* Kontrollkészlet doboza álló helyzetben.

Ne fagyassza le a reagenseket.

További szükséges anyagok

Anyagok	P/N
cobas® 4800 rendszer kivonási (mély lyukú) lemeze, 2,0 ml	06884008001
cobas® 4800 rendszer AD (kislyukú) lemeze, 0,3 ml	05232724001
Zárófólia-felhelyező	04900383001
CORE hegyek, 1000 µl, 96-os állványban	04639642001
200 ml-es reagenstároló	05232759001
50 ml-es reagenstároló	05232732001
24-pozíciós hordozó	04639502001
32-pozíciós hordozó	04639529001
Szilárdhulladék-zacskó	05530873001 (kicsi) vagy 04691989001 (nagy)
Hamilton STAR műanyag csúsztató	04639669001
Egyszer használatos kesztyűk, púdermentes	Bármely púdermentes egyszer használatos kesztyű elfogadható.
Vortex keverő (egycsöves)	Bármely vortexkeverő elfogadható.
Centrifuga, kilendülő fejes rotorral, minimum 1500 RCF	Bármely megfelelő centrifuga elfogadható.

A külön beszerezhető anyagokkal kapcsolatos további információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek

Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek
cobas® 4800 System cobas x 480 eszköz cobas z 480 analizátor Vezérlőegység
cobas® 4800 System Application Software (Core) 2.2-ás vagy újabb verziója
cobas® 4800 rendszer cobas® CMV AP v1.2.0 vagy újabb verzió

Megjegyzés: A készülékekkel használható mintaállványok, hegyállványok, reagensállványok és lemezfordozók részletes megrendelőlistájáért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Támogatott mintacsövek

A vizsgálat általánosan használt elsődleges és másodlagos mintacsöveket fogad el.

A következő mintacsöveket támogatja:

Elsődleges csövek (400 µl feldolgozási térfogat)

Névleges átmérő (mm)	Bemenő minta térfogata – feldolgozott (centrifugázott) teljes vér	EDTA-s plazmacső
11–14	1800 µl vagy több	Géllel vagy nélküle
14,5–16	Több mint 4000 µl	Géllel vagy nélküle

A mintacsövekre vonatkozó konkrét rendelési információkért és a konkrét elsődleges mintacsövek minimális bemenő mintatérfogatára vonatkozó információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Másodlagos csövek (400 µl feldolgozási térfogat)

Névleges átmérő (mm)	Bemenő mintatérfogat
11–16	1000 µl vagy több (a konkrét másodlagos csövek minimális bemenő térfogata kevesebb, mint 1000 µl)

A mintacsövekre vonatkozó konkrét rendelési információkért és a konkrét másodlagos mintacsövek minimális bemenő mintatérfogatára vonatkozó információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Mint minden teszteljárásnál, a helyes laboratóriumi gyakorlat alapvető a teszt megfelelő kivitelezéséhez. A vizsgálat nagy analitikai érzékenysége miatt ügyeljen arra, hogy a reagensek, minták és amplifikálási keverékek szennyeződéstől mentesek maradjanak.

- Csak *in vitro* diagnosztikai célra.
- A **cobas®** CMV-t nem értékelték ki CMV szűrőtesztként vérben vagy vérkészítményekben.
- Minden betegől származó mintát fertőzőként, megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárásokat alkalmazva kell kezelni. Ilyeneket ír le a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories és a CLSI Document M29-A4.^{26, 27} Ezt a vizsgálatot csak a fertőző anyagok kezelésében és a **cobas®** CMV és **cobas®** 4800 rendszer használatában jártas személy végezheti.
- Minden humán eredetű anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedések szerint kell kezelni. A kontrollkészlet **cobas®** CMV Control Kit emberi vérből származó plazmát tartalmaz. Az alapanyagot engedélyezett antitest-vizsgálattal tesztelték, és nem bizonyult reaktívnek HCV-, HIV-1/2- és HBc-antitest, valamint HBsAg jelenlétére. A normál humán plazma PCR-technikákkal történő vizsgálata során HIV-1 (M és O csoport) RNS, HIV-2 RNS, HCV RNS, HBV DNS, HEV RNS, WNV RNS vagy CMV DNS sem volt kimutatható. Egyetlen ismert vizsgálati módszer sem nyújthat teljes garanciát arra, hogy a humán vérkészítményekben nincs jelen fertőző anyag.
- Ügyeljen rá, hogy a mágneses üvegpartikulumok ne kerüljenek mágneses mezők közelébe.
- **Ne fagyassza a teljes vért és az elsődleges csövekben tárolt mintákat.**
- Az optimális vizsgálati feltételek biztosítása érdekében csak a mellékelt vagy a megadott szükséges fogyóeszközöket alkalmazza.
- A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a Roche helyi irodájában.
- A vizsgálat helyes kivitelezésének biztosítása végett szigorúan tartsa be a megadott eljárásokat és irányelveket. A megadott eljárásoktól és irányelvektől való bármilyen eltérés befolyásolhatja a vizsgálat teljesítményét.
- A kontrollkészlet **cobas®** CMV Control Kit dobozát tárolja álló helyzetben.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a minták átvitelét a mintakezelés és -feldolgozás során nem kontrollálják megfelelően.
- A **cobas x** 480 eszköz, illetve a **cobas z** 480 analízátor fertőzési kockázatának csökkentésére vonatkozó további figyelmeztetéseket, óvintézkedéseket és eljárásokat a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletében (korábbi nevén a rendszer kézikönyvében) találja. Ha szennyeződés gyanúja merül fel, végezzen tisztítást és heti karbantartást a **cobas®** 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint.
- Ha a vizsgálat használatakor súlyos nem várt esemény történik, tájékoztassa róla a helyi illetékes hatóságot.

Megjegyzés: A konkrét utasításokat a „Minták levétele, szállítása és tárolása” című részben találja.

Helyes laboratóriumi gyakorlat

- Ne pipetázzon szájjal.
- Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a laboratórium munkaterületén.
- Alaposan mosson kezet a minták és a készlet reagenseinek kezelése és kesztyűlevétel után.
- Viseljen szemvédőt, védőruhát és egyszer használatos védőkesztyűt minden reagens kezelése közben. Ezen anyagok bőrrel, szemmel és nyálkahártyával való érintkezése kerülendő. Ha mégis érintkezésbe kerülnek, azonnal öblítse le bő vízzel. Ellenkező esetben égés történhet. Ha reagens ömlik ki, mielőtt feltörölné, hígítsa vízzel.
- Gondosan tisztítson meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,5%-os nátrium-hipoklorit oldattal (1:10 arányban hígított háztartási fehérítőszer) fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Utána törölje át a felületet 70%-os etanollal.
- A laboratóriumban a **cobas® 4800** rendszer felhasználói segédletében meghatározott környezeti feltételeknek megfelelő, állandó hőmérsékletet tartson fenn.

Reagensek kezelése

- A mintákkal vagy kontrollokkal történő kontamináció elkerülése érdekében minden reagenst, kontrollt és mintát a helyes laboratóriumi gyakorlat szerint kezeljen.
- Felhasználás előtt szemrevételezzen minden reagensüveget és csövet, hogy nem tapasztal-e szivárgásra utaló jeleket. Szivárgás esetén azt az anyagot ne használja fel a vizsgálathoz.
- A lízispuffer **cobas® 4800** Lysis Buffer 2 guanidin-tiocianátot tartalmaz, ami potenciálisan veszélyes vegyület. Kerülje a reagens bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet.
- A minta-előkészítő készlet **cobas® CMV** és a **cobas® 4800** Sample Preparation Kit 2 nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként. Kerülje a reagens bőrrel, szemmel vagy nyálkahártyával való érintkezését. Ha mégis előfordul érintkezés, azonnal mossa le bő vízzel, mert ellenkező esetben égési sérülés történhet. Ha a reagens kiömlenek, szárazra törlés előtt hígítsa őket vízzel.
- Ügyeljen rá, hogy a guanidin-tiocianát tartalmú lízispuffer **cobas® 4800** Lysis Buffer 2 ne lépjen érintkezésbe nátrium-hipoklorit-oldattal (fehérítő). Az ilyen keverékből erősen mérgező gáz fejlődhet.

Szennyeződés

- A szennyeződés megelőzése érdekében viseljen kesztyűt, és a minták, valamint a **cobas® CMV**-reagensek kezelése között váltson kesztyűt. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére. A minták és a készlet reagenseinek kezelése közben viseljen kesztyűt, köpenyt és szemvédőt.
- Kerülje a reagens mikrobiális és ribonukleáz-szennyezését.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a mintakezelés során nem ügyel a minták átvitelének elkerülésére.

Felhasználhatóság

- Ne használja a készleteket a lejáratí idő után.
- Ne öntse össze a reagenseket.
- Ne használjon egyszer használatos anyagokat a lejáratí idő után.
- Az egyszer használatos termékeket csak egyszer szabad felhasználni. Ne használja újra.
- Valamennyi felszerelést a gyártó utasításai szerint megfelelően karban kell tartani.

Hulladékkezelés

- A cobas® CMV és a rendszer minta-előkészítı készlet cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 nátrium-azidot tartalmaz (lásd: „Figyelmeztetések és óvintézkedések”). A nátrium-azid az ólom- és rézcsövekkel reakcióba lépve erősen robbanékony fém-azidokat képezhet. Amikor nátrium-azid tartalmú oldatot önt ki a laboratóriumi mosogatóba, az azidlerakódás megakadályozása céljából nagy mennyiségű hideg vízzel öblítse le a lefolyót.
- A fel nem használt reagensek és hulladék kezelésének összhangban kell lennie a megfelelő országos, szövetségi, állami és helyi szabályozásokkal.

Megjegyzés: A folyékony hulladék hulladékkezelésének leírását a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében találja.

Kiömlés és tisztítás

- A cobas® 4800 lízispuffer 2 guanidin-tiocianátot tartalmaz. Ha guanidin-tiocianátot tartalmazó folyadék ömlik ki, megfelelő laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel tisztítsa fel. Ha potenciálisan fertőző anyagot tartalmazó folyadék ömlik ki, ELŐSZÖR laboratóriumi tisztítószerrel és vízzel, majd 0,5%-os nátrium-hipoklorit oldattal tisztítsa meg az érintett területet.
- Ha a cobas x 480 eszközre folyadék ömlik, a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletének utasításai alapján tisztítsa meg.
- Ne használjon nátrium-hipoklorit oldatot (fehérítőszert) a cobas x 480 eszköz vagy a cobas z 480 analízátor tisztításához. A cobas x 480 eszközt vagy a cobas z 480 analízátort a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletének utasításai szerint tisztítsa meg.

Minták levétele, szállítása és tárolása

- Az összes mintát az előírt hőmérséklet-tartományban tárolja.
- A minták stabilitását a magasabb hőmérséklet befolyásolja.
- Ha a másodlagos csövekben fagyasztott mintákat használ, tartsa őket szobahőmérsékleten (15–30 °C), amíg teljesen ki nem olvadnak, majd rövid ideig keverje (pl. 3–5 másodpercig vortexelje) és utána centrifugálja, hogy a minta teljes térfogata a cső aljára kerüljön.

Megjegyzés: Valamennyi mintát fertőző anyag átvitelére alkalmasként kell kezelni.

Mintavétel

A vért molekulárdiagnosztikai tesztmodszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő vagy lila kupakos csövekbe, illetve EDTA véralvadásgátlót tartalmazó steril csövekbe vegye le.

Megjegyzés: A felhasználó a plazma előkészítése során mindig kövesse a csövek gyártójának utasításait.

Minták szállítása, tárolása és stabilitása

- A molekulárdiagnosztikai tesztmodszerekhez való BD Vacutainer® PPT™ plazma-előkészítő vagy lila kupakos csövekbe, illetve EDTA véralvadásgátlót tartalmazó steril csövekbe levett teljes vért 36 órán belül 2 °C és 25 °C között lehet tárolni és/vagy szállítani a plazma-előkészítés és az azt követő vizsgálat előtt.
- Másik lehetőségként, a plazmamintákat az elsődleges csövekben legfeljebb 36 órán át 2 °C és 25 °C között, illetve legfeljebb 6 napon át 2 °C és 8 °C között lehet tárolni.
- A plazmamintákat a másodlagos csövekben legfeljebb 36 órán át 2 °C és 30 °C között, legfeljebb 6 napon át 2 °C és 8 °C között vagy legfeljebb 6 héten át –15 °C és –25 °C között lehet tárolni. Az elválasztott plazmaminták a másodlagos csövekben legfeljebb három fagyasztás/olvasztás ciklusban maradnak stabilak –15 °C és –25 °C közötti hőmérsékleten fagyasztva történő tárolás esetén.
- Ha a mintákat szállítani kell, a minták és kórokozó anyagok szállítására vonatkozó országos és/vagy nemzetközi előírásoknak megfelelően kell csomagolni és címkézni.

Használati utasítás

A teszt futtatása

A cobas® CMV mintafeldolgozási térfogata 400 µl.

1. ábra: A cobas® CMV munkafolyamat

1	A rendszer indítása
2	Az eszköz karbantartásának elvégzése
3	A tárolt minták és reagensek elővétele
4	A futtatás indítása
5	A paraméterkártyák olvasása
6	A minták betöltése
7	LIS esetén: a vizsgálatkérés jóváhagyása LIS nélkül: a vizsgálatkérés létrehozása
8	A fogyóeszközök (mély lyukú lemez, kislyukú lemez, hegyállványok) betöltése
9	A reagensek betöltése
10	Indítsa a minta-előkészítési futtatást
11	A kislyukú lemez eltávolítása és lezárása
12	A kislyukú lemez analízátorba helyezése
13	A minták, használt reagensek és mély lyukú lemez eltávolítása
14	Az eredmények áttekintése
15	LIS esetén: az eredmények LIS-be küldése
16	Az eszközök és anyagok kivétele az analízátorból

Megjegyzés: A részletes üzemeltetési utasításokat a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében találja.

Futtatási mennyiség

Az általános minta-előkészítési reagensek (cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, cobas® 4800 System Lysis Kit 2 és cobas® 4800 System Wash Buffer Kit) kétféle méretű készletben érhetők el. Mindkettő 10 futtatásra alkalmas, egyszerre legfeljebb 24, illetve 96 mintával, amibe beletartoznak a futtatandó kontrollok és minták. A cobas® CMV egyféle méretű készletben érhető el, és legfeljebb 120 (10 × 12) minta tesztelésére alkalmas (beleértve a kontrollokat és mintákat).

A kontrollkészlet cobas® CMV Control Kit egyféle méretű készletben érhető el, és támogatja az összes lehetséges futtatási konfigurációt. Minden mintacsoporthoz egy CMV alacsony pozitív kontrollt, egy CMV magas pozitív kontrollt és egy negatív kontrollt kell használni. Egy tesztfuttatásban legfeljebb 93 minta és 3 kontroll megengedett.

Az 1. ábra foglalja össze az eljárást.

Megjegyzés: A reagensek optimális felhasználása érdekében az általános minta-előkészítési reagenseket összesen 1–21 mintát tartalmazó futtatáshoz lehet használni (10 × 24-es tesztkészlet-méret) vagy összesen 1–93 mintához (10 × 96-os tesztkészlet-méret). A mosófolyadék-készlet cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, a minta-előkészítő készlet cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 és a líziskészlet cobas® 4800 System Lysis Kit 2 különböző méretei azonban nem kombinálhatók. Ha például a futtatás kezdetén a 96-tesztes mosópuffer reagensüvegét olvassa be, a többi minta-előkészítési reagenskészletből is 96 teszthez való reagenseket használjon.

Munkafolyamat

A **cobas**® CMV teszt kivitelezése a **cobas**® 4800 szoftver teljes munkafolyamatának használatával történik. Ez minta-előkészítési lépésből áll a **cobas x 480** eszközön, amit amplifikálási/kimutatási lépés követ a **cobas z 480** analizátoron. A **cobas**® CMV-t végezheti külön, vagy vegyes mintacsoportban olyan tesztekkel, amelyek ugyanazt az automatizált mintaextrahálási eljárást és PCR-profilt igénylik az amplifikáláshoz és kimutatáshoz. A vizsgálat kiválasztási lépése során a szoftverben a **cobas**® CMV vegyes mintacsoportos üzemmódjával kompatibilis vizsgálatok jelennek meg. Részleteket a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédlet szoftverének talál.

1. A rendszer üzembe helyezését a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint végezze.
2. A karbantartási eljárásokat a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint végezze el.
3. Készítse ki az összes szükséges reagenst és fogyóeszközt. A CMV MMX R2 és MMX R1 kivételével a **cobas x 480** eszközbe történő betöltés előtt minden reagensnek szoba-hőmérsékletűnek kell lennie. A CMV MMX R2 és MMX R1 reagenst a 2–8 °C-os tárolásból közvetlenül is kiveheti, mert a folyamatban való felhasználásuk előtt a **cobas x 480** eszközben töltött idő alatt felveszik a szobahőmérsékletet.

Megjegyzés: Minden reagens és reagenstároló vonalkóddal van ellátva, és egyszeri használatra tervezve. A **cobas**® 4800 szoftver nyomon követi a reagensek és reagenstárolók felhasználását, és nem fogadja el a korábban már használt reagenzeket és reagenstárolókat.

4. Indítson új futtatást, és válassza a CMV munkafolyamat-típust. Vegyes mintacsoportos üzemeltetéshez a CMV-n felül válassza ki a megfelelő munkafolyamat-típusokat (azaz HIV-1, HCV vagy HCV GT).
5. Kövesse a szoftvervarázsló útmutatóját, és olvassa be a kontrolltartományokat és kalibrációs együtthatókat tartalmazó kártyák vonalkódját.

Megjegyzés: Csak a nem lejárt reagensek paraméterkártyáit olvassa be. A szoftver nem ellenőrzi a paraméterkártyák reagenslejárati dátumait. A megfelelő vonalkód-azonosító beolvasása előtt ellenőrizze a paraméterkártyára vagy a reagenskészletre nyomtatott lejárati dátumot.

6. Töltse be a mintákat. Elsődleges vagy másodlagos mintacsöveket lehet betölteni, és a minimális mintatérfogot a cső típusától és méretétől függ.
7. Hozza létre a vizsgálatkérést. Háromféleképpen hozhat létre vizsgálatkérést:
 - A mintaszerkesztő használatával, mielőtt bármilyen mintaállványt a **cobas x 480** eszközbe helyez („Editor” gomb a főmenü jobb oldalán). A vizsgálatkérést szükség szerint mentheti, szerkesztheti és újratöltheti. A kért eredmények kiválasztásakor válassza a „CMV” lehetőséget.
 - A szoftvervarázsló új futtatáshoz történő használatával. Ebben az esetben a mintákat akkor tölti be a **cobas x 480** eszközbe, amikor a varázsló erre felszólítja. A rendszer automatikusan beolvassa a minták vonalkódjait, és minden mintához meg kell határozni a kért eredményeket. A kért eredmények kiválasztásakor válassza a „CMV” lehetőséget.
 - Az intézmény LIS-rendszerének használatával.

További részleteket a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédletében talál. Töltse be a mintákat, és határozzon meg vagy válasszon egy vizsgálatkérést, illetve használja a LIS-t.

8. Töltse be a fogyóeszközöket a szoftvervarázsló utasításai szerint. Ne töltsön be vagy távolítsa el külön hegyeket részben használt hegyállványra vagy hegyállványról, mivel a szoftver nyomon követi a fennmaradó hegyek számát. Ha nincs elég hegy az adott futtatáshoz, a szoftver figyelmezteti a felhasználót.
9. Töltse be a reagenseket.

Töltse be a minta-előkészítési reagenseket a vonalkóddal ellátott reagenstárolókba. A reagenstárolók két méretben állnak rendelkezésre: 200 ml és 50 ml. Kövesse a szoftvervarázslót a reagenstárolók megfelelő méretének kiválasztásához. A reagenstároló vonalkódja a hordozó jobb oldala felé kell, hogy nézzon. „Beolvas-beolvas-beönt-behelyez” módszerrel töltse be a minta-előkészítési reagenseket:

- Olvassa be a reagensüveg vonalkódját
- Olvassa be a reagenstároló vonalkódját
- Öntse be a reagenst a tárolóba
- Helyezze be a feltöltött reagenstárolót a reagenshordozó megfelelő pozíciójába

Megjegyzés: A cobas® 4800 rendszer belső órával méri a reagensek készülékben töltött idejét. A LYS 2 vagy WB beolvasásától számítva 1 óra áll rendelkezésre a betöltési eljárás elvégzésére és a „Start” gomb megnyomására. A „Workplace” lapon visszaszámláló jelenik meg. A rendszer a belső időkorlát letelte után nem engedi a futtatás indítását.

Megjegyzés: Az MGP pontos átvitelének érdekében közvetlenül a reagenstárolóba mérés előtt vortexelje vagy alaposan rázza fel az MGP-reagenscsövet.

10. Töltse be az amplifikálási/kimutatási reagenscsöveket (CMV MMX R2, MMX R1 és DNA QS), a kontrollcsöveket [CMV L(+), CMV H(+), C és (-)C] és a generikus reagenscsöveket (P 2, szükség szerint) közvetlenül a reagenshordozóba.

Megjegyzés: A futtatás felesleges megszakítása és a szennyeződés megelőzése érdekében pöccintse meg a reagenscsöveket, hogy ne képződjenek buborékok vagy folyadékfilmek. A kontrollokat a legközelebb elhelyezettekkel kezdve kell megnyitni (a 24-es pozíciótól az 1-esig). A pozitív kontrollok kezelése után cseréljen kesztyűt.

11. Indítsa a minta-előkészítési futtatást. A sikeres minta-előkészítési futtatás után aktív lesz a „Sample Preparation results” (Minta-előkészítés eredményei) és az „Unload” (Eltávolítás) gomb. Ha kívánja, a „Sample Preparation results” gomb kiválasztásával áttekintheti az eredményeket, majd válassza ki az „Unload” gombot a lemez hordozók eltávolításához. Az eredmények áttekintése nélkül is eltávolíthatja a lemez hordozót, ha kiválasztja az „Unload” gombot. További információkat a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében talál.
12. Miután a mikrolemezt kivette, kövesse a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletének utasításait a lemez lezárása és cobas z 480 analízátorba történő átvitele során.
13. Töltse be a mikrolemezt az analízátorba, és a cobas® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírtak szerint indítsa el az amplifikálást és kimutatást.

Megjegyzés: A cobas® 4800 rendszer belső órával méri az előkészített minták aktivált Master Mix reagenshez adása óta eltelt időt. Az amplifikálást és kimutatást minél hamarabb, de nem később mint 40 perccel a cobas x 480 eszköz futásának befejezése után meg kell kezdeni. A „Workplace” lapon visszaszámláló jelenik meg. A rendszer a visszaszámláló lejártá után megszakítja a futtatást.

14. A **cobas**® 4800 felhasználói segédletében leírtak szerint távolítsa el a mintákat, a használt reagenseket és a mély lyukú lemezeket.
15. Az amplifikálás és kimutatás elvégzése után kövesse a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédlet szoftverének az eredmények áttekintésére és elfogadására vonatkozó utasításait.
16. Ha LIS-sel dolgozik, küldje az eredményeket az LIS-be.
17. A mikrolemez **cobas z** 480 analizátorból történő kivétele során kövesse a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédlet szoftverének utasításait.

Eredmények

A **cobas**® 4800 rendszer automatikusan meghatározza a minták és kontrollok CMV DNS-koncentrációját. A CMV-DNS-koncentráció mértékegysége a milliliterenkénti nemzetközi egység (IU/ml).

Minőség-ellenőrzés és az eredmények érvényessége

- Minden feldolgozott mintacsoportba tartozik egy negatív kontroll [(-)C2] és két pozitív kontroll, egy alacsony pozitív kontroll [CMV L(+)C] és egy magas pozitív kontroll [CMV H(+)C].
- A **cobas**® 4800 szoftverben és/vagy jelentésben ellenőrizzé, hogy a mintacsoport érvényes-e.
- A **cobas**® 4800 automatikusan érvényteleníti az eredményeket a negatív és pozitív kontrollok helytelen jelzői alapján.

Kontrolleredmények értékelése

1. táblázat: A negatív és pozitív kontrollok eredményeinek értékelése

Negatív kontroll	Eredmény	Értelmezés
(-)C2	Target Not Detected	A kontroll érvényes. Nincs kimutatható CMV-DNS.
	Invalid	Érvénytelen eredmény, vagy a negatív kontroll számított titereredménye nem negatív.
Pozitív kontroll	Eredmény	Értelmezés
CMV L(+)C	Titer	A kontroll érvényes. A számított titer a kontrolltartományban van.
	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy az alacsony pozitív kontroll számított titer eredménye nem esik a megadott tartományba.
CMV H(+)C	Titer	A kontroll érvényes. A számított titer a kontrolltartományban van.
	Invalid	Érvénytelen eredmény vagy a magas pozitív kontroll számított titer eredménye nem esik a megadott tartományba.

Eredmények értelmezése

Megjegyzés: Minden vizsgálat és mintacsoport érvényességét a cobas® 4800 szoftver határozza meg.

Megjegyzés: Egy érvényes mintacsoport érvényes és érvénytelen mintaeredményeket is tartalmazhat.

A szoftver az érvényes csoporthoz a minták eredményeit a 2. táblázat szerint értelmezi.

2. táblázat: Az egyes céleredmények értelmezése

cobas® CMV	Eredményjelentés és -értékelés
Target Not Detected	Nincs kimutatható CMV-DNS. Az eredmény a jelentésben „Nincs kimutatható CMV”.
< Titer Min	A számított titer a vizsgálat alsó mennyiségi számszerűsítési határa (LLoQ) alatt van. Az eredmény a jelentésben „A kimutatott CMV titere nem éri el a minimális értéket”. Titer min = 3,45E+01 IU/ml
Titer	A számított titer a teszt lineáris tartományába esik: legalább Titer Min, és legfeljebb Titer Max. Az eredmény a jelentésben „Adott titerű CMV mutatható ki”.
> Titer Max ^a	A számított titer a vizsgálat felső mennyiségi számszerűsítési határa (ULoQ) fölött van. Az eredmény a jelentésben „A kimutatott CMV titere meghaladja a maximális értéket”. Titer max = 1,00E+07 IU/ml

^a A minta eredménye „> Titer Max” olyan kimutatott CMV-pozitív titert jelent, ami meghaladja a felső mennyiségi számszerűsítési határt (ULoQ).
Ha kvantitatív eredményekre van szükség, az eredeti mintát hígítsa CMV-negatív EDTA-s plazmával az eredeti minta típusa szerint, és ismételje meg a tesztet. Szorozza meg a mért eredményt a hígítási faktoral.

Jelzők listája

A következő táblázat minden olyan jelzőt tartalmaz, amely az eredmények értékelése szempontjából releváns.

3. táblázat: Jelzők listája

Jelzőkód	Leírás	Javaolt teendő
R4800	A cél számítási hiba miatt érvénytelen.	A cél számítási hiba miatt érvénytelen. 1. Futtassa újra a mintát. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
R4801	A mennyiségi meghatározási standard érvénytelen.	Egy minta mennyiségi meghatározási standardja érvénytelen. 1. Futtassa újra a mintát. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
R4802	Egy külső kontroll érvénytelen.	Egy külső kontroll érvénytelen. ^a 1. Ismétlje az egész futtatást friss reagensekkel. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
R4803	A mennyiségi meghatározási standard érvénytelen.	Egy külső kontroll mennyiségi meghatározási standardja érvénytelen 1. Ismétlje az egész futtatást friss reagensekkel. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
R4804	A külső kontroll a tartományon kívül van.	A külső kontroll a tartományon kívül van. ^b 1. Ismétlje az egész futtatást friss reagensekkel. 2. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba a Roche szervizével.
X3	Hiba: A rendszer rögöt észlelt. A minta feldolgozása nem történt meg.	Gondoskodjon róla, hogy a minták kezelése a munkafolyamat leírása szerint történjen. 1. Ellenőrizze, hogy van-e a mintában rög. 2. Futtassa újra a mintát.
X4	Hiba: Pipettázási hiba történt. A minta feldolgozása nem történt meg.	A legvalószínűbb ok az elégtelen mintamennyiség vagy mechanikai hiba a pipettázás során. 1. Gondoskodjon az elegendő mintamennyiségről. 2. Ellenőrizze, hogy a használt hegyek tálcáját megfelelően helyezték-e el. 3. Futtassa újra a mintát.

^a Ez egy mintajelző, ami akkor keletkezik, amikor a futtatásban egy külső kontrollt érvénytelen.

^b Ez a jelző minden olyan esetet tartalmaz, amelyekben a külső kontroll érvénytelen (célhívás vagy titer).

Megjegyzés: A fennmaradó rendszerjelzők leírását a cobas® 4800 felhasználói segédletében találja.

Az eljárással kapcsolatos korlátozások

1. A **cobas**® CMV tesztet csak a kontrollkészlettel **cobas**® CMV Control Kit, minta-előkészítő készlet **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, líziskészlet **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 és a mosófolyadék-készlet **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit oldatokkal együtt használva vizsgálták.
2. A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, szállításon, tároláson és feldolgozáson múlik. Kövesse a jelen használati útmutatóban (más néven terméktájékoztatóban) és a **cobas**® 4800 rendszer felhasználói segédletében leírt eljárásokat.
3. Ezt a tesztet csak EDTA-s plazmával való használatra validálták. Más típusú minták tesztelése pontatlan eredménnyel járhat.
4. A CMV DNS mennyiségi meghatározása a mintában jelenlévő víruspartikulumoktól függ, ezért befolyásolhatják a mintavételi módszerek, betegfaktorok (azaz kor, tünetek megléte) és/vagy a fertőzés stádiuma.
5. Ritkán bár, de előfordulhat, hogy a **cobas**® CMV primerei és/vagy próbái által lefedett virális genom nagy fokban konzervált régiókban lévő mutációk következtében a vírusrészlet kevesebbnek adódik, vagy a vírus kimutatása sikertelen lesz.
6. A vizsgálat prediktív értéke a betegség előfordulási arányától függ az adott populációban.
7. Az AmpErase enzim hozzáadása a **cobas**® CMV Master Mixhez lehetővé teszi a targetnukleinsav szelektív amplifikálását, ugyanakkor a reagensek és amplifikálási keverékek szennyeződésének elkerüléséhez a helyes laboratóriumi gyakorlat és ezen használati útmutatóban meghatározott eljárások gondos betartása szükséges.
8. A terméket csak a PCR-technikák alkalmazására és a **cobas**® 4800 rendszer használatára kiképzett dolgozók használhatják.
9. Csak a **cobas x** 480 eszközt és a **cobas z** 480 analizátort validálták a termékkel való használatra. A termékkel nem használható más minta-előkészítő eszköz vagy PCR rendszer.
10. A technológiák különbözősége miatt javasolt, hogy az egyik technológiáról a másikra áttéréskor a felhasználók végezzenek korrelációs laboratóriumi vizsgálatokat, hogy a technológiák közötti különbség minősíthető legyen. A felhasználóknak a helyi specifikus irányelveket/eljárásokat kell követniük.
11. A keresztszennyeződés álopozitív eredményeket okozhat. A **cobas**® CMV tesztnél a minták közötti keresztszennyeződés arányát egy nem klinikai vizsgálatban 0,0%-osnak találták. Nem figyeltek meg futtatások közötti keresztszennyeződést.
12. A **cobas**® CMV tesztnek nem célja a vér és vérvérsejtek CMV-fertőzöttségének szűrése vagy diagnosztikus vizsgálatként való használata CMV-fertőzés jelenlétének megerősítésére.

A nem klinikai teljesítmény értékelése

A fontosabb teljesítményjellemzők

Kimutatási határ (LoD)

A **cobas**® CMV kimutatási határát (LoD) a WHO nemzetközi szabvány (Merlin törzsből származó, glikoprotein B, 1-es genotípus) sorozathígításainak elemzésével állapították meg, és a gB-2-es, gB-3-as és gB-4-es glikoprotein B genotípusra, valamint gyógyszerrezisztens CMV-mintákon ellenőrizték. Az EDTA plazmához tartozó kimutatási határ 34,5 IU/ml.

WHO Nemzetközi standard

A **cobas**® CMV kimutatási határát a WHO NIBSC-től származó 1. nemzetközi HCMV (humán cytomegalovírus DNS-e nukleinsav-amplifikációs tesztekhez) standardja²⁸ sorozathígításainak elemzésével állapították meg CMV-negatív humán EDTA-s plazmában. Hét koncentrációsintből és egy referenciamintából álló paneleket teszteltek a **cobas**® CMV tesztreagensek három gyártási tételével több futtatásban, napon, kezelővel és készüléken.

Az eredményeket a 4. táblázatban tartalmazza. A vizsgálat szerint a **cobas**® CMV a PROBIT elemzéssel 20,5 IU/ml koncentrációnál $\geq 95\%$ -os találati aránnyal mutatja ki a CMV-DNS-t.

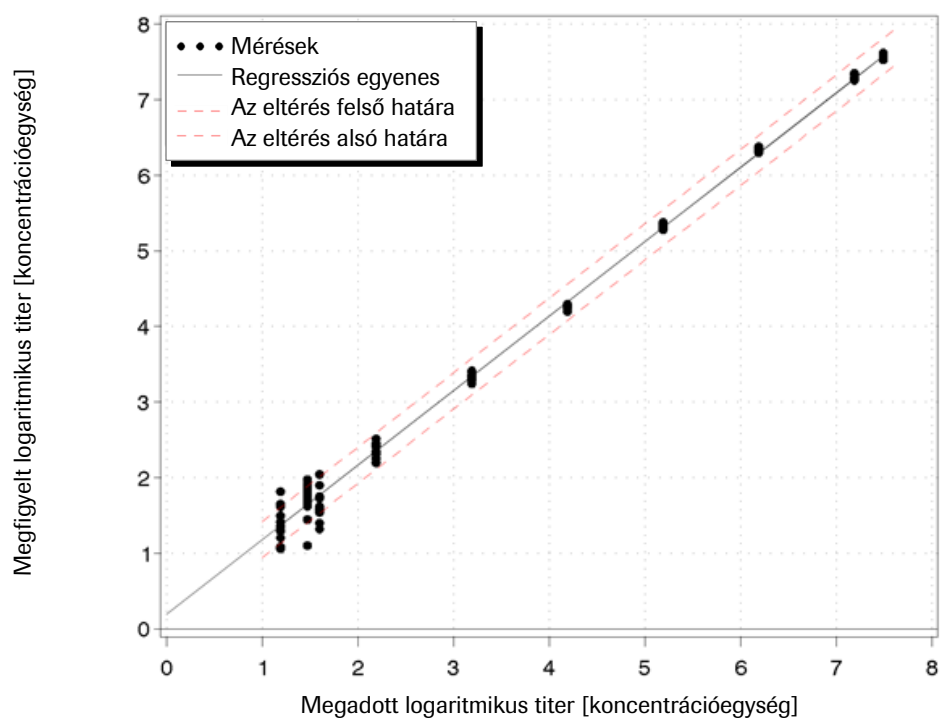
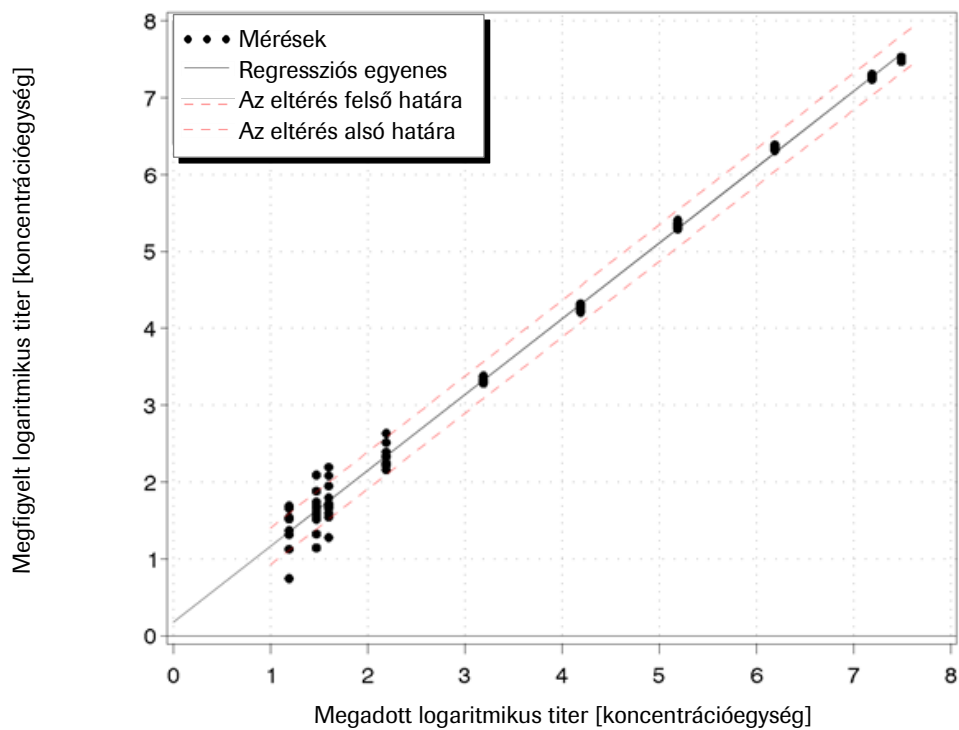
4. táblázat: Kimutatási határ

Bemeneti titer koncentrációja (CMV-DNS, IU/ml)	Érvényes ismétlések száma	Pozitívok száma	Találati arány (%)
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 PROBIT szerinti 95% találati arány mellett	20,5 IU/ml (95%-os CI: 16,9–23,3 IU/ml)		

Lineáris tartomány

A **cobas**® CMV linearitását 10 paneltagból álló hígítási sorozat elemzésével végezték, ahol a CMV gB-1 genotípusának DNS-koncentrációja lefedte a teszt lineáris tartományát ($1,55\text{E}+01$ – $3,11\text{E}+07$ IU/ml). A **cobas**® CMV tesztreagensek két gyártási tételét használták, és gyártási tételenként minden paneltagot 12 ismétlésben teszteltek; a vizsgálat reprezentatív eredményeit a következő ábrák jelenítik meg: 2. ábra és 3. ábra.

Az adatok lineáris viselkedést mutattak $1,55\text{E}+01$ – $3,11\text{E}+07$ IU/ml közötti tartományban. A **cobas**® CMV adott lineáris tartománya $34,5$ – $1,0\text{E}+07$ IU/ml között van.

2. ábra: 1. gyártási tétel linearitása**3. ábra:** 2. gyártási tétel linearitása

Pontosság – laboratóriumon belül

A cobas® CMV pontosságát a CMV gB-1 genotípusának DNS-sorozathígításainak elemzésével állapították meg. Hat hígítási szintet vizsgáltak szintenként 90 ismétléssel a cobas® CMV reagensek három gyártási tételével, két készüléken és négy kezelővel, 15 napon keresztül. Minden mintát végigvittek a teljes cobas® CMV eljárás a cobas® 4800 rendszeren. Ezért az itt közölt pontosság a vizsgálati eljárás valamennyi aspektusát reprezentálja. Az eredményeket a 5. táblázatban tartalmazza.

A cobas® CMV nagy pontosságot mutatott a reagensek három gyártási tételén az $3,90\text{E}+01$ – $1,52\text{E}+06$ IU/ml koncentrációtartományban.

5. táblázat: A cobas® CMV laboratóriumi pontossága*

Névleges koncentráció (IU/ml)	Megadott koncentráció (IU/ml)	1. gyártási tétel	2. gyártási tétel	3. gyártási tétel	Minden gyártási tétel
		SD	SD	SD	Poolozott SD
$1,80\text{E}+06$	$1,55\text{E}+06$	0,04	0,04	0,04	0,04
$1,80\text{E}+05$	$1,55\text{E}+05$	0,05	0,03	0,05	0,04
$1,80\text{E}+04$	$1,55\text{E}+04$	0,06	0,04	0,06	0,05
$1,80\text{E}+03$	$1,55\text{E}+03$	0,06	0,05	0,04	0,05
$1,80\text{E}+02$	$1,55\text{E}+02$	0,13	0,10	0,13	0,12
$4,60\text{E}+01$	$3,97\text{E}+01$	0,17	0,15	0,24	0,19

* A titeradatokat logaritmikusan normál eloszlásúnak tekintették, és $\log_{10}$ transzformáció után elemezték. A szórást (Standard Deviation – SD) tartalmazó oszlopok a logaritmikusan transzformált titerek összesítését tartalmazzák mind a három reagenstételre.

Genotípus szerinti ellenőrzés

A cobas® CMV teljesítményét a CMV genotípusokon a következőkkel értékelték ki:

- A kimutatási határ ellenőrzése a 2–4-es glikoprotein B genotípusok esetén
- A lineáris tartomány ellenőrzése a 2–4-es genotípus esetén

A kimutatási határ ellenőrzése a gB-2-es, gB-3-as és gB-4-es glikoprotein B genotípus esetén

A CMV-sejttenyészet-felülúszókat két különböző glikoprotein B genotípushoz (gB-2 és gB-3), a CMV DNS plazmidot glikoprotein B, 4-es genotípushoz (gB-4) hígítottak CMV-negatív EDTA-s plazmában. A találati arány megállapítását minden koncentrációsint esetén 42 ismétléssel végezték. A tesztelést a cobas® CMV reagensek egy gyártási tételével végezték. Az eredményeket a 6. táblázatban tartalmazza. Az eredmények szerint a cobas® CMV $\geq 95\%$ -os találati aránnyal mutatta ki a CMV-DNS három különböző genotípusát $34,5$ IU/ml koncentrációnál

6. táblázat: A gB-2-es, gB-3-as és gB-4-es CMV glikoprotein B genotípusok kimutatási határának (LoD) ellenőrzése

Glikoprotein B genotípus	Találati arány $34,5$ IU/ml
gB-2	100,0%
gB-3	100,0%
gB-4	100,0%

A lineáris tartomány ellenőrzése a gB-2-es, gB-3-as és gB-4-es glikoprotein B genotípus esetén

A lineáris tartomány ellenőrzéséhez használt hígítási sorozat (CMV glikoprotein B, 1-es genotípus által megállapítva) az összes CMV glikoprotein B genotípus (gB2, gB3 és gB4) esetén hét paneltagból áll, amelyek lefedik a célzott lineáris tartományt. A tesztelést a **cobas®** CMV reagens egy gyártási tételével végezték; szintenként 12 ismétlést teszteltek EDTA-s plazmában.

A **cobas®** CMV lineáris tartományát mind a három genotípusra (gB-2, gB-3 és gB-4) ellenőrizték. A lineáris regresszió és a jobban illeszkedő nemlineáris regresszió közötti maximális eltérés legfeljebb 0,06 log₁₀ volt.

Gyógyszerrezisztens CMV-minták ellenőrzése

A **cobas®** CMV teljesítményét gyógyszerrezisztens CMV-mintákon a következőkkel értékelték ki:

- A kimutatási határ ellenőrzése gyógyszerrezisztens CMV-mintákon (rezisztencia a következőkkel szemben: Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir vagy Foscarnet)
- A lineáris tartomány ellenőrzése gyógyszerrezisztens CMV-mintákon (rezisztencia a következőkkel szemben: Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir vagy Foscarnet)

A kimutatási határ ellenőrzése gyógyszerrezisztens CMV-mintákon (rezisztencia a következőkkel szemben: Foscarnet vagy Ganciclovir, Valganciclovir vagy Cidofovir)

Két különböző gyógyszerrezisztens CMV-minta (rezisztencia a következőkkel szemben: Foscarnet vagy Ganciclovir, Valganciclovir vagy Cidofovir) CMV-sejttenyésztés-felülűszoját hígították CMV-negatív EDTA-s plazmában. A találati arány megállapítását minden koncentrációsint esetén 42 ismétléssel végezték. A tesztelést a **cobas®** CMV reagens egy gyártási tételével végezték. Az eredményeket a 7. táblázatban tartalmazza. Az eredmények szerint a **cobas®** CMV $\geq 95\%$ -os találati aránnyal mutatta ki a CMV-DNS-t az általános CMV-gyógyszerekkel szemben ellenálló összes vizsgált mintában 34,5 IU/ml koncentrációnál.

7. táblázat: A CMV kimutatási határának ellenőrzése gyógyszerrezisztens mintákon

Rezisztencia-fenotípus	Találati arány 34,5 IU/ml
Foscarnet	100,0%
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	100,0%

A lineáris tartomány ellenőrzése gyógyszerrezisztens CMV-mintákon (rezisztencia a következőkkel szemben: Foscarnet vagy Ganciclovir, Valganciclovir vagy Cidofovir)

Az általános CMV-gyógyszerekkel szemben ellenálló mintákon a lineáris tartomány (a CMV glikoprotein B 1-es genotípussal megállapítva) ellenőrzéséhez használt hígítási sorozat hét paneltagból áll, amelyek lefedik a célzott lineáris tartományt. A tesztelést a **cobas®** CMV reagens egy gyártási tételével végezték; szintenként 12 ismétlést teszteltek EDTA-s plazmában.

A **cobas®** CMV lineáris tartományát az általános CMV-gyógyszerekkel szemben ellenálló összes vizsgált mintán ellenőrizték. Mindkét vizsgált gyógyszerrezisztens minta esetében a lineáris regresszió volt a legjobban illeszkedő modell.

Analitikai specifikitás

A **cobas**® CMV analitikai specifikitását egy kórokozópánel (8. táblázat) hígításával vizsgálták CMV DNS-pozitív és CMV DNS-negatív EDTA-s plazmával. A kórokozókat negatív EDTA-s plazmához adták, és CMV DNS-sel, illetve nélküle tesztelték. Minden CMV-target nélküli kórokozómintára negatív eredményt kaptak a **cobas**® CMV teszttel, és minden CMV-targetet tartalmazó mintára pozitív lett az eredmény. Ezen felül a potenciálisan keresztreakáló organizmusokat tartalmazó pozitív CMV-minták mindegyikének az átlagos $\log_{10}$ titer értéke $\pm 0,10 \log_{10}$ eltérésen belül volt az adott pozitívra oltott minta átlagos $\log_{10}$ titeréhez képest.

8. táblázat: Keresztreaktivitásra vizsgált kórokozók

Vírusok	Baktériumok	Gombák
Epstein-Barr vírus (EBV)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Hepatitis B vírus (HBV)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis C vírus (HCV)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humán immundeficiencia vírus 1-es típus (HIV-1)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Humán immundeficiencia vírus 2-es típus (HIV-2)	<i>Enterococcus faecalis</i>	
Herpes simplex vírus 1-es típus (HSV-1)	<i>Escherichia coli</i>	
Herpes simplex vírus 2-es típus (HSV-2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Humán herpeszvírus 6-os típus (HHV-6)	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Humán herpeszvírus 7-os típus (HHV-7)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Humán herpeszvírus 8-os típus (HHV-8)	<i>Chlamydia trachomatis</i>	
Adenovírus 5-ös típus	<i>Listeria monocytogenes</i>	
JC vírus	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Parvovírus B19	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
BK polyomavírus	<i>Mycobacterium avium</i>	
Varicella-zoster vírus (VZV)	<i>Clostridium perfringens</i>	
Humán papilloma vírus (HPV)		

Analitikai specifikitás – zavaró anyagok

Magas triglicerid (33,0 g/l), konjugált bilirubin (0,2 g/l), nem konjugált bilirubin (0,2 g/l), albumin (60,0 g/l), hemoglobin (2,0 g/l) és humán DNS (2 mg/l) tartalmú mintákat tesztelték CMV-DNS jelenlétében, illetve hiányában. A vizsgált anyagok nem mutattak zavaró hatást a **cobas**® CMV teszt teljesítményével. Ezen felül a szisztémás lupus erythematosus (SLE) és reumatoid arthritis (RA) autoimmun betegségek markerei, illetve az antinukleáris antitest (ANA) jelenlétét is vizsgálták.

A 9. táblázatban felsorolt gyógyszervegyületeket is vizsgálták a C_{max} háromszorosánál, CMV-DNS jelenlétében, illetve hiányában.

A vizsgálat minden potenciálisan zavaró anyagról kimutatta, hogy nincs hatással a teszt teljesítményére. A **cobas**® CMV teszttel minden CMV-target nélküli mintára negatív eredményt kaptak, és minden CMV-targetet tartalmazó mintára pozitív lett az eredmény. Ezen felül a potenciálisan zavaró anyagokat tartalmazó pozitív CMV-minták mindegyikének az átlagos $\log_{10}$ titer értéke $\pm 0,36 \log_{10}$ eltérésen belül volt az adott pozitívra oltott minta átlagos $\log_{10}$ titeréhez képest.

9. táblázat: A cobas® CMV teszt CMV-DNS mennyiségi meghatározását esetlegesen zavaró gyógyszervegyületek vizsgálata

Gyógyszerosztály	Gyógyszer generikus neve	
Antimikrobiális	Cefotetan	Sulfamethoxazol
	Kálium-klavulanát	Ticarcillin dinátrium
	Flukonazol	Trimethoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam nátrium	
Herpes vírusok kezelésére szolgáló vegyületek	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
Immunszuppresszív szerek	Azathioprin	Mikofenolsav
	Cyclosporin	Prednizon
	Everolimus	Sirolimus
	Mycophenolát mofetil	Tacrolimus

Teljes rendszerhiba

A cobas® CMV teljes rendszerhiba-arányát CMV-targettel oltott EDTA-s plazma 100 ismételéssel határozták meg. Ezeket a mintákat körülbelül $3 \times \text{LLoQ}$ (10^4 IU/ml) targetkoncentrációnál vizsgálták.

A vizsgálat eredményei szerint az összes ismételés érvényes és CMV-pozitív volt, vagyis a teljes rendszerhiba aránya 0,0% volt. A kétoldali 95%-os pontos konfidenciaintervallum 0,0% volt az alsó határra, és 3,6% a felső határra [0,0%: 3,6%].

Keresztszennyeződés

A cobas® CMV keresztszennyeződési arányát CMV-negatív EDTA-s plazmaminták 230 ismételéssel és egy magas titerű ($1,4\text{E}+07$ IU/ml) CMV-minta 233 ismételéssel határozták meg. Összesen öt futtatást végeztek pozitív és negatív mintákkal, sakktáblaszerű konfigurációban.

A negatív minták mind a 230 ismételése érvényes volt és negatív eredményt adott, vagyis a keresztszennyeződési arány 0,0% volt egyoldali, 1,3% értékű 95%-os konfidenciaintervallummal.

Klinikai teljesítmény értékelése

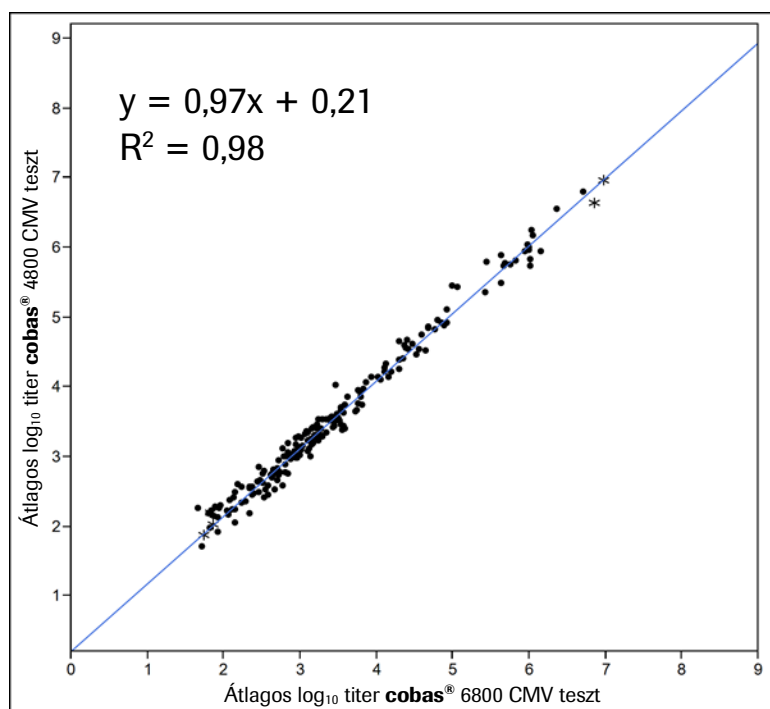
Módszerkorreláció

A cobas® 4800 rendszeren futtatható cobas® CMV teszt teljesítményének értékelése a cobas® 6800/8800 rendszereken futtatható cobas® CMV teszthez viszonyítva

A cobas® 4800 rendszeren futtatható cobas® CMV teszt és a cobas® 6800/8800 rendszereken futtatható cobas® CMV teszt teljesítményének összehasonlítását CMV-fertőzött betegek EDTA-s plazmamintáinak elemzésével végezték. Összesen 197, valamennyi CMV-genotípust reprezentáló EDTA-s plazmamintát vizsgáltak párhuzamos elemzéssel. Az eredmény érvényes volt, és mindkét vizsgálat mennyiségi meghatározási tartományán belül esett. Elvégezték a Deming-regressziós analízist. A két teszttel vizsgált minták átlagos titereltérése 0,11 log₁₀ volt (95% konfidenciaintervallum: 0,09; 0,13).

A Deming-regresszióanalízis eredményeit a 4. ábra tartalmazza. Az ábrán a * jel az egyéni meghatározást jelenti.

4. ábra: A cobas® 4800 rendszeren futtatható cobas® CMV és a cobas® 6800/8800 rendszereken futtatható cobas® CMV regressziós elemzése



Specifititás

A cobas® CMV specifitását különböző donoroktól származó CMV-negatív EDTA-s plazmaminták elemzésével határozták meg. Hatszáztizennyeg különböző EDTA-s plazmamintát teszteltek a cobas® CMV reagensek három gyártási tételével. Hatszáztizennyeg vizsgált minta negatív volt CMV-DNS-re. A tesztpanelben a cobas® CMV specifitása 100% volt (alsó egyoldali 95%-os konfidenciaintervallum: 99,5%).

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai

Mintatípus	EDTA-s plazma
Mintafeldolgozási térfogat	400 µl
Analitikai érzékenység	34,5 IU/ml
Lineáris tartomány	34,5–1,0E+07 IU/ml
Specifititás	100%
Kimutatott genotípusok	CMV glikoprotein B, 1–4-es genotípus
Kimutatott gyógyszerrezisztens CMV-minták	Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir és Foscarnet gyógyszerekkel szemben ellenálló CMV-minták

Szimbólumok

A Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére a következő szimbólumokat használják.

10. táblázat: A Roche PCR diagnosztikai termékek címkéjén használt szimbólumok

 Age/DOB	Kor vagy születési dátum		Nem a beteg közelében használható teszt eszköz	 QS IU/PCR	QS-IU-k száma PCR-reakciónként; használja a QS-IU-k (nemzetközi egységek) reakciónkénti számát az eredmények számításához.
 SW	Segédsoftver		Nem öntesztelő eszköz	 SN	Sorozatszám
 Assigned Range [copies/mL]	Megadott tartomány (kópia/mL)		Forgalmazó (Megjegyzés: Az alkalmazandó ország/régió a szimbólum alatt jelölhető meg)	 Site	Hely
 Assigned Range [IU/mL]	Megadott tartomány (IU/mL)		Ne használja újra	 Procedure Standard	Szokásos eljárás
 EC REP	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben		Nő	 STERILE EO	Etilén-oxiddal sterilizálva
 BARCODE	Vonalkód-adatlap		Csak IVD teljesítmény értékelésre		Sötétben tárolandó
 LOT	Mintacsoportkód	 GTIN	Globális kereskedelmi cikkszám		Hőmérsékletkorlát
	Biológiai veszély		Importőr	 TDF	Vizsgálatdefiníciós fájl
 REF	Katalógusszám	 IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai felhasználásra		Felfelé nézzon
	CE megfelelési jelzés: ez az eszköz megfelel az <i>in vitro</i> diagnosztikai felhasználású orvostechnikai eszközök CE jelölésére vonatkozó előírásoknak	 LLR	Megadott tartomány alsó határa	 Procedure UltraSensitive	Ultraérzékeny eljárás
 Collect Date	Adatgyűjtés		Férfi	 UDI	Egyedi eszközazonosítás
	Olvassa el a használati útmutatót		Gyártó	 ULR	Megadott tartomány felső határa
	Tartalma <n> vizsgálathoz elegendő	 CONTROL -	Negatív kontroll	 Urine Fill Line	Eddig töltendő vizelettel
 CONTENT	A készlet tartalma		Nem steril	 Rx Only	Csak az USA-ban: Az USA szövetségi törvényei értelmében az eszköz csak orvos részére vagy rendelvényére adható ki.
 CONTROL	Kontroll		Beteg neve		Lejárat dátuma
	Gyártás napja		Beteg száma		
	Beteg közelében használható teszt eszköz		Itt válassza le		
	Öntesztelő eszköz	 CONTROL +	Pozitív kontroll		
		 QS copies / PCR	QS-kópiák száma PCR-reakciónként; használja a QS-kópiák reakciónkénti számát az eredmények számításához.		

Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségnyújtásért (segítségért) forduljon a helyi kirendeltséghez:

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

Gyártó és importőr

11. táblázat: Gyártó és importőr



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

Készült az USA-ban



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Védjegyek és szabadalmak

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

Szerzői jogok

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Hivatkozások

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.

Dokumentumverzió

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 3.0 07/2023	Az IVDR követelményeinek megfelelő módosítások. Klinikai teljesítmény értékelése című szakasz hozzáadva. Új „Rx Only” jel az első oldalon. A harmonizált szimbólumok oldala frissítve. Frissítve lettek a gyártók címei. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

A biztonsági és teljesítményjelentés összegzését a következő hivatkozáson találja: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>