



Test cobas® CMV na systému cobas® 4800 je navržen pro efektivní poskytování standardizovaných, klinicky ověřených výsledků. Jedná se o in vitro amplifikační test nukleové kyseliny pro kvantitativní měření DNA cytomegaloviru (CMV) v lidské EDTA plazmě. Je určen k použití jako pomůcka pro diagnózu a léčbu CMV u pacientů s transplantací orgánů a u pacientů s transplantací hematopoetických kmenových buněk. U těchto populací lze tímto testem stanovit, zda je potřeba zahájit antivirovou léčbu. U pacientů na anti-CMV terapii je možné 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.⁶

Test cobas® CMV na systému cobas® 4800

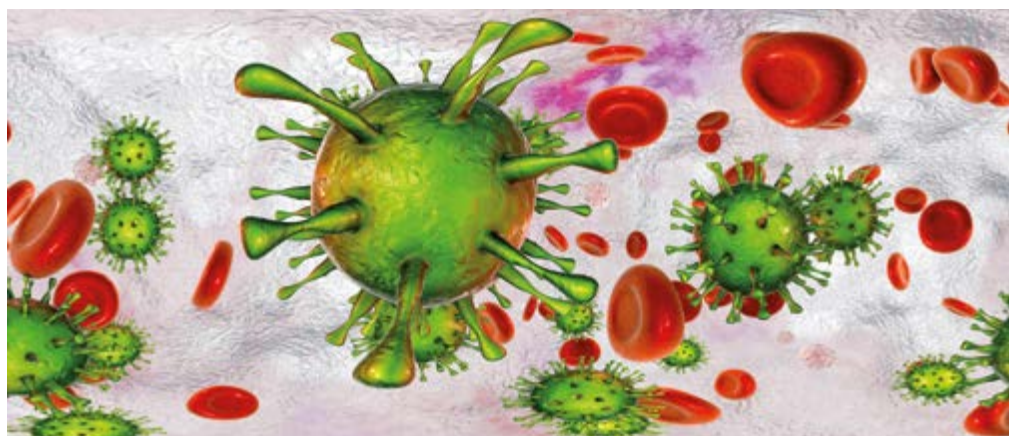
MUDr. IGOR BLANÁRIK

emeritní marketingový manažer pro molekulární diagnostiku, ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Cytomegalovirus (CMV) je běžný virus nalezený u lidí všech věkových kategorií, přičemž více než polovina všech dospělých byla nakažena do 40. roku věku.¹ CMV přetrvává latentně po celý život a může být reaktivován. I když virus obecně nezpůsobuje problémy osobám se zdravým, fungujícím imunitním systémem, může mít závažné následky pro lidi s oslabeným imunitním systémem.

Infekce CMV je hlavní příčinou morbidity a mortality u pacientů po transplantaci. Kalibrace a hlášení virové zátěže CMV DNA v mezinárodních jednotkách na mililitr (IU/ml) zlepšilo harmonizaci výsledků z různých laboratoří. Řízení aktivní infekce CMV je však stále omežováno nedostatečnou komutabilitou

výsledků mezi referenčními materiály a klinickými vzorky a následným nedostatkem prahových hodnot virové zátěže založených na důkazech. Komutabilita je schopnost referenčního materiálu (kalibrátoru, kontrolního materiálu) vykazovat při měření a při hodnocení kvality stejné chování jako analytické vzorky. Nedostatek komutability vede k chybným výsledkům měření a k chybným závěrům o kvalitě analytické činnosti. Současné laboratorně vyvinuté metody kvantifikace CMV DNA jsou omezeny nedostatkem standardizovaných výsledků, což může vést k vysoké variabilitě mezi jednotlivými laboratořemi a testy. Laboratorní metody diagnózy 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). Sérologie má význam pouze pro zjištění, zda byl pacient dříve infikován CMV a podléhá riziku reaktivece. Metody založené na kultivaci mají nízkou prediktivní hodnotu, doba jejich provedení





Nedostatečná standardizace testů virové nálože CMV



Významné riziko morbidity, ztráty transplantačního štěpu a mortality u CMV



Rozdíly ve výsledcích virové nálože CMV mezi laboratořemi



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 šesti hodin od odběru. 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.

U přibližně 20–60% příjemců transplantací orgánů se rozvine symptomatická infekce CMV, obvykle během prvních několika měsíců po transplantaci.² Pacienti mohou být infikováni dárcovským orgánem nebo může být virus reaktivován, pokud byl dříve přítomen.

Reaktivaci CMV po transplantaci lze rychle detekovat a léčit pomocí antivirotik. Pokud jde o úspěšné zvládnutí infekce a možnost pacientů po transplantaci prožít dlouhodobý, zdravý život, hraje zásadní roli spolehlivost výsledků testů.

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.⁵ 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.⁶

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 automatizované zpracování dat, při kterém přiřazuje kategorii „Target not detected“ (cílová sekvence nedetekována)

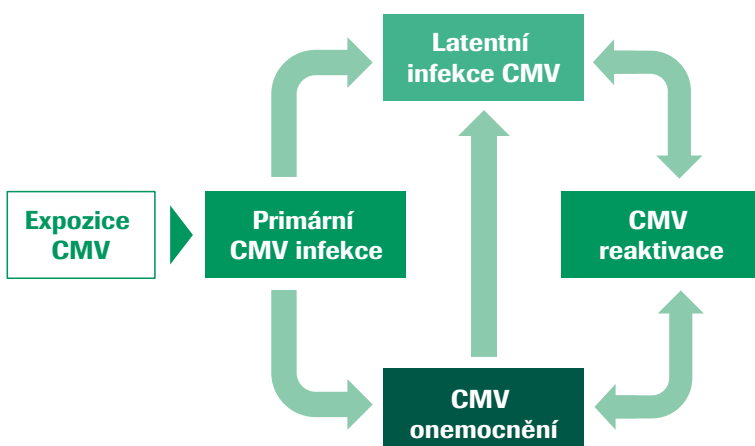
výsledkům < LLoQ, below lower limit of quantitation (pod dolní mezí kvantifikace), nebo > ULoQ, above upper limit of quantitation (nad horní mezí kvantifikace); anebo kategorii „CMV DNA detected“ (detekována DNA viru CMV) s hodnotou v lineárním rozmezí $LLoQ \leq x \leq ULoQ$. Výsledky lze prohlížet přímo na obrazovce systému, exportovat nebo vytisknout jako zprávu.⁶

Výsledky jsou v IU/ml, což je v souladu s doporučeními pro optimalizaci řízení CMV. Systém zjednodušuje a standardizuje operace s minimálními zásahy uživatele a prodlouženou dobou bez nutnosti zásahu až na 3 hodiny, s WHO kalibrovanými reagensii připravenými k okamžitému použití. V laboratoři není nutné provádět žádné kalibrace ani rozpouštění reagensií a kontrol.^{3,4} Výsledky jsou k dispozici za 4 hodiny a 20 minut.

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.

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

Mez detekce (Limit of detection, LoD) testu **cobas**[®] CMV pro EDTA plazmu je 34,5 IU/ml, lineární rozmezí testu **cobas**[®] CMV je 34,5 až 1,0 E+07 IU/ml.



Monitorování virové nálože CMV je klíčovou součástí kontinuální péče při CMV onemocnění; od prognózy k léčbě



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

Výsledky ověřily, že test **cobas**® CMV detekoval CMV DNA pro tři různé genotypy při koncentraci 34,5 IU/ml s úspěšností detekce $\geq 95\%$.

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)

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 $\geq 95\%$.

Společnost Roche je odhodlána pomáhat zabránit šíření a reaktivaci cytomegaloviru

Víte, že...

Kromě portfolia infekčních markerů Roche pro transplantáční centra nabízí testy imunosupresiv:

- Cyklosporin (**cobas e**)
- Takrolimus (**cobas e**)
- Sirolimus (**cobas e**)
- Everolimus (**cobas e**)
- Kyselina mykofenolová (**cobas c 50x**, COBAS INTEGRA® **400 plus**)

Potřebujete-li více informací, kontaktujte nás na prague.marketing_propagace@roche.com

Hlavní parametry testu*

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

a poskytuje standardizované testy podle doporučení WHO pro detekci a monitorování progresu CMV infekcí.

Test **cobas**® CMV přináší transplantáční komunitě standardizaci při testování a výdeji výsledků pro optimální řízení CMV infekce. Vede laboratoře ke

standardizovanému použití typu vzorku (plazma) a vykazování výsledků v IU/ml. Jedná se o první komerční test standardizovaný podle mezinárodního standardu WHO, s certifikátem CE i FDA. Nabízí tak alternativu k laboratorně vyvinutým testům (LDT) se sníženou pracností a bez rizika nesprávných výsledků.



MUDr. Igor Blanárik

Emeritní marketingový manažer pro molekulární diagnostiku, ROCHE s.r.o., Diagnostics Division

Kontakt: igor.blanarik@gmail.com

Absolvent LFUK v Bratislavě v roce 1977. Atestace z vnitřního lékařství a klinické biochemie. Primář OKB na Ústavu klinické onkologie sv. Alžběty v Bratislavě, od roku 1997 produktový a aplikační specialista a následně marketingový manažer pro molekulární diagnostiku Roche Diagnostics Division. V současnosti se v důchodu věnuje svým koníčkům: studiu kvantové biologie a biochemie, čtení odborné a klasické literatury, klasické hudbě, divadlu a práci s dětmi.

LITERATURA

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. <http://www.cdc.gov/cmvi/index.html>. Accessed Nov 3, 2016.
2. Emovon OE, Baillie GM, Rajagopalan PR, Chavin, KD. Infections after kidney transplantation. CME Coverage, based on Renal Week 2002: American Society of Nephrology 35th Annual Meeting. <http://www.medscape.com/viewarticle/445262>. Accessed December 13, 2016. Medscape Transplantation. 2002.
3. Razonable RR, Åsberg A, Rollag H, et al. Virologic suppression measured by a cytomegalovirus (CMV) DNA test calibrated to the world health organization international standard is predictive of CMV disease resolution in transplant recipients. *Clin Infect Dis*. 2013; 56: 1546–1553.
4. Åsberg A, Humar A, Rollag H, et al. Oral Valganciclovir Is Noninferior to Intravenous Ganciclovir for the Treatment of Cytomegalovirus Disease in Solid Organ Transplant Recipients. *Am J of Transplant*. 2007; 7: 2106–2113.
5. Hayden RT, Preiksaitis J, Tong Y, et al. Commutability of the First World Health Organization International Standard for Human Cytomegalovirus. *J Clin Microbiol*. 2015; 53: 3325–3333.
6. Příbalový leták k testu **cobas**® CMV na systému **cobas**® 4800.