

cobas[®] **CMV**

**Quantitativer Nukleinsäuretest
zur Verwendung auf dem cobas[®] 4800 System**

In-vitro-Diagnostikum

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

INHALTSVERZEICHNIS

Verwendungszweck

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund	4
Nutzen von CMV-NAT-Tests	5
Erklärung des Tests	5
Testprinzipien	5

Materialien und Reagenzien

Reagenzien	7
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	12
Zusätzlich benötigtes Material	12
Zusätzlich benötigte Geräte und Software	12
Unterstützte Probenröhrchen	13

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	13
Gute Laborpraxis	14
Umgang mit Reagenzien	14
Kontamination	15
Handhabung	15
Entsorgung	15
Verschüttetes Material und Reinigung	15

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

Probenentnahme	16
Lagerung und Stabilität von Proben während des Transports	16

Gebrauchsanleitung

Durchführung des Tests	17
Umfang eines Laufs	17
Arbeitsablauf	18

Ergebnisse

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse	20
Interpretation der Kontrollergebnisse	20
Interpretation der Ergebnisse	21
Liste der Flags	22
Verfahrenseinschränkungen	23

Nichtklinische Leistungsmerkmale

Wichtigste Leistungsmerkmale	24
Nachweisgrenze (LoD)	24
Internationaler WHO-Standard.....	24
Linearer Bereich.....	24
Laborinterne Präzision	26
Genotypverifizierung.....	26
Bestimmung der Nachweisgrenze für die Glykoprotein-B-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4	26
Verifizierung des linearen Bereichs für die Glykoprotein-B-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4.....	27
Verifizierung anhand arzneimittelresistenter CMV-Proben.....	27
Verifizierung der Nachweisgrenze für arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir)	27
Verifizierung des linearen Bereichs für arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir)	27
Analytische Spezifität.....	28
Analytische Spezifität – Störsubstanzen.....	29
Gesamtsystemausfall	29
Kreuzkontamination.....	29

Klinische Leistungsmerkmale

Korrelation der Methoden	30
Spezifität	30

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Assays.....	31
Symbole.....	32
Technischer Support.....	33
Hersteller und Importeur	33
Marken und Patente.....	33
Copyright.....	33
Literatur	34
Dokumentversion.....	36

Verwendungszweck

cobas® CMV ist ein *in-vitro*-Nukleinsäure-Amplifikationstest zur quantitativen Bestimmung von Cytomegalievirus (CMV)-DNA in EDTA-Humanplasma. **cobas® CMV** ist als Hilfsmittel zur Unterstützung der Diagnose und Behandlung von CMV bei Patienten nach Organ- oder hämatopoetischer Stammzelltransplantation vorgesehen. Der Test kann bei diesen Patientengruppen herangezogen werden, um zu beurteilen, ob eine antivirale Therapie erforderlich ist. Bei Patienten, die eine Anti-CMV-Therapie erhalten, kann die Virusreaktion auf die Behandlung mit Hilfe von DNA-Reihenmessungen beurteilt werden. Die Ergebnisse des **cobas® CMV**-Tests müssen im Kontext aller relevanten klinischen Befunde und Laborwerte interpretiert werden.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund

Das humane Cytomegalievirus (CMV) ist ein humaner, viraler Krankheitserreger aus der Familie der Herpesviren, der weltweit vorkommt.^{1,2} CMV-Infektionen verlaufen bei immunkompetenten Patienten zwar häufig asymptomatisch, es können sich jedoch primäre Infektionen in Form eines akuten mononukleoseartigen Syndroms manifestieren. CMV persistiert nach der Infektion häufig als latente Infektion, die den Patienten ein Leben lang begleitet und periodisch immer wieder reaktiviert wird. Von der CMV-Infektion am stärksten betroffen sind mononukleäre Zellen des peripheren Blutes myeloischen Ursprungs (jedoch keine Lymphozyten) und Endothelzellen.³ Beim Menschen verbleibt das CMV in den Monozyten/Makrophagen in einem latenten Stadium.² Latent infizierte Personen können symptomfrei bleiben und das Virus über Körperflüssigkeiten (z. B. Urin, Speichel) ausscheiden und so andere infizieren. Bei immungeschwächten Patienten einschließlich Neugeborenen, Transplantatempfängern und AIDS-Patienten besteht ein hohes Risiko für schwere primäre CMV-Infektionen oder reaktivierte latente CMV-Infektionen, die mit einer hohen Rate von Morbidität und Mortalität einhergehen.⁴ Zu den schweren Manifestationen von CMV-Erkrankungen gehören Retinitis, Polyradikulopathie, Gastroenteritis, Hepatitis, Enzephalitis, Ösophagitis, Enterokolitis, Pankreatitis, Nephritis, Transplantatabstoßung, Pneumonitis und Cytomegalie-Virus-Syndrom.^{2,5,6}

Die derzeit verfügbare wissenschaftliche Evidenz zu den klinisch relevanten Schwellenwerten, die zur Ausbildung der Cytomegalie führen, stammt aus einer Reihe von Studien, die mit unterschiedlichen Technologien, Populationen und Endpunkten durchgeführt wurden.⁷⁻¹⁴ Generell nimmt das Risiko für die Entstehung einer Cytomegalie mit steigender Viruslast zu. Die Beziehung zwischen Virämie und Krankheit folgt einem sigmoiden Verlauf, d. h. das Cytomegalierisiko nimmt stark zu, nachdem die CMV-Viruslast eine „kritische Schwelle“ erreicht hat. Bei einem selbst entwickelten CMV-DNA-Assay für Vollblutproben, der im Labor zum Testen von Lebertransplantatempfängern entwickelt wurde, lag die kritische Schwelle z. B. bei $\geq 5 \log_{10}$ Kopien/ml CMV-DNA.¹² Bei HIV/AIDS-Patienten wurden die CMV-DNA-Konzentrationen mit dem Cytomegalierisiko und der Gesamtmortalität korreliert.¹³⁻¹⁸

Die derzeit verfügbaren Labormethoden zur quantitativen Bestimmung von CMV-DNA sind jedoch durch den Mangel an standardisierten Ergebnissen begrenzt – ein Umstand, der zu hohen Inter-Labor- und Inter-Assay-Variabilitäten führen kann.¹⁷ Zur Gewährleistung konsistenter Ergebnisse bei der Behandlung von Patienten mit Cytomegalie ist eine Validierung der Reproduzierbarkeit der CMV-DNA-Viruslast unerlässlich. Aktuelle, auf der Präzision der PCR-Tests beruhende Leitlinien geben vor, dass die Änderungen bei den Reihenmessungen der Viruslast mindestens das 3fache ($0,5 \log_{10}$ Kopien/ml) betragen sollten, um als biologisch signifikant zu gelten. Da die Variabilität bei niedrigen Konzentrationen am größten ist, müssen die Änderungen der Viruslast u. U. mehr als das 5fache ($0,7 \log_{10}$ Kopien/ml) betragen, wenn die Werte in der Nähe der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests liegen, um als signifikant betrachtet werden zu können.^{9,19}

Der genaue Schwellenwert ist aufgrund der Inter-Assay-Variabilität zwar noch umstritten, das Konzept des kritischen Schwellenwerts hat jedoch seine Gültigkeit, denn eine Reihe von Studien zum natürlichen Krankheitsverlauf zeigen, dass höhere Viruslasten mit einem erhöhten Risiko für die Ausbildung der CMV-Krankheit einhergehen.⁷⁻¹² In einer Studie mit dem COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR-Test (CACM-Test, Research Use Only in den USA und mit CE-IVD-Kennzeichnung) wurde für die Vorhersage der Krankheit bei CMV-seropositiven Lebertransplantatempfängern ein Cut-Off-Wert zwischen 2000 und 5000 Kopien/ml ermittelt.⁸

Nutzen von CMV-NAT-Tests

Zu den Labormethoden für die Diagnose von disseminierten Infektionen und aktiven viszerale Erkrankungen infolge des humanen Cytomegalievirus gehören die Isolierung des Virus aus Leukozyten des peripheren Blutes (PBL) mittels Kultivierung, histologische Untersuchungen von Biopsien, serologische Methoden, die Bestimmung der pp65-Antigenämie und der Nachweis von CMV-DNA mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion).¹⁸ Die Serologie dient lediglich zur Bestimmung, ob ein Patient zuvor mit CMV infiziert war und ob das Risiko einer Reaktivierung besteht. Kulturmethoden haben einen geringen prädiktiven Wert, dauern länger in der Durchführung (über 48 Stunden) und sind bei immunsupprimierten Patienten von geringer Aussagekraft. Der pp65-Antigenämietest ist laborintensiv und erfordert eine Verarbeitung des Blutes innerhalb von 6 Stunden nach der Entnahme, da die Antigenämie während der Lagerung abnimmt.²⁰ Der pp65-Test ist bei neutropenischen Patienten außerdem schwierig durchzuführen. Der direkte Nachweis von CMV-DNA z. B. mittels Echtzeit-PCR-Methoden zeichnet sich potenziell durch einen breiten dynamischen Bereich sowie durch Präzision und hohe Sensitivität aus.

Erklärung des Tests

cobas® CMV ist ein quantitativer Test zur Verwendung auf dem **cobas® 4800** System. **cobas® CMV** ermöglicht den Nachweis und die quantitative Bestimmung von CMV-DNA in EDTA-Plasma von infizierten Patienten, rückführbar auf den 1. internationalen WHO-Standard für hCMV. Zur quantitativen Bestimmung der Viruslast dient ein nicht aus CMV stammender DNA-Quantifizierungsstandard (DNA QS), der bei der Verarbeitung jeder Probe zugegeben wird. Der DNA QS dient zudem zur Überwachung des gesamten Prozesses der Probenvorbereitung und PCR-Amplifikation. Zusätzlich kommen bei dem Test drei externe Kontrollen zum Einsatz: eine Positivkontrolle mit hohem Titer, eine Positivkontrolle mit niedrigem Titer und eine Negativkontrolle. Die hoch positiven und niedrig positiven externen Kontrollen werden durch Verdünnung einer Stammlösung mit einem Titer hergestellt, der auf den internationalen WHO-Standard für CMV rückführbar ist. Jede Charge des Amplifikations-/Detektions-Kits ist so kalibriert, dass sie auf den internationalen WHO-Standard für CMV rückführbar ist.

Testprinzipien

cobas® CMV beruht auf einer vollautomatisierten Probenvorbereitung (Extraktion und Aufreinigung der Nukleinsäuren) gefolgt von PCR-Amplifikation und Detektion. Das **cobas® 4800** System besteht aus dem **cobas x 480** instrument und dem **cobas z 480** analyzer. Die automatisierte Datenverwaltung erfolgt über die **cobas® 4800** Software, die die Ergebnisse aller Tests als „nicht nachgewiesen“, „unter unterer Quantifizierungsgrenze“, „über oberer Quantifizierungsgrenze“ oder „CMV-DNA nachgewiesen“ einstuft. Im letzteren Fall liegt das Ergebnis im linearen Bereich von „untere Quantifizierungsgrenze $\leq x \leq$ obere Quantifizierungsgrenze“. Die Ergebnisse können direkt am Bildschirm des Systems eingesehen, exportiert oder als Bericht ausgedruckt werden.

In der Patientenprobe enthaltene Nukleinsäuren, externe Kontrollen und zugegebene Lambda-DNA QS-Moleküle werden gleichzeitig extrahiert. Die viralen Nukleinsäuren werden schließlich durch Zugabe von Proteinase und Lysereagenz zur Probe freigesetzt. Die freigesetzten Nukleinsäuren binden an die Silica-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturierte Proteine, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren werden durch anschließende Waschreagenzschritte entfernt. Die aufgereinigten Nukleinsäuren werden danach mit einem Elutionspuffer bei erhöhter Temperatur von den Glaspartikeln gelöst.

Zur selektiven Amplifikation der Zielnukleinsäure aus der Probe werden viruspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die aus hoch konservierten Regionen des CMV-DNA-Polymerase-Gens (UL54) ausgewählt wurden. Zur selektiven Amplifikation des DNA QS werden speziell ausgewählte, sequenzspezifische Forward- und Reverse-Primer eingesetzt, die keine Homologie mit dem CMV-Genom aufweisen. Für die Amplifikation wird ein thermostabiles DNA-Polymeraseenzym eingesetzt. Die Ziel- und DNA QS-Sequenzen werden unter Verwendung eines universellen PCR-Amplifikationsprofils mit vordefinierten Temperaturschritten und vordefinierter Zyklusanzahl gleichzeitig amplifiziert. Der Master-Mix enthält anstelle von Desoxythymidintriphosphat (dTTP) Desoxyuridintriphosphat (dUTP), das in die neu synthetisierte DNA (Amplifikat) eingebaut wird. Etwaige Verunreinigungen durch Amplifikate aus vorherigen PCR-Läufen werden beim Erwärmen im ersten thermozyklischen Schritt durch das im PCR-Mix enthaltene Enzym AmpErase (Uracil-N-Glykosylase) eliminiert.²¹⁻²³ Neu gebildete Amplifikate dagegen werden nicht eliminiert, da das AmpErase-Enzym durch Temperaturen über 55 °C inaktiviert wird.

Der **cobas**® CMV-Master-Mix enthält eine Detektionssonde, die für die CMV-Zielsequenzen spezifisch ist, und eine weitere für den DNA QS. Die Sonden sind mit zielspezifischen fluoreszierenden Reporterfarbstoffen markiert, die den gleichzeitigen Nachweis der CMV-Zielsequenz und des DNA QS in zwei verschiedenen Detektionskanälen gestatten.^{24, 25} Die Fluoreszenzsignale der intakten, nicht an die Zielsequenz gebundenen Sonden werden durch einen Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts werden die Sonden an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates hybridisiert und durch die 5'-3'-Nukleaseaktivität der DNA-Polymerase gespalten. Dadurch kommt es zur Trennung der Reporter- und Quencher-Farbstoffe, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltener Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporter-Farbstoffs steigt entsprechend an. Die Echtzeit-Detektion und Unterscheidung der PCR-Produkte wird durch Messen der Fluoreszenz der freigesetzten Reporterfarbstoffe erreicht, die die Viruszielsequenzen und den DNA QS repräsentieren.

Materialien und Reagenzien

Reagenzien

Alle ungeöffneten Reagenzien und Kontrollen sind gemäß den Empfehlungen in der Tabelle „Lagerung und Handhabung der Reagenzien“ zu lagern.

Kit	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise
cobas® CMV 120 Tests (P/N: 07865970190)	MMX R1 (cobas® Master-Mix-Reagenz 1) Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	10 × 1,75 ml	N/A
	CMV MMX R2 (cobas® CMV Master-Mix-Reagenz 2) Tricin-Puffer, Kaliumacetat, 18 % Dimethylsulfoxid, Glycerin, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % CMV-Forward- und Reverse-Primer, < 0,01 % Quantifizierungsstandard-Forward- und -Reverse-Primer, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte, für CMV und den Quantifizierungsstandard spezifische Oligonukleotidsonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer, < 0,01 % Z05D-DNA-Polymerase (mikrobiell), < 0,01 % AmpErase-Enzym (Uracil-N-Glykosylase, mikrobiell), < 0,1 % Natriumazid	10 × 0,5 ml	N/A
	DNA QS (cobas® DNA-Quantifizierungsstandard) Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, < 0,001 % Nicht-CMV-DNA-Konstrukt mit einer Nicht-CMV-Primer- und einer eindeutigen Sonden-Bindungsregion (nicht-infektiöse DNA), 0,002 % Poly-rA-RNA (synthetisch), < 0,1 % Natriumazid	10 × 1,75 ml	N/A

Kit	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise ^a
cobas® CMV Control Kit 10 Sets (P/N: 07865988190)	CMV L(+)C (Schwach positive cobas® CMV-Kontrolle) < 0,001 % in Lambda-Bakteriophagenhüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid) CMV-DNA, Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA und CMV-DNA nachgewiesen werden konnte. 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel	10 × 0,75 ml	  ACHTUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen.
	CMV H(+)C (Hoch positive cobas® CMV-Kontrolle) < 0,001 % in Lambda-Bakteriophagenhüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid) CMV-DNA mit hohem Titer, Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA und CMV-DNA nachgewiesen werden konnte. 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel	10 × 0,75 ml	
	(-)C2 (cobas® Negativkontrolle 2) Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg und HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA und CMV-DNA nachgewiesen werden konnte. < 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel	10 × 0,75 ml	

^a Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

Kit	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Probenvorbereitungskit 2 für das cobas® 4800 System) 240 Tests (P/N: 06979513190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP-Reagenz 2) Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (cobas® 4800 Elutionspuffer 2) Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Probenvorbereitungskit 2 für das cobas® 4800 System) 960 Tests (P/N: 06979521190)	MGP 2 (cobas® 4800 MGP-Reagenz 2) Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4-hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (cobas® 4800 Elutionspuffer 2) Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Waschpufferkit für das cobas® 4800 System) 240 Tests (P/N: 05235863190)	WB Natriumcitratdihydrat, 0,05 % N-Methylisothiazolon-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Waschpufferkit für das cobas® 4800 System) 960 Tests (P/N: 05235871190)	WB Natriumcitratdihydrat, 0,05 % N-Methylisothiazolon-HCl	10 × 200 ml	N/A

Kit	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 (Lysekit 2 für das cobas® 4800 System) 240 Tests (P/N: 06979530190)	P 2 (cobas® 4800 Protease 2) Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % (Massenvol.-%) Proteinase	10 × 1,0 ml	 <p>GEFAHR</p> <p>H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>H318: Verursacht schwere Augenschäden.</p> <p>H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.</p> <p>H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.</p>
	LYS 2 (cobas® 4800 Lysepuffer 2) 43 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat, 5 % (Massenvol.-%) Polydocanol, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol, Dihydro-Natriumcitrat	10 × 27 ml	<p>EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/ Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen.</p> <p>P284 Atemschutz tragen.</p> <p>P304 + P340 + P312: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p> <p>P342 + P311: Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p>

^a Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

Kit	Komponenten und Reagenzienbestandteile	Menge je Test	Sicherheitssymbole und -hinweise ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 (Lysekit 2 für das cobas® 4800 System) 960 Tests (P/N: 06979548190)	P 2 (cobas® 4800 Protease 2) Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % (Massenvol.-%) Proteinase	10 × 1,0 ml	 <p>GEFAHR</p> <p>H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>H318: Verursacht schwere Augenschäden.</p> <p>H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.</p> <p>H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.</p>
	LYS 2 (cobas® 4800 Lysepuffer 2) 43 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat, 5 % (Massenvol.-%) Polydocanol, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol, Dihydro-Natriumcitrat	10 × 84 ml	<p>EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.</p> <p>P284: Atemschutz tragen.</p> <p>P304 + P340 + P312: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p> <p>P342 + P311: Bei Symptomen der Atemwege: GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p>

^a Die Sicherheitskennzeichnung der Produkte erfolgt in erster Linie gemäß GHS-Verordnung der EU.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenz	Lagertemperatur	Lagerdauer
cobas® CMV	2–8 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil
cobas® CMV Control Kit*	2–8 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2–8 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15–25 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2–8 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil

* Packung des Control Kits aufrecht lagern.

Reagenzien nicht einfrieren.

Zusätzlich benötigtes Material

Materialien	P/N
Extraktionsplatte (Präparationsplatte) für das cobas® 4800 System, 2,0 ml	06884008001
Mikrotiterplatte für das cobas® 4800 System, 0,3 ml	05232724001
Versiegelungsfolienwerkzeug	04900383001
CORE-Spitzen, 1000 µl, Rack mit 96 Spitzen	04639642001
Reagenz-Reservoir, 200 ml	05232759001
Reagenz-Reservoir, 50 ml	05232732001
Carrier mit 24 Positionen	04639502001
Carrier mit 32 Positionen	04639529001
Beutel für Festabfälle	05530873001 (klein) oder 04691989001 (groß)
Hamilton STAR Abfallschacht aus Kunststoff	04639669001
Laborhandschuhe, puderfrei	Es ist jede Art von puderfreien Laborhandschuhen geeignet.
Vortexer (Einzelröhrchen)	Es ist jeder Vortexer geeignet.
Schwenkbecherzentrifuge, RCF mind. 1500	Es ist jede Zentrifuge mit diesen Eigenschaften geeignet.

Weitere Informationen zu diesen separat erhältlichen Materialien erhalten Sie von Ihrem zuständigen Roche-Mitarbeiter.

Zusätzlich benötigte Geräte und Software

Zusätzlich benötigte Geräte und Software
cobas® 4800 System cobas x 480 instrument cobas z 480 analyzer Control Unit
Anwendungssoftware (Core) Version 2.2 oder höher für das cobas® 4800 System
cobas® CMV AP v1.2.0 oder höher für das cobas® 4800 System

Hinweis: Eine ausführliche Bestellliste für Probenracks, Tip-Racks, Reagenzienracks und Platten-Carrier, die auf den Geräten verwendet werden können, ist bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.

Unterstützte Probenröhrchen

Der Test ist mit den üblichen Primär- und Sekundärröhrchen kompatibel.

Die folgenden Probenröhrchen werden unterstützt:

Primärröhrchen (Verarbeitungsvolumen 400 µl)

Nennendurchmesser (mm)	Probenaufgabevolumen – verarbeitetes (zentrifugiertes) Vollblut	EDTA-Plasmaröhrchen
11-14	1800 µl oder mehr	Mit oder ohne Gel
14,5-16	Mehr als 4000 µl	Mit oder ohne Gel

Bestellinformationen für bestimmte Probenröhrchen und Informationen zu den Mindest-Probenaufgabevolumina für die verschiedenen Primärröhrchen erhalten Sie bei Ihrer Roche-Vertretung.

Sekundärröhrchen (Verarbeitungsvolumen 400 µl)

Nennendurchmesser (mm)	Probenaufgabevolumen
11-16	1000 µl oder mehr (bestimmte Sekundärröhrchen haben ein Mindestaufgabevolumen von weniger als 1000 µl)

Bestellinformationen für bestimmte Probenröhrchen und Informationen zu den Mindest-Probenaufgabevolumina für die verschiedenen Sekundärröhrchen erhalten Sie bei Ihrer Roche-Vertretung.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die ordnungsgemäße Durchführung dieses Tests. Aufgrund der hohen analytischen Sensitivität dieses Tests ist Vorsicht geboten, um eine Verunreinigung der Reagenzien, Proben und Amplifikationsansätze zu verhindern.

- Nur zur Verwendung als *in vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- **cobas® CMV** wurde nicht zur Verwendung als Screening-Test für CMV in Blut oder Blutprodukten evaluiert.
- Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“ und dem CLSI-Dokument M29-A4 beschrieben zu behandeln.^{26,27} Dieses Verfahren darf nur von Personal angewandt werden, das mit **cobas® CMV** und dem **cobas® 4800** System vertraut und in der Handhabung infektiöser Materialien geschult ist.
- Alle von Menschen gewonnenen Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und müssen unter Anwendung genereller Vorsichtsmaßnahmen gehandhabt werden. Das **cobas® CMV Control Kit** enthält aus menschlichem Blut gewonnene Plasmaderivate. Das Ausgangsmaterial wurde mit zugelassenen Antikörpertests geprüft und erwies sich als nicht-reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg und HBc-Antikörper. Bei der Untersuchung dieses normalen Humanplasmas konnte mit PCR-Methoden keine HIV-1-RNA (Gruppen M und O), HIV-2-RNA, HCV-RNA, HBV-DNA, HEV-RNA, WNV-RNA oder CMV-DNA nachgewiesen werden. Mit keiner der bekannten Testmethoden kann jedoch eine Übertragung von Infektionserregern durch humane Blutprodukte ausgeschlossen werden.
- MGP von magnetischen Feldern fernhalten.
- **Vollblut und andere Proben in Primärröhrchen nicht einfrieren.**

- Nur die mitgelieferten oder angegebenen erforderlichen Verbrauchsmaterialien verwenden, um eine optimale Leistung des Tests zu gewährleisten.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) sind auf Anfrage bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.
- Alle Verfahren und Vorschriften sind sorgfältig einzuhalten, um eine korrekte Durchführung des Tests sicherzustellen. Jede Abweichung von den Verfahren und Vorschriften kann sich auf die optimale Leistung des Tests auswirken.
- Die Packung des **cobas**® CMV Control Kits aufrecht lagern.
- Wird während der Handhabung und Bearbeitung der Proben nicht ordnungsgemäß auf eine Vermeidung von Verschleppung geachtet, kann es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen.
- Weitere Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahren zur Verringerung der Kontaminationsgefahr für das **cobas x 480** instrument oder den **cobas z 480 analyzer** sind der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems (ehemals Systemhandbuch) zu entnehmen. Wenn Verdacht auf eine Verunreinigung besteht, Reinigung und wöchentliche Wartung wie in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems beschrieben durchführen.
- Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden gemeldet werden.

Hinweis: *Spezifische Anweisungen sind dem Abschnitt „Entnahme, Transport und Lagerung von Proben“ zu entnehmen.*

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Nach Gebrauch der Proben und Kitreagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen.
- Beim Umgang mit Reagenzien Schutzbrille, Laborkittel und Laborhandschuhe tragen. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit diesen Materialien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen. Unbehandelt können Verätzungen entstehen. Verschüttete Flüssigkeiten vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen). Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abreiben.
- Im Labor eine gleichmäßige Temperatur aufrechterhalten, die mit den in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems beschriebenen Umgebungsspezifikationen übereinstimmt.

Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben und Kontrollen zu vermeiden.
- Vor der Verwendung alle Reagenzflaschen und Gefäße mittels Sichtprüfung auf auslaufende Flüssigkeiten überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.
- **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 enthält die potenziell gefährliche Chemikalie Guanidinthiocyanat. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden.
- **cobas**® CMV und das **cobas**® 4800 Sample Preparation Kit 2 enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit Reagenzien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen, um Verätzungen zu vermeiden. Verschüttete Reagenzien vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.

- **cobas® 4800 Lysis Buffer 2** enthält Guanidinthiocyanat und darf nicht in Kontakt mit Natriumhypochloritlösung (Haushaltsbleiche) gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.

Kontamination

- Um Kontaminationen zu vermeiden, müssen Handschuhe getragen und zwischen der Handhabung von Proben und **cobas® CMV**-Reagenzien gewechselt werden. Es ist darauf zu achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden. Beim Umgang mit Proben und Testreagenzien Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille tragen.
- Kontamination der Reagenzien und Proben durch Mikroorganismen und Ribonuklease vermeiden.
- Wird während der Handhabung und Bearbeitung der Proben eine Verschleppung der Proben nicht vermieden, kann es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen.

Handhabung

- Kits nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht vermischen.
- Einwegkomponenten nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Alle Einwegkomponenten sind für den einmaligen Gebrauch vorgesehen und dürfen nicht wiederverwendet werden.
- Alle Geräte müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers gewartet werden.

Entsorgung

- **cobas® CMV** und das **cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2** enthalten Natriumazid (siehe „**Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen**“). Natriumazid kann bei der Reaktion mit Blei- und Kupferleitungen hochexplosive Metallazide bilden. Beim Ausgießen natriumazidhaltiger Lösungen in Laborwaschbecken mit reichlich kaltem Wasser nachspülen, um Azidansammlung zu vermeiden.
- Nicht verbrauchte Reagenzien und Abfall gemäß den einschlägigen regionalen und überregionalen Vorschriften entsorgen.

Hinweis: *Anweisungen zur Entsorgung von Flüssigabfällen sind der Benutzerunterstützung des **cobas® 4800 Systems** zu entnehmen.*

Verschüttetes Material und Reinigung

- **cobas® 4800 Lysis Buffer 2** enthält Guanidinthiocyanat. Wird eine Flüssigkeit verschüttet, die Guanidinthiocyanat enthält, mit einem geeigneten Laborreinigungsmittel und Wasser beseitigen. Enthält die verschüttete Flüssigkeit potenziell infektiöse Stoffe, muss der betroffene Bereich ZUERST mit Laborreinigungsmittel und Wasser und anschließend mit 0,5%igem Natriumhypochlorit gereinigt werden.
- Wenn im **cobas x 480 instrument** Flüssigkeit verschüttet wird, die Reinigungsanweisungen in der Benutzerunterstützung des **cobas® 4800 Systems** befolgen.
- Zum Reinigen des **cobas x 480 instruments** oder **cobas z 480 analyzers** keine Natriumhypochloritlösung (Bleiche) verwenden. Das **cobas x 480 instrument** oder den **cobas z 480 analyzer** gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung des **cobas® 4800 Systems** reinigen.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

- Alle Proben bei den angegebenen Temperaturen lagern.
- Erhöhte Umgebungstemperaturen wirken sich auf die Probenstabilität aus.
- Bei Verwendung gefrorener Proben in Sekundärröhrchen die Proben bei Zimmertemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen, kurz mischen (z. B. 3 bis 5 Sekunden im Vortexer) und anschließend zentrifugieren, um das gesamte Probenvolumen am Röhrchenboden zu sammeln.

Hinweis: Alle Proben wie potenzielle Überträger von Infektionserregern behandeln.

Probenentnahme

Das Blut ist in BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen oder Röhrchen mit lila Deckel für molekulare diagnostische Tests oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans zu sammeln.

Hinweis: Die Anweisungen des Röhrchenherstellers zur Plasmavorbereitung sind zu beachten.

Lagerung und Stabilität von Proben während des Transports

- Vollblut, das in BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen, Röhrchen mit lila Deckel oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans für molekulare diagnostische Tests gesammelt wurde, kann vor der Zentrifugation und den nachfolgenden Tests bei 2 °C bis 25 °C maximal 36 Stunden lang gelagert und/oder transportiert werden.
- Plasmaproben können alternativ auch in Primärröhrchen bei 2 °C bis 25 °C maximal 36 Stunden oder bei 2 °C bis 8 °C 6 Tage lang gelagert werden.
- Plasmaproben können in Sekundärröhrchen bei 2 °C bis 30 °C maximal 36 Stunden, bei 2 °C bis 8 °C maximal 6 Tage oder bei –15 °C bis –25 °C maximal 6 Wochen lang gelagert werden. Getrennte Plasmaproben in Sekundärröhrchen dürfen bei Lagerung bei –15 °C bis –25 °C bis zu dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden.
- Wenn Proben versandt werden sollen, sind sie gemäß den geltenden nationalen und internationalen Vorschriften für den Transport von Proben und Krankheitserregern zu verpacken und zu beschriften.

Gebrauchsanleitung

Durchführung des Tests

Das Probenverarbeitungsvolumen für cobas® CMV beträgt 400 µl.

Abbildung 1: Arbeitsablauf für cobas® CMV

1	System einschalten.
2	Wartung des Instruments durchführen.
3	Proben und Reagenzien aus der Lagerung nehmen.
4	Lauf starten.
5	Parameterkarten einlesen.
6	Proben laden.
7	Mit LIS: Arbeitsliste bestätigen. Ohne LIS: Arbeitsliste erstellen.
8	Verbrauchsmaterialien (Präparationsplatte, Mikrotiterplatte, Tip-Racks) laden.
9	Reagenzien laden.
10	Probenvorbereitungslauf starten.
11	Mikrotiterplatte entnehmen und verschließen.
12	Mikrotiterplatte in den Analyzer laden.
13	Proben, verbrauchte Reagenzien und Präparationsplatte entnehmen.
14	Ergebnisse überprüfen.
15	Mit LIS: Ergebnisse an LIS übertragen.
16	Analyzer leeren.

Hinweis: Detaillierte Anweisungen sind der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems zu entnehmen.

Umfang eines Laufs

Die generischen Reagenzien für die Probenvorbereitung (cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, cobas® 4800 System Lysis Kit 2 und cobas® 4800 System Wash Buffer Kit) stehen jeweils in zwei Kitgrößen zur Verfügung, die für 10 Läufe mit bis zu 24 bzw. 96 Proben ausreichen (zu analysierende Kontrollen und Proben eingerechnet). cobas® CMV ist in einer Kitgröße erhältlich, die einschließlich Kontrollen und Proben zum Testen von bis zu 120 (10 × 12) Proben ausreichend ist. Das cobas® CMV Control Kit ist in einer Kitgröße erhältlich und mit allen Laufkonfigurationen kompatibel. In jedem Batch müssen eine schwach positive CMV-Kontrolle, eine hoch positive CMV-Kontrolle und eine Negativkontrolle mitgeführt werden. Für einen einzelnen Analyselauf beträgt die zulässige Höchstbeladung 93 Proben und 3 Kontrollen.

In Abbildung 1 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

Hinweis: Um einen optimalen Gebrauch der Reagenzien zu gewährleisten, können die generischen Reagenzien für die Probenvorbereitung für einen Lauf mit insgesamt 1 bis 21 Proben (Kitgröße 10 × 24 Tests) oder 1 bis 93 Proben (Kitgröße 10 × 96 Tests) verwendet werden. Die verschiedenen Größen des cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 und cobas® 4800 System Lysis Kit 2 können jedoch nicht miteinander kombiniert werden. Wenn beispielsweise zu Beginn des Laufs eine Waschpuffer-Reagenzflasche für 96 Tests gescannt wird, müssen auch die für 96 Tests vorgesehenen Reagenzien aus den anderen Reagenz-Kits für die Probenaufbereitung verwendet werden.

Arbeitsablauf

Der vollständige Arbeitsablauf von **cobas**® CMV wird mit Hilfe der **cobas**® 4800 software durchgeführt. Dieser umfasst die Probenvorbereitung auf dem **cobas x 480** instrument und die anschließende Amplifikation/Detektion auf dem **cobas z 480** analyzer. **cobas**® CMV kann als eigenständiger Test oder für mehrere Tests gleichzeitig (Mixed Batching) durchgeführt werden, für die derselbe automatisierte Probenextraktionsvorgang sowie dasselbe PCR-Profil für Amplifikation und Detektion gilt. Die Software zeigt bei der Testauswahl die Tests an, die für Mixed Batching mit dem **cobas**® CMV-Test verfügbar sind. Detaillierte Informationen sind der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems zu entnehmen.

1. Das System gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems starten.
2. Die Wartungsmaßnahmen gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems durchführen.
3. Alle benötigten Reagenzien und Verbrauchsmaterialien bereitstellen. Mit Ausnahme von CMV MMX R2 und MMX R1 müssen alle Reagenzien vor dem Einsetzen in das **cobas x 480** instrument auf Raumtemperatur gebracht werden. Die Reagenzien CMV MMX R2 und MMX R1 können direkt aus der Kühlung (bei 2–8 °C) genommen und verwendet werden, da diese Komponenten bis zum Gebrauch im **cobas x 480** instrument Raumtemperatur erreicht haben.

Hinweis: *Alle Reagenzien und Reagenz-Reservoirs sind mit Barcodes versehen und für den Einmalgebrauch vorgesehen. Die **cobas**® 4800 software erfasst die Verwendung der Reagenzien und Reagenz-Reservoirs und weist zuvor verwendete Reagenzien oder Reagenz-Reservoirs zurück.*

4. Einen neuen Lauf starten und den Arbeitsablauf CMV auswählen. Zur Durchführung eines Mixed-Batch-Laufs neben CMV die anderen gewünschten Arbeitsabläufe (d. h. HIV-1, HCV oder HCV GT) auswählen.
5. Die Anweisungen des Softwareassistenten beachten und den Barcode auf den Parameterkarten für die Kontrollbereiche und die Kalibrierkoeffizienten einlesen.

Hinweis: *Es müssen Parameterkarten von nicht abgelaufenen Reagenzien eingelesen werden. Das Verfallsdatum der Reagenzien auf den Parameterkarten wird von der Software nicht überprüft. Daher muss vor dem Einlesen des entsprechenden Barcodes das auf der Parameterkarte oder auf den Reagenzkits aufgedruckte Verfallsdatum überprüft werden.*

6. Die Proben laden. Es können Primär- oder Sekundärröhrchen geladen werden; das Mindestprobenvolumen hängt von Typ und Größe des Röhrchens ab.
7. Die Arbeitsliste erstellen. Es gibt drei Möglichkeiten zum Erstellen einer Arbeitsliste:
 - Über den Probeneditor, bevor ein Probenrack in das **cobas x 480** instrument geladen wird (Schaltfläche „Editor“ rechts im Hauptmenü). Arbeitslisten können bei Bedarf gespeichert, bearbeitet und erneut geladen werden.
Bei der Auswahl der Ergebnisausgabe „CMV“ auswählen.
 - Über den Softwareassistenten für den neuen Lauf und das Laden der Proben in das **cobas x 480** instrument, wenn die Software dazu auffordert. Die Barcodes der Proben werden automatisch gescannt, und es muss die Ergebnisausgabe für jede Probe definiert werden.
Bei der Auswahl der Ergebnisausgabe „CMV“ auswählen.
 - Über das LIS der Einrichtung.

Detaillierte Informationen sind der Benutzerunterstützung des **cobas**® 4800 Systems zu entnehmen. Proben laden und nach Bedarf Arbeitsliste definieren/auswählen oder das LIS verwenden.

8. Die Verbrauchsmaterialien gemäß den Anweisungen des Softwareassistenten laden. Keine einzelnen Spitzen in ein teilweise bestücktes Tip-Rack laden oder daraus entnehmen, da die Software die Anzahl der verbleibenden Spitzen erfasst. Wenn die Zahl der Spitzen nicht ausreicht, um den Lauf durchzuführen, warnt die Software den Benutzer.

9. Die Reagenzien laden.

Die Reagenzien für die Probenvorbereitung in die mit Barcodes versehenen Reagenz-Reservoirs laden. Die Reagenz-Reservoirs sind in zwei Größen verfügbar: 200 ml und 50 ml. Zur Auswahl des richtigen Reagenz-Reservoirs die Anweisungen des Softwareassistenten befolgen. Die Barcodes der Reagenz-Reservoirs müssen nach rechts zeigen. Die Reagenzien für die Probenvorbereitung nach dem Prinzip „Scannen-Scannen-Befüllen-Platzieren“ laden:

- Barcode der Reagenzflasche einscannen.
- Barcode des Reagenz-Reservoirs einscannen.
- Reagenz in das Reservoir gießen.
- Das gefüllte Reagenz-Reservoir an der vorgegebenen Position im Reagenz-Carrier platzieren.

Hinweis: *Das cobas® 4800 System verfügt über eine interne Uhr zum Messen des Zeitraums, über den sich die Reagenzien im System befinden. Nach dem Scannen von LYS 2 oder WB muss innerhalb von 1 Stunde der Ladevorgang abgeschlossen und auf die Schaltfläche „Start“ geklickt werden. Auf der Registerkarte „Workplace“ wird ein Countdown angezeigt. Der Lauf kann nicht gestartet werden, wenn der Zeitgeber im System abgelaufen ist.*

Hinweis: *Um sicherzustellen, dass die magnetischen Glaspartikel (MGP) richtig überführt werden, das MGP-Fläschchen unmittelbar vor dem Einfüllen in das Reagenz-Reservoir im Vortexer mischen oder kräftig schütteln.*

10. Die Reagenzfläschchen für Amplifikation/Detektion (CMV MMX R2, MMX R1 und DNA QS), die Kontrollfläschchen [CMV L(+)C, CMV H(+)C und (-)C] und die generischen Reagenzfläschchen (bei Bedarf P2) direkt in den Reagenz-Carrier laden.

Hinweis: *Um unnötige Laufabbrüche und Kontaminationen zu vermeiden, muss gegen die Reagenzfläschchen geklopft werden, um die Bildung von Blasen bzw. Flüssigkeitsfilmen zu vermeiden. Beim Öffnen der Kontrollen mit den am nächsten positionierten Kontrollen beginnen (von Position 24 bis 1). Nach der Handhabung der Positivkontrollen die Handschuhe wechseln.*

11. Den Probenvorbereitungslauf starten. Nach erfolgreichem Abschluss des Probenvorbereitungslaufs werden die Schaltflächen „Sample Preparation results“ und „Unload“ verfügbar. Falls gewünscht, auf die Schaltfläche „Sample Preparation results“ klicken, um die Ergebnisse anzuzeigen, und dann auf „Unload“ klicken, um die Platten-Carrier zu entladen. Alternativ direkt auf „Unload“ klicken, um den Platten-Carrier zu entladen, ohne die Ergebnisse zu überprüfen. Hierzu die Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems beachten.
12. Nach dem Entladen der Mikrotiterplatte sind die Anweisungen zum Versiegeln und Überführen der Platte in den cobas z 480 analyzer in der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems zu beachten.
13. Die Mikrotiterplatte in den Analyzer laden und den Amplifikations-/Detektionslauf gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems starten.

Hinweis: *Das cobas® 4800 System verfügt über eine interne Uhr zum Messen des Zeitraums nach der Zugabe der vorbereiteten Proben zum aktivierten Master-Mix. Amplifikation und Detektion sollten so bald wie möglich und nicht später als 40 Minuten nach Ende des Laufs auf dem cobas x 480 instrument gestartet werden. Auf der Registerkarte „Workplace“ wird ein Countdown angezeigt. Der Lauf wird vom System abgebrochen, wenn der Countdown abgelaufen ist.*

14. Proben, gebrauchte Reagenzien und Mikrotiterplatten gemäß den Anweisungen der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems entfernen.
15. Nach Abschluss des Amplifikations-/Detektionslaufs die in der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems beschriebenen Anweisungen zum Überprüfen und Akzeptieren der Ergebnisse beachten.
16. Beim Arbeiten mit einem LIS die Ergebnisse an das LIS übertragen.
17. Zum Entladen der Mikrotiterplatte aus dem cobas z 480 analyzer die Anweisungen in der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems beachten.

Ergebnisse

Das **cobas**® 4800 System dient zur automatischen Bestimmung der CMV-DNA-Konzentration in Proben und Kontrollen. Die CMV-DNA-Konzentration wird in internationalen Einheiten pro Milliliter (IE/ml) angegeben.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse

- Mit jedem Batch werden eine Negativkontrolle (-)C2, eine schwach positive Kontrolle CMV L(+)C und eine hoch positive Kontrolle CMV H(+)C mitgeführt.
- Die Batch-Gültigkeit kann in der **cobas**® 4800 software und/oder im Bericht überprüft werden.
- Die **cobas**® 4800 software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

Interpretation der Kontrollergebnisse

Tabelle 1: Interpretation der Kontrollergebnisse für Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Ergebnis	Interpretation
(-)C2	Target Not Detected	Kontrolle ist gültig. CMV-DNA nicht nachgewiesen.
	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titer für die Negativkontrolle ist nicht negativ.
Positivkontrolle	Ergebnis	Interpretation
CMV L(+)C	Titer	Kontrolle ist gültig. Der berechnete Titer liegt im Kontrollbereich.
	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die schwach positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.
CMV H(+)C	Titer	Kontrolle ist gültig. Der berechnete Titer liegt im Kontrollbereich.
	Invalid	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die hoch positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.

Interpretation der Ergebnisse

Hinweis: Die gesamte Assay- und Batch-Validierung wird von der cobas® 4800 software gesteuert.

Hinweis: Ein gültiger Batch kann sowohl gültige als auch ungültige Probenergebnisse enthalten.

Bei einem gültigen Batch werden die Probenergebnisse wie in Tabelle 2 dargestellt interpretiert.

Tabelle 2: Interpretation der Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen

cobas® CMV	Angabe und Interpretation der Ergebnisse
Target Not Detected	CMV-DNA nicht nachgewiesen. Ergebnisse als „CMV nicht nachgewiesen“ angeben.
< Titer Min	Der errechnete Titer liegt unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests. Ergebnisse als „CMV nachgewiesen, unter (Titer min)“ angeben. Titer min = 3,45E+01 IE/ml
Titer	Der errechnete Titer liegt innerhalb des linearen Bereichs des Tests, d. h. er ist größer oder gleich Titer min und kleiner oder gleich Titer max. Ergebnisse als „(Titer) von CMV nachgewiesen“ angeben.
> Titer Max ^a	Der errechnete Titer liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze des Tests. Ergebnisse als „CMV nachgewiesen, über (Titer max)“ angeben. Titer max = 1,00E+07 IE/ml

^a Das Probenergebnis „> Titer max“ bezieht sich auf CMV-positive Proben, bei denen CMV mit einem Titer über der oberen Quantifizierungsgrenze nachgewiesen wurde. Wenn quantitative Ergebnisse gewünscht werden, die ursprüngliche Probe je nach Probenart mit CMV-negativem EDTA-Plasma verdünnen und den Test wiederholen. Das dabei ermittelte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.

Liste der Flags

In der folgenden Tabelle sind alle für die Interpretation der Ergebnisse benötigten Flags aufgeführt.

Tabelle 3: Liste der Flags

Flag-Code	Beschreibung	Empfohlene Maßnahme
R4800	Die Zielsequenz ist aufgrund eines Berechnungsfehlers ungültig.	Die Zielsequenz ist aufgrund eines Berechnungsfehlers ungültig. 1. Die Probe erneut analysieren. 2. Wenn das Problem weiterhin besteht, den Roche Kundendienst verständigen.
R4801	Der Quantifizierungsstandard ist ungültig.	Der Quantifizierungsstandard ist für eine Probe ungültig. 1. Die Probe erneut analysieren. 2. Wenn das Problem weiterhin besteht, den Roche Kundendienst verständigen.
R4802	Eine externe Kontrolle ist ungültig.	Eine externe Kontrolle ist ungültig. ^a 1. Den gesamten Lauf mit frischen Reagenzien wiederholen. 2. Wenn das Problem weiterhin besteht, den Roche Kundendienst verständigen.
R4803	Der Quantifizierungsstandard ist ungültig.	Der Quantifizierungsstandard ist für eine externe Kontrolle ungültig. 1. Den gesamten Lauf mit frischen Reagenzien wiederholen. 2. Wenn das Problem weiterhin besteht, den Roche Kundendienst verständigen.
R4804	Die externe Kontrolle liegt außerhalb des zulässigen Bereichs.	Die externe Kontrolle liegt außerhalb des zulässigen Bereichs. ^b 1. Den gesamten Lauf mit frischen Reagenzien wiederholen. 2. Wenn das Problem weiterhin besteht, den Roche Kundendienst verständigen.
X3	Fehler: Es wurde ein Gerinnsel erkannt. Die Probe wurde nicht verarbeitet.	Sicherstellen, dass die Proben gemäß der Beschreibung des Arbeitsablaufs verarbeitet wurden. 1. Die Probe auf Gerinnsel untersuchen. 2. Die Probe erneut analysieren.
X4	Fehler: Es ist ein Pipettierfehler aufgetreten. Die Probe wurde nicht verarbeitet.	Der wahrscheinlichste Grund ist ein unzureichendes Probenvolumen oder ein mechanischer Fehler während der Pipettierung. 1. Sicherstellen, dass ausreichend Probenvolumen vorhanden ist. 2. Sicherstellen, dass die Spitzenabwurfplatte richtig platziert ist. 3. Die Probe erneut analysieren.

^a Dieses Proben-Flag tritt auf, wenn eine externe Kontrolle im Lauf ein ungültiges Ergebnis hat.

^b Dieses Flag gilt für alle Szenarien, in denen die externe Kontrolle ungültig ist (Bestimmung der Zielsequenz oder Titer).

Hinweis: *Beschreibungen weiterer System-Flags sind der Benutzerunterstützung des cobas® 4800 Systems zu entnehmen.*

Verfahrenseinschränkungen

1. **cobas®** CMV ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem **cobas®** CMV Control Kit, **cobas®** 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas®** 4800 System Lysis Kit 2 und **cobas®** 4800 System Wash Buffer Kit validiert.
2. Zuverlässige Ergebnisse sind nur bei Anwendung sachgemäßer Verfahren für Entnahme, Transport, Lagerung und Bearbeitung der Proben gewährleistet. Die in dieser vorliegenden Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage) und in der Benutzerunterstützung des **cobas®** 4800 Systems beschriebene Vorgehensweise ist zu befolgen.
3. Dieser Test wurde ausschließlich für die Verwendung mit EDTA-Plasma validiert. Wenn andere Probenmaterialien getestet werden, können falsche Ergebnisse erzielt werden.
4. Die CMV-DNA-Quantifizierung hängt von der Anzahl der in der Probe enthaltenen Viruspartikel ab und kann durch das Probenentnahmeverfahren, patientenbezogene Faktoren (d. h. Alter, Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Infektionsstadium beeinflusst werden.
5. Mutationen in den hochkonservierten Regionen des viralen Genoms, das durch **cobas®** CMV abgedeckt wird, treten zwar selten auf, können jedoch die Primer- und/oder Sondenbindung beeinträchtigen und dadurch zur Unterquantifizierung oder Nichterkennung des Virus führen.
6. Der prädiktive Wert eines Assays hängt von der Prävalenz der Erkrankung in einer bestimmten Population ab.
7. Die Zugabe des Enzyms AmpErase zum **cobas®** CMV-Master-Mix ermöglicht eine selektive Amplifikation der Ziel-Nukleinsäure; es ist jedoch gute Laborpraxis sowie die genaue Einhaltung der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren erforderlich, um eine Kontamination der Reagenzien und Amplifikationsansätze zu vermeiden.
8. Dieses Produkt darf nur von Personal verwendet werden, das in der PCR-Technik und der Verwendung des **cobas®** 4800 Systems geschult ist.
9. Für die Verwendung mit diesem Produkt wurden ausschließlich das **cobas x 480** instrument und der **cobas z 480** analyzer validiert. Kein anderes Probenvorbereitungs- oder PCR-System darf mit diesem Produkt verwendet werden.
10. Bevor Benutzer zwischen verschiedenen Verfahren wechseln, sollten sie aufgrund der inhärenten Unterschiede zwischen den Verfahren in ihrem Labor Studien zur Korrelation der Methoden durchführen, um die Unterschiede der Verfahren zu ermitteln. Außerdem sollten Benutzer stets die eigenen spezifischen Strategien und Verfahren beachten.
11. Kreuzkontaminationen können zu falsch-positiven Ergebnissen führen. In einer nicht-klinischen Studie lag die Kreuzkontaminationsrate von Probe zu Probe mit **cobas®** CMV bei 0,0 %. Eine Kreuzkontamination von Lauf zu Lauf wurde nicht beobachtet.
12. **cobas®** CMV ist nicht als CMV-Screeningtest für Blut oder Blutprodukte oder als diagnostischer Test zur Bestätigung einer CMV-Infektion vorgesehen.

Nichtklinische Leistungsmerkmale

Wichtigste Leistungsmerkmale

Nachweisgrenze (LoD)

Die Nachweisgrenze (LoD) von **cobas**® CMV wurde durch Analyse von Reihenverdünnungen des internationalen WHO-Standards (Merlin-Stamm, Glykoprotein B, Genotyp 1) bestimmt und für Glykoprotein B der Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 sowie für arzneimittelresistente CMV-Proben verifiziert. Die für EDTA-Plasma angegebene Nachweisgrenze beträgt 34,5 IE/ml.

Internationaler WHO-Standard

Die Nachweisgrenze von **cobas**® CMV wurde durch Analyse von Reihenverdünnungen des 1. internationalen WHO-Standards für DNA des humanen Cytomegalievirus für NAT-Tests (1. internationaler WHO-Standard für hCMV²⁸, vom NIBSC bereitgestellt) in CMV-negativem EDTA-Humanplasma bestimmt. Panels mit sieben Konzentrationen und einer Leerprobe wurden mit drei Chargen von **cobas**® CMV-Testreagenzien an mehreren Tagen mit mehreren Läufen, Anwendern und Geräten getestet.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Die Messungen ergaben, dass der **cobas**® CMV-Test CMV-DNA mit einer Konzentration von 20,5 IE/ml mit einer Trefferquote von ≥ 95 % (PROBIT) nachweisen kann.

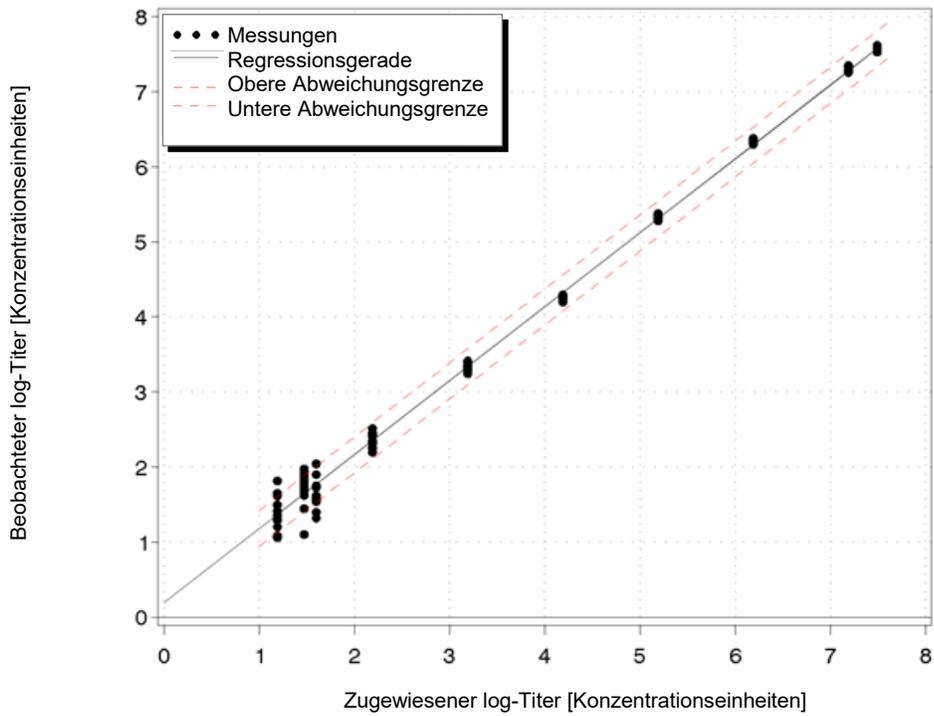
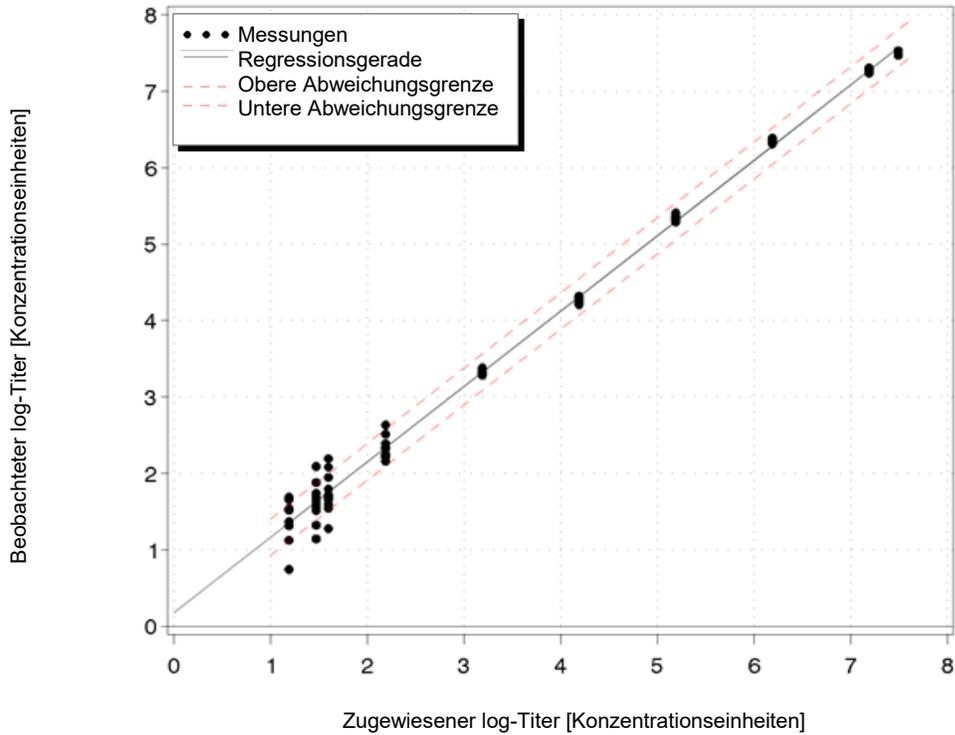
Tabelle 4: Nachweisgrenze

Ausgangstiterkonzentration (CMV-DNA, IE/ml)	Anzahl der gültigen Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
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
Nachweisgrenze gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	20,5 IE/ml (95 % KI: 16,9 – 23,3 IE/ml)		

Linearer Bereich

Die Linearität von **cobas**® CMV wurde anhand einer Verdünnungsreihe aus 10 Panelproben evaluiert, die CMV-DNA des Genotyps gB-1 in Konzentrationen über den gesamten linearen Bereich des Tests ($1,55\text{E}+01$ IE/ml bis $3,11\text{E}+07$ IE/ml) enthielten. Es wurden zwei Chargen der **cobas**® CMV-Testreagenzien verwendet und jede Panelprobe wurde mit 12 Replikaten pro Charge getestet; die repräsentativen Ergebnisse sind in Abbildung 2 und Abbildung 3 zusammengefasst.

Die Daten zeigen einen linearen Verlauf über den Bereich von $1,55\text{E}+01$ bis $3,11\text{E}+07$ IE/ml. Der für **cobas**® CMV angegebene lineare Bereich beträgt 34,5 bis $1,0\text{E}+07$ IE/ml.

Abbildung 2: Linearität Charge 1**Abbildung 3:** Linearität Charge 2

Laborinterne Präzision

Die Präzision von **cobas**® CMV wurde durch Analyse von Reihenverdünnungen von CMV-DNA des Genotyps gB-1 bestimmt. Dabei wurden an 15 Tagen unter Verwendung von zwei Instrumenten und vier Anwendern 6 Verdünnungsstufen mit 90 Replikaten pro Stufe über drei Chargen von **cobas**® CMV-Testreagenzien getestet. Alle Proben durchliefen das gesamte **cobas**® CMV-Testverfahren auf dem **cobas**® 4800 System. Die hier angegebene Präzision spiegelt daher alle Aspekte des Testverfahrens wider. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

cobas® CMV zeigte für drei Chargen von Reagenzien, die über einen Konzentrationsbereich von 3,90E+01 IE/ml bis 1,52E+06 IE/ml getestet wurden, eine hohe Präzision.

Tabelle 5: Laborinterne Präzision des **cobas**® CMV-Tests*

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
		SD	SD	SD	SD gepoolt
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

* Titerdaten werden als log-normalverteilt betrachtet und nach der \log_{10} -Transformation analysiert. In den Spalten zur Standardabweichung (SD) sind die log-transformierten Gesamttiter für die drei Reagenzchargen angegeben.

Genotypverifizierung

Die Leistung von **cobas**® CMV für CMV-Genotypen wurde wie folgt evaluiert:

- Bestimmung der Nachweisgrenze für die Glykoprotein-B-Genotypen 2 bis 4
- Verifizierung des linearen Bereichs für die Genotypen 2 bis 4

Bestimmung der Nachweisgrenze für die Glykoprotein-B-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4

Die Überstände von CMV-Zellkulturen wurden für zwei verschiedene Glykoprotein-B-Genotypen (gB-2 und gB-3) und CMV-DNA-Plasmid von Glykoprotein-B-Genotyp 4 (gB-4) mit CMV-negativem EDTA-Plasma verdünnt. Die Trefferquote wurde mit 42 Replikaten auf einer Konzentrationsstufe bestimmt. Die Tests wurden mit einer Charge von **cobas**® CMV-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefasst. Diese Ergebnisse belegen, dass mit dem **cobas**® CMV-Test CMV-DNA von drei verschiedenen Genotypen in Konzentrationen von 34,5 IE/ml mit einer Trefferquote von ≥ 95 % nachgewiesen werden kann.

Tabelle 6: Verifizierung der Nachweisgrenze für die Glykoprotein-B-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 von CMV

Glykoprotein-B-Genotyp	Trefferquote bei 34,5 IE/ml
gB-2	100,0 %
gB-3	100,0 %
gB-4	100,0 %

Verifizierung des linearen Bereichs für die Glykoprotein-B-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4

Die Verdünnungsreihe, die zur Verifizierung des linearen Bereichs (bestimmt mit CMV-Glykoprotein-B vom Genotyp 1) aller angegebenen Genotypen von CMV-Glykoprotein-B (gB-2, gB-3 und gB-4) verwendet wurde, umfasste sieben Panelproben, die sich über den vorgesehenen linearen Bereich erstreckten. Die Tests wurden mit einer Charge von cobas® CMV-Reagenzien durchgeführt. Es wurden 12 Replikate je Konzentration in EDTA-Plasma getestet.

Der lineare Bereich von cobas® CMV konnte für alle drei Genotypen (gB-2, gB-3 und gB-4) bestätigt werden. Die maximale Abweichung zwischen der linearen Regression und der nichtlinearen Regression war kleiner oder gleich 0,06 log₁₀.

Verifizierung anhand arzneimittelresistenter CMV-Proben

Die Leistung von cobas® CMV für arzneimittelresistente CMV-Genotypen wurde wie folgt evaluiert:

- Verifizierung der Nachweisgrenze für arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir oder Foscarnet)
- Verifizierung des linearen Bereichs für arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir oder Foscarnet)

Verifizierung der Nachweisgrenze für arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir)

Die CMV-Zellkulturüberstände zwei verschiedener arzneimittelresistenter CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir) wurden mit CMV-negativem EDTA-Plasma verdünnt. Die Trefferquote wurde mit 42 Replikaten auf einer Konzentrationsstufe bestimmt. Die Tests wurden mit einer Charge von cobas® CMV-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Diese Ergebnisse belegen, dass mit dem cobas® CMV-Test CMV-DNA in allen getesteten Proben, die gegenüber den gängigen CMV-Medikamenten resistent waren, in Konzentrationen von 34,5 IE/ml mit einer Trefferquote von ≥ 95 % nachgewiesen werden kann.

Tabelle 7: Verifizierung der CMV-Nachweisgrenze für arzneimittelresistente Proben

Resistenzphänotyp	Trefferquote bei 34,5 IE/ml
Foscarnet	100,0 %
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	100,0 %

Verifizierung des linearen Bereichs für arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir)

Die Verdünnungsreihe, die zur Verifizierung des linearen Bereichs (bestimmt mit CMV-Glykoprotein-B vom Genotyp 1) anhand von Proben verwendet wurde, die gegen die gängigsten CMV-Arzneimittel resistent waren, umfasste sieben Panelproben, die sich über den vorgesehenen linearen Bereich erstreckten. Die Tests wurden mit einer Charge von cobas® CMV-Reagenzien durchgeführt. Es wurden 12 Replikate je Konzentration in EDTA-Plasma getestet.

Der lineare Bereich von cobas® CMV wurde anhand aller getesteten Proben verifiziert, die gegen die gängigsten CMV-Arzneimittel resistent waren. Die beste Anpassung wurde für die beiden getesteten arzneimittelresistenten Proben mit einer linearen Regression erzielt.

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität von cobas® CMV wurde durch Verdünnung eines Panels von Erregern (Tabelle 8) mit CMV-DNA-positivem und CMV-DNA-negativem EDTA-Plasma evaluiert. Die Erreger wurden negativem EDTA-Plasma zugegeben und mit und ohne CMV-DNA getestet. cobas® CMV lieferte bei allen Erregerproben ohne CMV-Zielsequenz negative Ergebnisse und bei allen Erregerproben mit CMV-Zielsequenz positive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere log₁₀-Titer bei allen CMV-positiven Proben, die potenziell zu Kreuzreaktivität führende Organismen enthielten, innerhalb von ± 0,10 log₁₀ Abstand zum mittleren log₁₀-Titer der entsprechenden zugesetzten Positivkontrolle.

Tabelle 8: Auf Kreuzreaktivität getestete Erreger

Viren	Bakterien	Pilze
Epstein-Barr-Virus (EBV)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Hepatitis-B-Virus (HBV)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Hepatitis-C-Virus (HCV)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Humanes Immundefizienz-Virus Typ 1 (HIV-1)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Humanes Immundefizienz-Virus Typ 2 (HIV-2)	<i>Enterococcus faecalis</i>	
Herpes-Simplex-Virus Typ 1 (HSV-1)	<i>Escherichia coli</i>	
Herpes-Simplex-Virus Typ 2 (HSV-2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Humanes Herpesvirus Typ 6 (HHV-6)	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Humanes Herpesvirus Typ 7 (HHV-7)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Humanes Herpesvirus Typ 8 (HHV-8)	<i>Chlamydia trachomatis</i>	
Adenovirus Typ 5	<i>Listeria monocytogenes</i>	
JC-Virus	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Parvovirus B19	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Humanes Polyomavirus 1 (BK-Virus)	<i>Mycobacterium avium</i>	
Varicella-Zoster-Virus (VZV)	<i>Clostridium perfringens</i>	
Humanes Papilloma-Virus (HPV)		

Analytische Spezifität – Störsubstanzen

Es wurden Proben mit erhöhten Werten von Triglyzeriden (33,0 g/l), konjugiertem Bilirubin (0,2 g/l), unkonjugiertem Bilirubin (0,2 g/l), Albumin (60,0 g/l), Hämoglobin (2,0 g/l) und erhöhten Human-DNA-Werten (2 mg/l) mit und ohne CMV-DNA getestet. Die getesteten Substanzen hatten nachweislich keinen störenden Einfluss auf die Leistung von **cobas**® CMV. Darüber hinaus wurde auf die Gegenwart von Markern für Autoimmunerkrankungen wie systemischer Lupus erythematosus (SLE), rheumatoide Arthritis (RA) und antinukleäre Antikörper (ANA) getestet.

Zusätzlich wurden die in Tabelle 9 aufgeführten Wirkstoffe in dreifacher C_{max} -Konzentration mit und ohne CMV-DNA getestet.

Keine der potenziellen Störsubstanzen führte zu einer Störung der Testleistung. **cobas**® CMV lieferte bei allen Proben ohne CMV-Zielsequenz negative Ergebnisse und bei allen Proben mit CMV-Zielsequenz positive Ergebnisse. Darüber hinaus lag der mittlere \log_{10} -Titer bei allen CMV-positiven Proben, die potenzielle Störsubstanzen enthielten, innerhalb von $\pm 0,36 \log_{10}$ Abstand zum mittleren \log_{10} -Titer der entsprechenden zugesetzten Positivkontrolle.

Tabelle 9: Wirkstoffe, die auf einen möglichen störenden Einfluss auf die quantitative Bestimmung von CMV-DNA mit **cobas**® CMV getestet wurden

Wirkstoffklasse	Freiname	
Antimikrobiotikum	Cefotetan	Sulfamethoxazol
	Clavulanat-Kalium	Ticarcillin-Dinatrium
	Fluconazol	Trimethoprim
	Piperacillin	Vancomycin
	Tazobactam-Natrium	
Substanzen zur Behandlung von Herpes-Viren	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
Immunsuppressiva	Azathioprin	Mycophenolsäure
	Ciclosporin	Prednison
	Everolimus	Sirolimus
	Mycophenolat-Mofetil	Tacrolimus

Gesamtsystemausfall

Zur Ermittlung der Gesamtsystemausfall-Rate von **cobas**® CMV wurden 100 Replikate von EDTA-Plasma getestet, die mit der CMV-Zielsequenz versetzt wurden. Diese Proben wurden mit einer Zielsequenzkonzentration von ca. der 3fachen unteren Quantifizierungsgrenze (104 IE/ml) getestet.

Die Studie ergab, dass alle Replikate gültig und CMV-positiv waren, was einer Gesamtsystemausfall-Rate von 0,0 % entspricht. Das exakte zweiseitige 95-%-Konfidenzintervall betrug 0,0 % für die Untergrenze und 3,6 % für die Obergrenze [0,0 %: 3,6 %].

Kreuzkontamination

Zur Ermittlung der Kreuzkontaminationsrate für **cobas**® CMV wurden 230 Replikate von CMV-negativen EDTA-Plasmaproben sowie 233 Replikate einer Probe mit hohem CMV-Titer von $1,55E+07$ IE/ml getestet. Es wurden insgesamt fünf Läufe mit Positiv- und Negativproben in Schachbrettanordnung durchgeführt.

Alle 230 Replikate der negativen Proben waren gültig und negativ, was bei einem einseitigen 95-%-Konfidenzintervall von 1,3 % einer Kreuzkontaminationsrate von 0,0 % entspricht.

Klinische Leistungsmerkmale

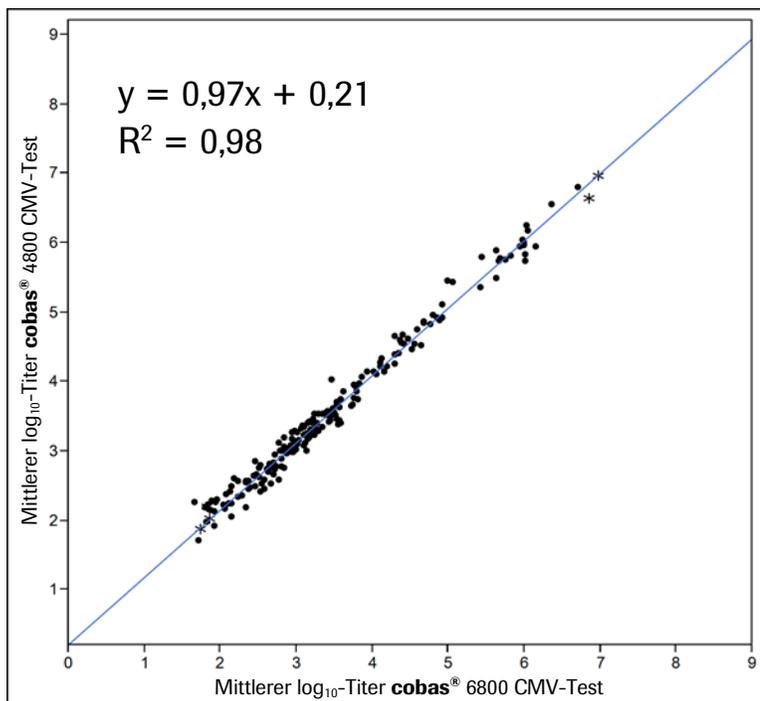
Korrelation der Methoden

Leistungsbewertung des cobas® CMV-Tests zur Verwendung auf dem cobas® 4800 System im Vergleich zum cobas® CMV-Test zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems

Die Leistung des cobas® CMV-Tests zur Verwendung auf dem cobas® 4800 System und des cobas® CMV-Tests zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems wurde anhand von EDTA-Plasmaproben CMV-infizierter Patienten verglichen. Die Ergebnisse von insgesamt 197 EDTA-Plasmaproben aller CMV-Genotypen (in Doppelbestimmung analysiert) waren gültig und lagen bei beiden Tests innerhalb des Quantifizierungsbereichs. Die Deming-Regressionsanalyse wurde durchgeführt. Die mittlere Titerabweichung der mit den beiden Tests getesteten Proben betrug $0,11 \log_{10}$ (95%-Konfidenzintervall: 0,09; 0,13).

Die Ergebnisse der Deming-Regression sind in Abbildung 4 dargestellt. Einfachbestimmungen sind in den Abbildungen mit dem Symbol * gekennzeichnet.

Abbildung 4: Regressionsanalyse von cobas® CMV zur Verwendung auf cobas® 4800 im Vergleich zu cobas® CMV zur Verwendung auf cobas® 6800/8800



Spezifität

Die Spezifität von cobas® CMV-Tests wurde durch die Analyse von CMV-negativen EDTA-Plasmaproben von Einzelspendern bestimmt. Dazu wurden 611 EDTA-Plasmaproben mit drei Chargen von cobas® CMV-Reagenzien getestet. 611 Proben wurden negativ auf CMV-DNA getestet. Die Spezifität des cobas® CMV-Tests betrug im Test-Panel 100 % (untere 95%-Konfidenzgrenze (einseitig): 99,5 %).

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Assays

Probenmaterial	EDTA-Plasma
Probenverarbeitungsvolumen	400 µl
Analytische Sensitivität	34,5 IE/ml
Linearer Bereich	34,5 IE/ml bis 1,0E+07 IE/ml
Spezifität	100 %
Nachweisbare Genotypen	CMV-Glykoprotein B, Genotyp 1-4
Nachgewiesene arzneimittelresistente CMV-Proben	CMV-Proben mit Resistenz gegenüber Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir und Foscarnet

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 10: Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

 Alter oder Geburtsdatum	 Produkt nicht für eine patientennahe Testung geeignet	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Internationalen Einheiten pro PCR-Reaktion
 Zusatz-Software	 Produkt nicht für Selbsttests geeignet	 Seriennummer
 Sollbereich (Kopien/ml)	 Vertrieb <i>(Hinweis: ggf. Angabe von Land/Region unter dem Symbol)</i>	 Zentrum, Labor
 Sollbereich (IE/ml)	 Nicht wiederverwenden	 Standardverfahren
 Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	 Frauen, weiblich	 Mit Ethylenoxid sterilisiert
 Barcode-Datenblatt	 Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung	 Im Dunkeln lagern
 Chargenbezeichnung	 Globale Artikelnummer GTIN	 Temperaturbegrenzung
 Biogefährdung	 Import	 Testdefinitionsdatei
 Bestellnummer	 <i>In-vitro</i> -Diagnostikum	 Diese Seite oben
 CE-Kennzeichnung für Konformität; dieses Produkt entspricht den geltenden Vorschriften für die CE-Kennzeichnung für <i>In-vitro</i> -Diagnostika.	 Unterer Grenzwert des Sollbereichs	 Ultrasensitives Verfahren
 Entnahmedatum	 Männer, männlich	 Einmalige Produktkennung
 Gebrauchsanweisung beachten	 Hersteller	 Oberer Grenzwert des Sollbereichs
 Ausreichend für <n> Tests	 Negativkontrolle	 Fülllinie für Urin
 Inhalt der Packung	 Nicht steril	 Nur für die USA: In den USA darf dieses Produkt nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.
 Kontrolle	 Patientennamen	 Verwendbar bis
 Herstellungsdatum	 Patienten-ID	
 Produkt für patientennahe Tests	 Hier abziehen	
 Produkt zur Eigenanwendung	 Positivkontrolle	
	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Kopien pro PCR-Reaktion	

Technischer Support

Für technischen Support wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.html

Hersteller und Importeur

Tabelle 11: Hersteller und Importeur



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

Hergestellt in den USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marken und Patente

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

Copyright

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Literatur

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.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 3.0 07/2023	<p>Es wurden einige Textstellen an die Vorgaben der IVDR angepasst.</p> <p>Der Abschnitt Klinische Leistungsmerkmale wurde hinzugefügt.</p> <p>Auf der Titelseite wurde das Symbol „Rx Only“ eingefügt.</p> <p>Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert.</p> <p>Die Adressen des Herstellers wurden aktualisiert.</p> <p>Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.</p>

Unter dem folgenden Link finden Sie eine Zusammenfassung des Berichts zu Sicherheit und Leistung:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>