

cobas[®] **CMV**

Quantitativer Nukleinsäuretest zur Verwendung auf den cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

In-vitro-Diagnostikum

cobas[®] **CMV**

P/N: 09040897190

Zur Verwendung auf dem cobas[®] 5800 System

cobas[®] **CMV Control Kit**

P/N: 09040919190

cobas[®] **NHP Negative Control Kit**

P/N: 09051554190

Zur Verwendung auf den cobas[®] 6800/8800 Systems

cobas[®] **CMV Control Kit**

P/N: 07001037190 oder

P/N: 09040919190

cobas[®] **NHP Negative Control Kit**

P/N: 07002220190 oder

P/N: 09051554190

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	5
Zusammenfassung und Erklärung des Tests	5
Reagenzien und Materialien	8
cobas® CMV-Reagenzien und Kontrollen	8
cobas® omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung.....	11
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	12
Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System	12
Handhabung der Reagenzien für die cobas® 6800/8800 Systems	13
Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System	13
Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 6800/8800 Systems	14
Benötigte Geräte und Software.....	14
Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung	15
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen.....	15
Umgang mit Reagenzien	15
Gute Laborpraxis.....	16
Entnahme, Transport und Lagerung von Proben	16
Proben.....	16
Gebrauchsanweisung	18
Hinweise zum Verfahren	18
Durchführung des cobas® CMV-Tests auf dem cobas® 5800 System	18
Durchführung des cobas® CMV-Tests auf den cobas® 6800/8800 Systems	19
Ergebnisse	20
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System.....	20
Kontrollergebnisse auf dem cobas® 5800 System	20
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systems.....	20
Interpretation der Ergebnisse	21
Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System	22
Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systems.....	22
Verfahrenseinschränkungen.....	22

Nichtklinische Leistungsmerkmale	23
Wichtige Leistungsmerkmale zu den cobas® 6800/8800 Systems.....	23
Nachweisgrenze (LoD).....	23
Linearer Bereich.....	24
Laborinterne Präzision.....	25
Genotypverifizierung	25
Verifizierung anhand arzneimittelresistenter CMV-Proben.....	26
Spezifität.....	27
Analytische Spezifität	27
Analytische Spezifität – Störsubstanzen	28
Leistung im Vergleich zum COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Test.....	29
Gesamtsystemausfall	30
Kreuzkontamination	30
Klinische Leistungsmerkmale für die cobas® 6800/8800 Systems.....	31
Klinische Reproduzierbarkeit.....	31
Klinische Leistungsmerke: Population der Organtransplantierten.....	32
Klinische Konkordanz in der Population der Organtransplantierten	34
Übereinstimmung bei Baseline.....	34
Auflösungsanalyse pro Tag	36
Gesamtübereinstimmungen zwischen unterschiedlichen Viruslasten.....	39
Methodenvergleich in der Population der Organtransplantierten	43
Systematische Abweichung bei ausgewählten Viruslasten	47
Mittelwert der gepaarten Differenz.....	48
Zulässige Gesamtdifferenz (ATD).....	49
Übereinstimmung mit negativen Proben.....	52
Klinische Leistungsmerkmale: Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten	53
Klinische Konkordanz in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten	54
Methodenvergleich in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten.....	63
Schlussfolgerung.....	73
Systemäquivalenz und -vergleich.....	73

Weitere Informationen	74
Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests	74
Symbole	75
Technischer Support.....	76
Hersteller und Importeur.....	76
Marken und Patente.....	76
Copyright.....	76
Literatur	77
Dokumentversion.....	79

Verwendungszweck

Der **cobas**® CMV-Test 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 weltweit vorkommender viraler Krankheitserreger aus der Familie der Herpesviren.^{1,2} CMV-Infektionen verlaufen bei immunkompetenten Patienten zwar häufig asymptomatisch, es können sich jedoch primäre lytische 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.⁵⁻⁷

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.⁸⁻¹³ 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. 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.¹¹ Bei HIV/AIDS-Patienten wurden die CMV-DNA-Konzentrationen mit dem Cytomegalierisiko und der Gesamtmortalität korreliert.¹⁴⁻¹⁷

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.¹⁸ 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 log₁₀) 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 log₁₀ Kopien/ml) betragen, wenn die Titerwerte in der Nähe der unteren Quantifizierungsgrenze des Tests liegen, um als signifikant betrachtet werden zu können.¹⁰

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.⁸⁻¹² In einer Studie mit dem COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR-Test wurde für die Vorhersage der Krankheit bei CMV-seropositiven Lebertransplantatempfängern ein Cut-Off-Wert zwischen 2000 und 5000 Kopien/ml ermittelt.¹⁰

Nutzen von 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).¹⁹ 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 mittels Echtzeit-PCR-Methoden zeichnet sich potenziell durch einen breiten dynamischen Bereich sowie durch hohe Präzision und Sensitivität aus.

Erklärung des Tests

Der cobas® CMV-Test ist ein quantitativer Test zur Verwendung auf dem cobas® 5800 System, dem cobas® 6800 System und dem cobas® 8800 System. Der cobas® CMV-Test ermöglicht den Nachweis und die quantitative Bestimmung von CMV-DNA in EDTA-Plasma von Infizierten. 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® 5800 System ist als ein integriertes Gerät ausgelegt. Die cobas® 6800/8800 Systems bestehen aus einem Probenzufuhrmodul, einem Transfermodul, einem Aufarbeitungsmodul und einem Analysenmodul. Die automatisierte Datenverwaltung erfolgt über die Software des cobas® 5800 Systems oder der cobas® 6800/8800 Systems, die die Ergebnisse aller Tests als „Target not detected“, „CMV-DNA nachgewiesen unter der unteren Quantifizierungsgrenze“, „CMV-DNA nachgewiesen über der oberen Quantifizierungsgrenze“ einstuft oder

einen Wert im linearen Bereich von „untere Quantifizierungsgrenze $< x <$ obere Quantifizierungsgrenze“ angibt. Die Ergebnisse können direkt am Bildschirm des Systems eingesehen, exportiert oder als Bericht ausgedruckt werden.

Die in der Patientenprobe enthaltene Nukleinsäure und die zugegebenen DNA-QS-Moleküle werden gleichzeitig extrahiert. Die virale Nukleinsäure wird schließlich durch Zugabe von Proteinase und Lysereagenz zur Probe freigesetzt. Die freigesetzte Nukleinsäure bindet an die Silica-Oberfläche der hinzugefügten magnetischen Glaspartikel. Nicht gebundene Substanzen und Verunreinigungen, beispielsweise denaturiertes Protein, Zelltrümmer und potenzielle PCR-Inhibitoren werden durch anschließende Waschreagenzschritte entfernt. Die aufgereinigte Nukleinsäure wird 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.²¹⁻²³ 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. 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 Zielkanälen ermöglichen.^{24,25} Das Fluoreszenzsignal der intakten Sonden wird durch den Quencher-Farbstoff unterdrückt. Während des PCR-Amplifikationsschritts wird die Sonde an die betreffenden einsträngigen DNA-Templates hybridisiert und durch die 5'-3'-Nukleaseaktivität der DNA-Polymerase gespalten. Dadurch kommt es zur Trennung der Reporter-Farbstoffe und des Quencher-Farbstoffs, und es entsteht ein Fluoreszenzsignal. Mit jedem PCR-Zyklus werden zunehmende Mengen gespaltener Sonden erzeugt, und das kumulative Signal des Reporterfarbstoffs 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.

Reagenzien und Materialien

cobas® CMV-Reagenzien und Kontrollen

Die mit dem cobas® CMV-Test mitgelieferten Materialien sind in Tabelle 1 aufgeführt. Alle zusätzlich benötigten Materialien sind in Tabelle 2 bis Tabelle 4, Tabelle 8 und Tabelle 9 aufgeführt.

In den Abschnitten **Reagenzien und Materialien** sowie **Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung** finden Sie die Gefahrenhinweise zum Produkt.

Tabelle 1 cobas® CMV
(CMV)

Bei 2–8 °C lagern.

Kassette mit 192 Tests (P/N 09040897190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit 192 Tests
Proteinase-Lösung (PASE)	Tris-Puffer, < 0,05 % EDTA, Calciumchlorid, Calciumacetat, 8 % Proteinase, Glycerin EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Enthält Subtilisin. Kann allergische Reaktionen hervorrufen.	22,3 ml
DNA-Quantifizierungsstandard (DNA-QS)	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	21,2 ml
Elutionspuffer (EB)	Tris-Puffer, 0,2 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	21,2 ml
Master-Mix-Reagenz 1 (MMX-R1)	Manganacetat, Kaliumhydroxid, < 0,1 % Natriumazid	7,5 ml
CMV-Master-Mix-Reagenz 2 (CMV MMX-R2)	Tricin-Puffer, Kaliumacetat, < 18 % Dimethylsulfoxid, Glycerin, < 0,1 % Tween 20, EDTA, < 0,12 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01 % Upstream- und Downstream-CMV-Primer, < 0,01 % Quantifizierungsstandard-Forward- und -Reverse-Primer, < 0,01 % fluoreszenzmarkierte, für CMV bzw. den CMV-Quantifizierungsstandard spezifische Oligonukleotidsonden, < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer, < 0,01 % Z05D-DNA-Polymerase, < 0,10 % AmpErase-Enzym (Uracil-N-Glykosylase, mikrobiell), < 0,1 % Natriumazid	9,7 ml

Tabelle 2 cobas® CMV Control Kit**(CMV CTL)**

Bei 2–8 °C lagern.

Zur Verwendung auf dem cobas® 5800 System (P/N 09040919190)

Zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07001037001 oder P/N 09040919190)

Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
Niedrig positive CMV-Kontrolle (CMV L(+))C	< 0,001 % in Lambda-Bakteriophagenhüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid) CMV-DNA, Normal-Humanplasma, CMV-DNA nicht mittels PCR-Methoden nachweisbar 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  WARNUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. 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. 55965-84-9 Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).
Hoch positive CMV-Kontrolle (CMV H(+))C	< 0,001 % in Lambda-Bakteriophagenhüllprotein verkapselte synthetische (Plasmid) CMV-DNA, Normal-Humanplasma, CMV-DNA nicht mittels PCR-Methoden nachweisbar 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  WARNUNG H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. 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. 55965-84-9 Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).

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

** Gefährliche Substanz oder gefährliches Gemisch

Tabelle 3 cobas® NHP Negative Control Kit**(NHP-NC)**

Bei 2–8 °C lagern.

Zur Verwendung auf dem cobas® 5800 System (P/N 09051554190)

Zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems (P/N 07002220190 und P/N 09051554190)

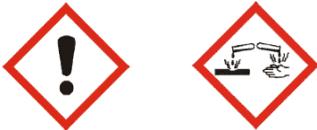
Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheits Symbole und -hinweise*
Normal-Humanplasma-Negativkontrolle (NHP-NC)	Humanplasma, das in zugelassenen Tests nicht reaktiv auf HCV-Antikörper, HIV-1/2-Antikörper, HBsAg oder HBc-Antikörper war und in dem mittels PCR-Methoden keine HIV-1-RNA, HIV-2-RNA, HCV-RNA und HBV-DNA nachgewiesen werden konnte < 0,1 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel**	16 ml (16 × 1 ml)	  <p>WARNUNG 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. 55965-84-9 Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on [EG-Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on [EG-Nr. 220-239-6] (3:1).</p>

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

** Gefährliche Substanz oder gefährliches Gemisch

cobas® omni-Reagenzien für die Probenvorbereitung

Tabelle 4 cobas® omni Reagenzien für die Probenvorbereitung

Reagenzien	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -hinweise*
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997546190)	Magnetische Glaspartikel, Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4 Hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	480 Tests	Keine Angabe
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997511190)	Tris-Puffer, 0,1 % Methyl-4 Hydroxybenzoat, < 0,1 % Natriumazid	4 × 875 ml	Keine Angabe
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Bei 2–8 °C lagern. (P/N 06997538190)	43 % (Gew.-%) Guanidinthiocyanat**, 5 % (Massenvol.-%) Polidocanol**, 2 % (Massenvol.-%) Dithiothreitol, Dihydro-Natriumcitrat EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase.	4 × 875 ml	 <p>GEFAHR</p> <p>H302 + H332: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken oder Einatmen.</p> <p>H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden.</p> <p>H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.</p> <p>P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.</p> <p>P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.</p> <p>P303 + P361 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen.</p> <p>P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. GIFTINFORMATIONSZENTRUM/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>593-84-0 Guanidinthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-Dimercaptobutan-2,3-diol</p>
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Bei 15–30 °C lagern. (P/N 06997503190)	Natriumcitratdihydrat, 0,1 % Methyl-4-Hydroxybenzoat	4,2 l	Keine Angabe

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

** Gefährliche Substanz oder gefährliches Gemisch.

09198997001-04DE

Doc Rev. 4.0

11

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenzien müssen wie in Tabelle 5, Tabelle 6 und Tabelle 7 angegeben gelagert und gehandhabt werden.

Reagenzien, die sich nicht im cobas® 5800 System oder den cobas® 6800/8800 Systems befinden, bei der in Tabelle 5 angegebenen Temperatur lagern.

Tabelle 5 Reagenzlagerung (wenn sich das Reagenz nicht im System befindet)

Reagenz	Lagertemperatur
cobas® CMV	2–8 °C
cobas® CMV Control Kit	2–8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2–8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2–8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2–8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2–8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15–30 °C

Handhabung der Reagenzien für das cobas® 5800 System

Reagenzien im cobas® 5800 System werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Das System lässt die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 6 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. Tabelle 6 enthält die Bedingungen für die Reagenzhandhabung, die vom cobas® 5800 System geprüft werden.

Tabelle 6 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die vom cobas® 5800 System geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät
cobas® CMV	Datum nicht überschritten	90 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 40 Läufe	Max. 36 Tage**
cobas® CMV Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe*	Keine Angabe	Max. 36 Tage**
cobas® NHP Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe*	Keine Angabe	Max. 36 Tage**
cobas® omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas® omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas® omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas® omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe

* Reagenzien für den Einmalgebrauch.

** Zeit ab dem erstmaligen Laden des Reagenzes in das cobas® 5800 System.

Handhabung der Reagenzien für die cobas® 6800/8800 Systems

Reagenzien in den cobas® 6800/8800 Systems werden bei angemessenen Temperaturen aufbewahrt und ihr Verfallsdatum wird vom System überwacht. Die cobas® 6800/8800 Systems lassen die Verwendung der Reagenzien nur zu, wenn alle in Tabelle 7 angegebenen Bedingungen erfüllt sind. Das System verhindert automatisch die Verwendung von abgelaufenen Reagenzien. In Tabelle 7 sind die Bedingungen für die Reagenzhandhabung aufgeführt, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden.

Tabelle 7 Bedingungen für die Haltbarkeit der Reagenzien, die von den cobas® 6800/8800 Systems geprüft werden

Reagenz	Verfallsdatum des Kits	Haltbarkeit nach dem Öffnen des Kits	Anzahl der Läufe, für die dieses Kit verwendet werden kann	Haltbarkeit im Gerät (kumulative Zeit im Gerät außerhalb der Kühlung)
cobas® CMV	Datum nicht überschritten	90 Tage ab erstem Gebrauch	Max. 40 Läufe	Max. 40 Stunden
cobas® CMV Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe*	Keine Angabe	Max. 8 Stunden
cobas® NHP Negative Control Kit	Datum nicht überschritten	Keine Angabe*	Keine Angabe	Max. 10 Stunden
cobas® omni Lysis Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas® omni MGP Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas® omni Specimen Diluent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe
cobas® omni Wash Reagent	Datum nicht überschritten	30 Tage ab dem Laden**	Keine Angabe	Keine Angabe

* Reagenz für den Einmalgebrauch

** Zeit ab dem erstmaligen Laden des Reagenzes in die cobas® 6800/8800 Systems.

Zusätzlich benötigte Materialien für das cobas® 5800 System

Tabelle 8 Material und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf dem cobas® 5800 System

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Pipettenspitzen CORE TIPS mit Filter, 1 ml	04639642001
Pipettenspitzen CORE TIPS mit Filter, 300 µl	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Beutel für Festabfälle oder Beutel für Festabfälle mit Einsatz	07435967001 oder 08030073001

Zusätzlich benötigte Materialien für die cobas® 6800/8800 Systems

Tabelle 9 Materialien und Verbrauchsmaterialien zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Beutel für Festabfälle und Festabfallbehälter oder Beutel für Festabfälle mit Einsatz und neuer Beutel für Festabfälle für Kit-Schublade	07435967001 und 07094361001 oder 08030073001 und 08387281001

Benötigte Geräte und Software

Die cobas® 5800 Software und das cobas® CMV Analysenpaket für das cobas® 5800 System müssen auf dem cobas® 5800 Gerät installiert werden. Die Data Manager-Software und der PC für das cobas® 5800 System werden mit dem System bereitgestellt.

Die cobas® 6800/8800 Software und das cobas® CMV-Analysenpaket müssen auf dem Gerät (bzw. den Geräten) installiert werden. Der IG-Server (Instrument Gateway) ist Bestandteil des Systems.

Tabelle 10 Geräte

Gerät	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (mit beweglicher Plattform)	05524245001 und 06379672001
cobas® 6800 System (feststehend)	05524245001 und 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Probenzufuhrmodul	06301037001

Zusätzliche Informationen finden Sie in der Benutzerunterstützung und/oder den Benutzerhandbüchern des cobas® 5800 Systems bzw. der cobas® 6800/8800 Systems.

Hinweis: Eine ausführliche Bestellliste für Primär- und Sekundärröhrchen, Probenracks, Racks für gestopfte Spitzen und Racktrays, die auf den Geräten verwendet werden können, ist bei der zuständigen Roche-Vertretung erhältlich.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Tests. Aufgrund der hohen Sensitivität dieses Tests ist besonders darauf zu achten, dass die Reagenzien und Amplifikationsgemische nicht kontaminiert werden.

- 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 dem **cobas® CMV**-Test und den **cobas® 5800/6800/8800 Systems** 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. Wenn Material verschüttet wurde, betroffenes Areal unverzüglich mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,6%igem Natrium- oder Kaliumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser desinfizieren oder die jeweiligen Laborverfahren beachten.
- Das **cobas® CMV Control Kit** und das **cobas® NHP Negative Control Kit** enthalten aus Humanblut gewonnenes Plasma. Bei der Untersuchung des Ausgangsmaterials mittels PCR-Methoden konnte keine CMV-DNA nachgewiesen werden. Mit keiner der bekannten Testmethoden kann jedoch eine Übertragung von Infektionserregern durch humane Blutprodukte ausgeschlossen werden.
- **Vollblut und andere Proben in Primärröhrchen nicht einfrieren.**
- Nur die mitgelieferten oder die als erforderlich angegebenen 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.
- Es kann zu falsch-positiven Ergebnissen kommen, wenn während der Handhabung und Bearbeitung der Proben eine Probenverschleppung nicht vermieden wird.
- Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden und dem Hersteller gemeldet werden.

Umgang mit Reagenzien

- Alle Reagenzien, Kontrollen und Proben sind gemäß der guten Laborpraxis zu handhaben, um eine Verschleppung der Proben und Kontrollen zu vermeiden.
- Alle Reagenzkassetten, Verdünnungslösungen, Lysereagenzien und Waschreagenzien vor der Verwendung visuell auf auslaufende Flüssigkeit überprüfen. Liegen Anzeichen für undichte Stellen vor, das betreffende Material nicht für den Test verwenden.

- **cobas® omni** Lysis Reagent 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**-Testkits, **cobas® omni** MGP Reagent und **cobas® omni** Specimen Diluent enthalten Natriumazid als Konservierungsstoff. 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® omni** Lysis Reagent enthält Guanidinthiocyanat und darf nicht in Kontakt mit Natriumhypochloritlösung (Haushaltsbleiche) gebracht werden. Dieses Gemisch kann ein hochgiftiges Gas erzeugen.
- Sämtliche Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, gemäß den geltenden Vorschriften entsorgen.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen des Labors nicht essen, trinken oder rauchen.
- Beim Umgang mit Proben und Reagenzien sind Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille zu tragen. Um Kontamination zu vermeiden, müssen die Handschuhe zwischen der Handhabung von Proben und **cobas® CMV**-Kits sowie **cobas® omni** Reagenzien jeweils gewechselt werden. Darauf achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden.
- Nach Gebrauch der Proben und Kitreagenzien sowie nach dem Ausziehen der Handschuhe gründlich die Hände waschen.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,6%igem Natrium- oder Kaliumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren. Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abwischen.
- Wenn Flüssigkeiten auf dem **cobas®** 5800/6800/8800 Gerät verschüttet wurden, die Oberflächen gemäß den Anweisungen in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch des **cobas®** 5800 Systems bzw. der **cobas®** 6800/8800 Systems reinigen und dekontaminieren.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

HINWEIS: Alle Proben und Kontrollen sind wie potenzielle Überträger von Infektionserregern zu behandeln.

Alle Proben bei den angegebenen Temperaturen lagern.

Erhöhte Umgebungstemperaturen wirken sich auf die Probenstabilität aus.

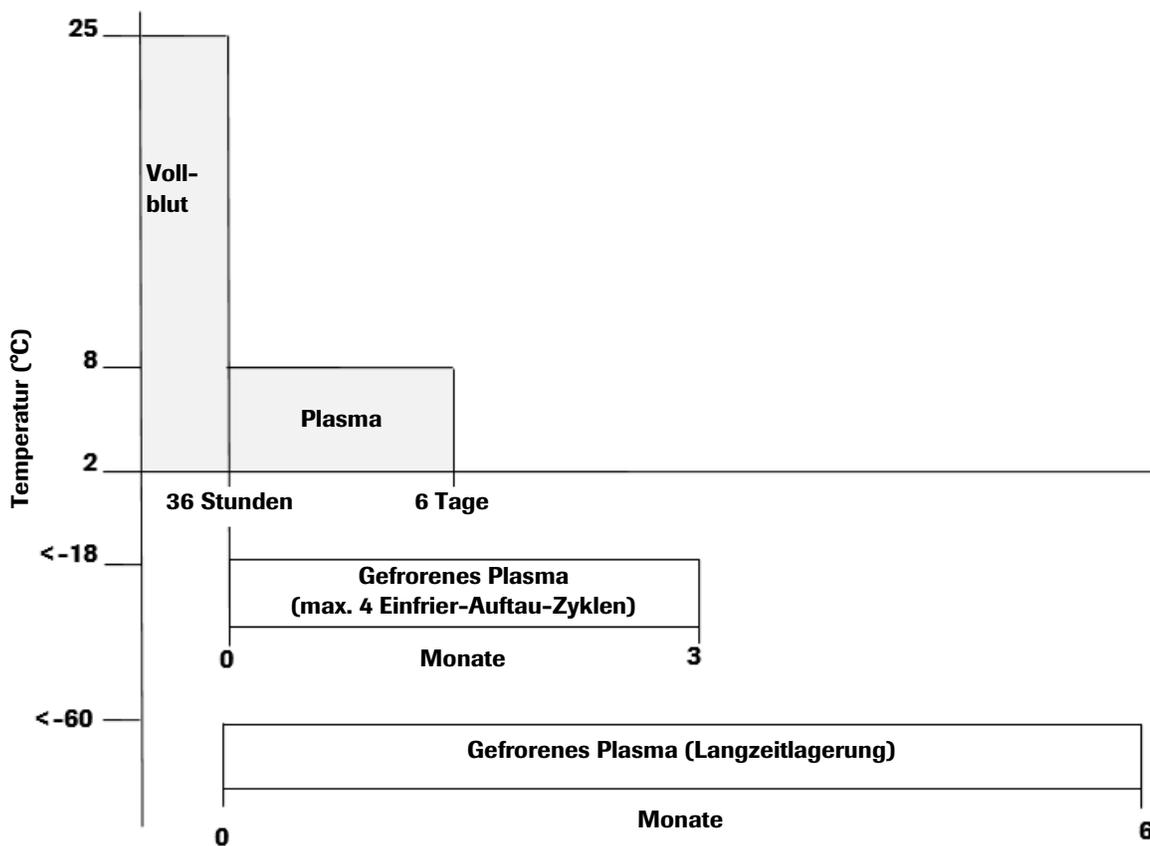
Bei Verwendung gefrorener Proben in Sekundärröhrchen die Proben bei Zimmertemperatur (15–30 °C) vollständig auftauen lassen, kurz mischen (z. B. 3 bis 5 Sekunden im Vortexer) und anschließend zentrifugieren, um das gesamte Probenvolumen am Röhrchenboden zu sammeln.

Proben

- Das Vollblut ist in BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen für molekulare diagnostische Tests oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans zu sammeln. Die Anweisungen des Probenröhrchen-Herstellers beachten. Siehe Abbildung 1.

- Vollblut, das für molekulardiagnostische Tests in BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans gesammelt wurde, kann vor der Vorbereitung des Plasmas bei 2 bis 25 °C maximal 36 Stunden lang gelagert und/oder transportiert werden. Beim Zentrifugieren die Anweisungen des Geräteherstellers beachten.
- Plasmaproben, die innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme vom Vollblut abgetrennt wurden, können bei 2–8 °C maximal 6 Tage oder bei –20 °C ± 2 °C maximal 12 Wochen gelagert und/oder transportiert werden. Die Langzeitlagerung von bis zu 6 Monaten sollte bei einer Temperatur von –75 °C ± 15 °C erfolgen.
- Plasmaproben dürfen viermal bei ≤ –18 °C 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 Krankheitsserregern zu verpacken und zu beschriften.

Abbildung 1 Lagerbedingungen für Proben



Hinweis: Vollblut, das für molekulardiagnostische Tests in BD Vacutainer® PPT™ Plasmavorbereitungsröhrchen oder in sterilen Röhrchen mit EDTA als Antikoagulans gesammelt wurde, kann vor der Vorbereitung des Plasmas bei 2 bis 25 °C maximal 36 Stunden lang gelagert und/oder transportiert werden. Das abgetrennte Plasma kann anschließend aber nicht länger gelagert werden und muss sofort analysiert werden.

Gebrauchsanweisung

Hinweise zum Verfahren

- Die **cobas®** CMV-Testreagenzien, das **cobas®** CMV Control Kit, das **cobas®** NHP Negative Control Kit und die **cobas®** **omni** Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Verbrauchsmaterialien nicht wiederverwenden. Sie sind ausschließlich zum Einmalgebrauch vorgesehen.
- Informationen zur ordnungsgemäßen Wartung der Geräte finden Sie in der Benutzerunterstützung und/oder dem Benutzerhandbuch des **cobas®** 5800 Systems bzw. der **cobas®** 6800/8800 Systems.

Durchführung des **cobas®** CMV-Tests auf dem **cobas®** 5800 System

Zur Durchführung des **cobas®** CMV-Tests ist ein Probenvolumen von mindestens 500 µl erforderlich; davon werden bei der Verwendung eines **cobas®** **omni** Sekundärröhrchens 350 µl verarbeitet. Der Testablauf ist in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch des **cobas®** 5800 Systems ausführlich beschrieben. In Abbildung 2 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 2 **cobas®** CMV-Testablauf auf dem **cobas®** 5800 System

1	Beim System anmelden.
2	Proben in das System laden. <ul style="list-style-type: none"> • Probenracks in das System laden. • Vorbereitung erfolgt automatisch durch das System. • Tests auswählen.
3	Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen. <ul style="list-style-type: none"> • Testspezifische Reagenzkassette(n) laden. • Kontroll-Miniracks laden. • Probenaufarbeitungsspitzen laden. • Elutionsspitzen laden. • Probenaufarbeitungsplatten laden. • Platten für Flüssigabfall laden. • Amplifikationsplatten laden. • MGP-Kassette laden. • Probenverdünnungslösung nachfüllen. • Lysereagenz nachfüllen. • Waschreagenz nachfüllen.
4	Den Lauf starten, indem Sie in der Benutzeroberfläche die Schaltfläche für den Bearbeitungsstart auswählen; alle nachfolgenden Läufe starten automatisch, sofern sie nicht manuell verschoben werden.
5	Ergebnisse prüfen und exportieren.
6	Probenröhrchen, die die Anforderungen an das Mindestvolumen erfüllen, bei Bedarf für den zukünftigen Gebrauch entnehmen und verschließen. Das Gerät reinigen. <ul style="list-style-type: none"> • Leere Kontroll-Miniracks entnehmen. • Leere testspezifische Reagenzkassette(n) entnehmen. • Die Amplifikationsplattenschublade leeren. • Flüssigabfall entsorgen. • Festabfall entsorgen.

Durchführung des cobas® CMV-Tests auf den cobas® 6800/8800 Systems

Zur Durchführung des cobas® CMV-Tests ist ein Probenvolumen von mindestens 500 µl erforderlich; davon werden bei der Verwendung eines cobas® omni Sekundärröhrchens 350 µl verarbeitet. Der Testablauf ist in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch der cobas® 6800/8800 Systems ausführlich beschrieben. In Abbildung 3 ist der Ablauf zusammenfassend dargestellt.

Abbildung 3 cobas® CMV-Testablauf auf den cobas® 6800/8800 Systems

1	<p>Beim System anmelden. Zum Vorbereiten des Systems „Start“ drücken. Tests auswählen.</p>
2	<p>Reagenzien und Verbrauchsmaterialien auf Anforderung des Systems nachfüllen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Testspezifische Reagenzkassette laden. • Kontrollkassetten laden. • Pipettierspitzen laden. • Probenaufarbeitungsplatten laden. • MGP-Reagenz laden. • Amplifikationsplatten laden. • Probenverdünnungslösung nachfüllen. • Lysereagenz nachfüllen. • Waschreagenz nachfüllen.
3	<p>Proben in das System laden.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Probenracks und Racks für gestopfte Spitzen in das Probenzufuhrmodul laden. • Sicherstellen, dass die Proben im Transfermodul aufgenommen wurden.
4	<p>Lauf mit der Schaltfläche „Manuell starten“ in der Benutzeroberfläche starten oder den automatischen Start des Laufs nach 120 Minuten (oder wenn der Batch vollständig ist) programmieren.</p>
5	<p>Ergebnisse prüfen und exportieren.</p>
6	<p>Probenröhrchen, die die Anforderungen an das Mindestvolumen erfüllen, bei Bedarf für den zukünftigen Gebrauch entnehmen und verschließen.</p> <p>Das Gerät reinigen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Leere Kontrollkassetten entnehmen. • Die Amplifikationsplattenschublade leeren. • Flüssigabfall entsorgen. • Festabfall entsorgen.

Ergebnisse

Das **cobas**® 5800 System und die **cobas**® 6800/8800 Systems dienen 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 auf dem **cobas**® 5800 System

- Mindestens alle 72 Stunden und mit jeder neuen Kitcharge werden eine Negativkontrolle [(-) C] sowie zwei Positivkontrollen, eine niedrig positive [CMV L(+)C] und eine hoch positive [CMV H(+)C] mitgeführt. Positiv- bzw. Negativkontrollen können, wenn dies aufgrund der Laborverfahren und/oder der geltenden Vorschriften erforderlich ist, auch häufiger angesetzt werden.
- Die **cobas**® 5800 Systemsoftware und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit der Ergebnisse zu überprüfen.

Die **cobas**® 5800 Software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- oder Positivkontrollen automatisch als ungültig.

HINWEIS: Das **cobas**® 5800 System wird mit der Standardeinstellung ausgeliefert, bei der mit jedem Lauf ein Satz Kontrollen (Positiv- und Negativkontrollen) analysiert wird; es kann aber je nach Laborverfahren und geltenden Vorschriften auch so konfiguriert werden, dass das Intervall bis zu 72 Stunden beträgt. Für weitere Informationen wenden Sie sich an Ihren Roche Servicetechniker und/oder den technischen Kundendienst von Roche.

Kontrollergebnisse auf dem **cobas**® 5800 System

Die Ergebnisse der Kontrollen werden in der **cobas**® 5800 Software in der Anwendung „Kontrollen“ angezeigt.

- Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Gültig“ gekennzeichnet, wenn alle Zielsequenzen der Kontrolle als gültig ausgegeben werden. Kontrollen werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ mit „Ungültig“ gekennzeichnet, wenn alle oder mindestens eine Zielsequenz der Kontrolle als ungültig ausgegeben werden.
- Bei mit „Ungültig“ gekennzeichneten Kontrollen erscheint in der Spalte „Flags“ ein Hinweis. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Kontrolle als ungültig ausgegeben wurde und was der Flag bedeutet.
- Ist eine der Positivkontrollen ungültig, testen Sie alle Positivkontrollen und alle zugehörigen Proben erneut. Ist die Negativkontrolle ungültig, testen Sie alle Kontrollen und alle zugehörigen Proben erneut.

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse auf den **cobas**® 6800/8800 Systems

- Mit jedem Batch werden eine Negativkontrolle [(-) C], eine niedrig positive Kontrolle [CMV L(+)C] und eine hoch positive Kontrolle [CMV H(+)C] mitgeführt.
- Die **cobas**® 6800/8800 Software und/oder den Bericht auf Flags und entsprechende Ergebnisse kontrollieren, um die Gültigkeit des Batch zu überprüfen.
- Der Batch ist gültig, wenn für keine der drei Kontrollen Flags ausgegeben wurden, d. h. weder für die Negativkontrolle noch für die beiden Positivkontrollen CMV L(+)C und CMV H(+)C. In der Ergebnisübersicht werden die Negativkontrolle als (-) C und die schwach und hoch positiven Kontrollen als CMV L(+)C bzw. CMV H(+)C dargestellt.

Die cobas® 6800/8800 Software markiert Ergebnisse bei ausgefallenen Negativ- und Positivkontrollen automatisch als ungültig.

Kontroll-Flags auf den cobas® 6800/8800 Systems

Tabelle 11 Kontroll-Flags für Negativ- und Positivkontrollen

Negativkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
(-) C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Ungültig	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titer für die Negativkontrolle ist nicht negativ.
Positivkontrolle	Flag	Ergebnis	Interpretation
CMV L (+) C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Ungültig	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die niedrig positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.
CMV H (+) C	Q02 (Kontrollbatch fehlerhaft)	Ungültig	Ungültiges Ergebnis oder der errechnete Titerwert für die hoch positive Kontrolle liegt nicht im Sollbereich.

Wenn der Batch ungültig ist, muss der Test des gesamten Batch einschließlich der Proben und Kontrollen wiederholt werden.

Interpretation der Ergebnisse

Bei gültigen Batches sind die einzelnen Proben in der Software des cobas® 5800 Systems bzw. der cobas® 6800/8800 Systems und/oder in den Berichten auf Flags zu kontrollieren. Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

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

Tabelle 12 Interpretation der Ergebnisse für die einzelnen Zielsequenzen

Ergebnisse	Interpretation
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 = 34,5 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 = 1,0E+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 ein quantitatives Ergebnis gewünscht wird, die ursprüngliche Probe mit CMV-negativem EDTA-Humanplasma verdünnen und den Test wiederholen. Das dabei ermittelte Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren.

Interpretation der Ergebnisse auf dem cobas® 5800 System

Die Ergebnisse der Proben werden in der **cobas**® 5800 Software in der Anwendung „Ergebnisse“ angezeigt.

Bei gültigen Kontroll-Batches die einzelnen Proben in der **cobas**® 5800 Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren.

Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Einem gültigen Kontroll-Batch zugehörige Proben werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ als „Gültig“ angezeigt, wenn für alle Kontrollzielsequenzen das Ergebnis „Gültig“ ausgegeben wurde. Einem fehlgeschlagenen Kontroll-Batch zugehörige Proben werden in der Spalte „Kontrollergebnis“ als „Ungültig“ angezeigt, wenn für alle Kontrollzielsequenzen das Ergebnis „Ungültig“ ausgegeben wurde.
- Wenn die zu einer Probe gehörigen Kontrollen ungültig sind, wird das Probenergebnis mit einem der folgenden Flags versehen:
 - Q05D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Positivkontrolle
 - Q06D: Fehler bei der Ergebnisvalidierung infolge einer ungültigen Negativkontrolle
- Die Ergebniswerte in der Spalte „Ergebnisse“ zu den einzelnen Zielsequenzen einer Probe sind wie in Tabelle 12 oben dargestellt zu interpretieren.
- Wenn mindestens eine Zielsequenz einer Probe als „Ungültig“ gekennzeichnet wurde, zeigt die **cobas**® 5800 Software einen Hinweis in der Spalte „Flags“ an. In der Detailansicht werden weitere Informationen dazu angezeigt, warum die Zielsequenz(en) der Probe als ungültig ausgegeben wurde(n) und was der Flag bedeutet.

Interpretation der Ergebnisse auf den cobas® 6800/8800 Systems

Bei gültigen Batches die einzelnen Proben in der **cobas**® 6800/8800 Software und/oder im Bericht auf Flags kontrollieren.

Die Ergebnisse sind wie folgt zu interpretieren:

- Die Proben werden in der Spalte „Gültig“ mit „Ja“ gekennzeichnet, wenn für alle angeforderten Zielregionen gültige Ergebnisse erhalten wurden.
Die Proben werden in der Spalte „Gültig“ mit „Nein“ gekennzeichnet, wenn ggf. zusätzliche Interpretationen und Maßnahmen erforderlich sind.
- Die Ergebniswerte zu den einzelnen Zielsequenzen einer Probe sind wie in Tabelle 12 oben dargestellt zu interpretieren.

Verfahrenseinschränkungen

- Der **cobas**® CMV-Test ist ausschließlich für den Gebrauch mit dem **cobas**® CMV Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas**® **omni** MGP Reagent, **cobas**® **omni** Lysis Reagent, **cobas**® **omni** Specimen Diluent und **cobas**® **omni** Wash Reagent auf den **cobas**® 5800/6800/8800 Systems validiert.
- Zuverlässige Ergebnisse hängen von der sachgemäßen Gewinnung, Lagerung und Bearbeitung der Proben ab.
- Dieser Test wurde ausschließlich für die Verwendung mit EDTA-Plasma validiert. Wenn mit dem **cobas**® CMV-Test andere Arten von Proben getestet werden, können falsche Ergebnisse erzielt werden. Die Messung der Viruslast in Plasma ist nicht direkt mit der Messung anderer Probenarten vergleichbar.
- Die Quantifizierung von CMV-DNA kann durch das Probenentnahmeverfahren, patientenbezogene Faktoren (d. h. Alter, Vorhandensein von Symptomen) und/oder das Infektionsstadium beeinflusst werden.

- Mutationen in den hochkonservierten Regionen des CMV-DNA-Polymerase-Gens (UL54), das durch den **cobas**® CMV-Test abgedeckt wird, können die Primer- und/oder Sondenbindung beeinträchtigen und dadurch zur Unterquantifizierung oder Nichterkennung des Virus führen. Beim **cobas**® CMV-Test wird dieses Risiko durch die Verwendung redundanter Amplifikationsprimer gemindert.
- 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 Richtlinien und Verfahren beachten.
- Der **cobas**® CMV-Test ist nicht als CMV-Screeningtest für Blut oder Blutprodukte oder als diagnostischer Test zur Bestätigung einer CMV-Infektion vorgesehen.

Nichtklinische Leistungsmerkmale

Wichtige Leistungsmerkmale zu den **cobas**® 6800/8800 Systems

Nachweisgrenze (LoD)

Internationaler WHO-Standard

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

Die Ergebnisse für EDTA-Plasma sind in Tabelle 13 dargestellt. Die Messungen ergaben, dass der **cobas**® CMV-Test CMV-DNA mit einer Konzentration von mindestens 23 IE/ml mit einer Trefferquote von $\geq 95\%$ nachweisen kann.

Tabelle 13 Nachweisgrenze in EDTA-Plasma

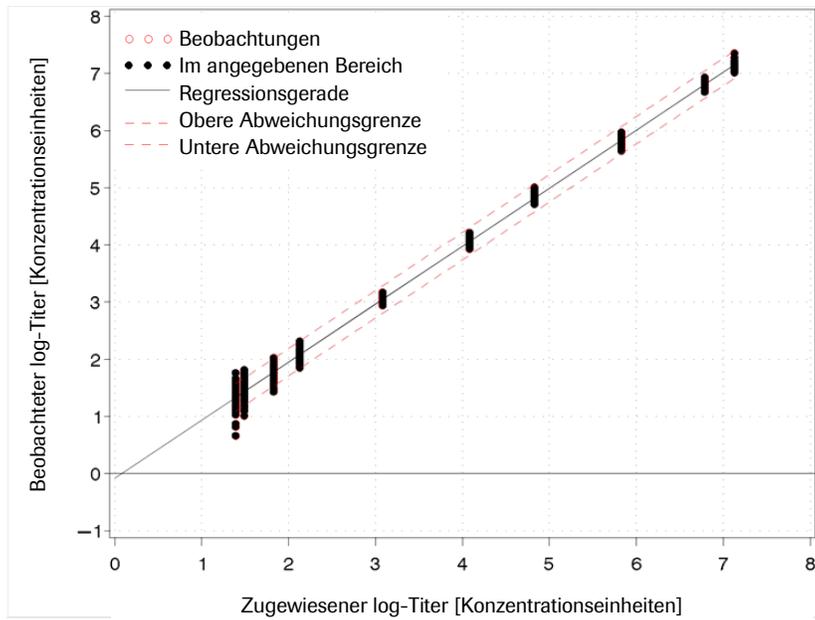
Ausgangstiterkonzentration (CMV-DNA, IE/ml)	Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	188	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
Nachweisgrenze gemäß PROBIT bei 95 % Trefferquote	20,6 IE/ml 95 %-Konfidenzintervall: 17,9–24,3 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 ($2,45E+01$ IE/ml bis $1,34E+07$ IE/ml) enthielten. Jede Panelprobe wurde mit 48 Replikaten über drei Chargen von cobas® CMV-Testreagenzien getestet. Die Ergebnisse dieser Tests sind in Abbildung 4 dargestellt.

Sie zeigen, dass der cobas® CMV-Test über den Bereich von $2,45E+01$ IE/ml bis $1,34E+07$ IE/ml linear ist.

Abbildung 4 Bestimmung des linearen Bereichs für EDTA-Plasma



Laborinterne Präzision

Die Präzision des **cobas**® CMV-Tests wurde anhand einer Verdünnungsreihe bestimmt, bei der Viruskulturen (Merlin, Genotyp gB-1) mit hohem Titer in CMV-negativem EDTA-Plasma analysiert wurden. Dabei wurden an 12 Tagen unter Verwendung von drei Geräten und drei Anwendern 10 Verdünnungsstufen mit 48 Replikaten für jede Verdünnung über drei Chargen von **cobas**® CMV-Testreagenzien getestet. Alle Proben durchliefen das gesamte **cobas**® CMV-Testverfahren auf vollautomatisierten **cobas**® 6800/8800 Systems. Die hier angegebene Präzision spiegelt daher alle Aspekte des Testverfahrens wider. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 zusammengefasst.

Der **cobas**® CMV-Test zeigte für drei Chargen von Reagenzien, die über einen Konzentrationsbereich von 2,45E+01 IE/ml bis 1,34+07 IE/ml getestet wurden, eine hohe Präzision.

Tabelle 14 Laborinterne Präzision des **cobas**® CMV-Tests

Nennkonzentration (IE/ml)	Zugewiesene Konzentration (IE/ml)	EDTA-Plasma	EDTA-Plasma	EDTA-Plasma	EDTA-Plasma
		Charge 1	Charge 2	Charge 3	Alle Chargen
		SD	SD	SD	SD gepoolt
2,00E+07	1,34E+07	0,03	0,06	0,02	0,04
9,11E+06	6,11E+06	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	6,71E+05	0,05	0,03	0,06	0,05
1,00E+05	6,71E+04	0,06	0,05	0,03	0,05
1,80E+04	1,21E+04	0,06	0,04	0,05	0,05
1,80E+03	1,21E+03	0,04	0,03	0,04	0,04
2,00E+02	1,34E+02	0,13	0,10	0,11	0,12
1,00E+02	6,71E+01	0,14	0,11	0,09	0,12
4,60E+01	3,09E+01	0,20	0,23	0,17	0,20
3,65E+01	2,45E+01	0,22	0,20	0,23	0,22

Genotypverifizierung

Die Leistung des **cobas**® CMV-Tests für Glykoprotein-B-Genotypen von CMV 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 drei verschiedene Glykoprotein-B-Genotypen (gB-2, gB-3 und gB-4) mit CMV-negativem EDTA-Plasma auf drei verschiedene Konzentrationen verdünnt. Die Trefferquote wurde mit 63 Replikaten je Konzentration bestimmt. Die Tests wurden mit drei Chargen von cobas® CMV-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 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 $\geq 95\%$ nachgewiesen werden kann.

Tabelle 15 Verifizierung der Nachweisgrenze für CMV-DNA-Genotypen

Geno- typ	17,25 IE/ml	17,25 IE/ml	17,25 IE/ml	34,5 IE/ml	34,5 IE/ml	34,5 IE/ml	51,75 IE/ml	51,75 IE/ml	51,75 IE/ml
	Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Treffer- quote in % (95%-KI*)	Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Treffer- quote in % (95%-KI*)	Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Treffer- quote in % (95%-KI*)
gB-2	63	61	96,8 (99,6 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-3	63	57	90,5 (96,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-4	63	55	87,3 (94,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Oberes einseitiges 95%-Konfidenzintervall

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

Die zur Verifizierung der Genotypenlinearität des cobas® CMV-Tests verwendete Verdünnungsreihe umfasste sieben Panelproben, die den linearen Bereich des Tests abdeckten. Die Tests wurden mit zwei Chargen der cobas® CMV-Reagenzien durchgeführt. Es wurden 16 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.

Verifizierung anhand arzneimittelresistenter CMV-Proben

Die Leistung des cobas® CMV-Tests für arzneimittelresistente CMV-Proben wurde wie folgt evaluiert:

- Bestimmung 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)

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

Die Zellkulturüberstände zwei verschiedener arzneimittelresistenter CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir) wurden mit CMV-negativem EDTA-Plasma auf drei verschiedene Konzentrationen verdünnt. Die Trefferquote wurde mit 63 Replikaten je Konzentration bestimmt. Die Tests wurden mit drei Chargen von **cobas**® CMV-Reagenzien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 16 zusammengefasst. Diese Ergebnisse belegen, dass mit dem **cobas**® CMV-Test CMV-DNA von zwei verschiedenen Proben, die gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir resistent sind, in Konzentrationen von 34,5 IE/ml mit einer Trefferquote von ≥ 95 % nachgewiesen werden kann.

Tabelle 16 Verifizierung der Nachweisgrenze für arzneimittelresistente CMV-Proben

Resistenz gegen	Mutationsstelle in UL54	17,25 IE/ml	17,25 IE/ml	17,25 IE/ml	34,5 IE/ml	34,5 IE/ml	34,5 IE/ml	51,75 IE/ml	51,75 IE/ml	51,75 IE/ml
		Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95%-KI*)	Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95%-KI*)	Anzahl gültiger Replikate	Anzahl positiver Replikate	Trefferquote in % (95%-KI*)
Foscarnet	E756Q	63	58	92,1 (97,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	L545S	63	59	93,7 (98,2 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Oberes einseitiges 95%-Konfidenzintervall

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

Die Verdünnungsreihe, die zur Verifizierung der Linearität des **cobas**® CMV-Tests bei der Messung arzneimittelresistenter CMV-Proben verwendet wurde, umfasste sieben Panelproben, die den linearen Bereich des Tests abdeckten. Die Tests wurden mit zwei Chargen der **cobas**® CMV-Reagenzien durchgeführt. Es wurden 16 Replikate je Konzentration in EDTA-Plasma getestet.

Der lineare Bereich des **cobas**® CMV-Tests konnte für beide arzneimittelresistente CMV-Proben (resistent gegen Foscarnet oder Ganciclovir, Valganciclovir und Cidofovir) bestätigt werden.

Spezifität

Die Spezifität von **cobas**® CMV-Tests wurde durch die Analyse von CMV-negativen EDTA-Plasmaproben von Einzelspendern bestimmt. Es wurden 608 verschiedene EDTA-Plasmaproben mit zwei Chargen von **cobas**® CMV-Reagenzien getestet. Alle Proben wurden negativ auf CMV-DNA getestet. Die Spezifität des **cobas**® CMV-Tests betrug im Test-Panel 100 % (untere 95%-Konfidenzgrenze (einseitig): 99,5 %).

Analytische Spezifität

Zur Evaluierung der analytischen Spezifität des **cobas**® CMV-Tests wurde ein Panel aus Mikroorganismen mit CMV-DNA-positivem und CMV-DNA-negativem EDTA-Plasma auf eine Konzentration von 1,00E+06 Partikeln, Kopien, IE, Genomäquivalenten oder CFU/ml verdünnt. Die verwendeten Organismen sind in Tabelle 17 aufgeführt. Jede Panelprobe wurde mit dem **cobas**® CMV-Test evaluiert. Keines der Nicht-CMV-Pathogene beeinträchtigte die Testleistung.

Tabelle 17 Zur Bestimmung der Kreuzreaktivität getestete Mikroorganismen

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

Analytische Spezifität – Störsubstanzen

Es wurden Proben mit erhöhten Werten von Triglyzeriden (34,5 g/l), konjugiertem Bilirubin (0,25 g/l), unkonjugiertem Bilirubin (0,25 g/l), Albumin (58,7 g/l), Hämoglobin (2,9 g/l) und erhöhten Human-DNA-Werten (2 mg/l) mit und ohne CMV-DNA getestet. Die getesteten endogenen potenziellen Störsubstanzen haben nachweislich keinen störenden Einfluss auf die Leistung des cobas® CMV-Tests.

Der Einfluss von Autoimmunerkrankungen wie systemischem Lupus erythematosus (SLE), rheumatoider Arthritis (RA) und antinukleären Antikörpern (ANA) wurde ebenfalls in der Gegenwart und Abwesenheit von CMV-DNA evaluiert. Zusätzlich wurden die in Tabelle 18 aufgeführten Wirkstoffe in dreifacher C_{max} -Konzentration mit und ohne CMV-DNA getestet.

Keine der potenziellen Störsubstanzen führte zu einer Störung der Testleistung.

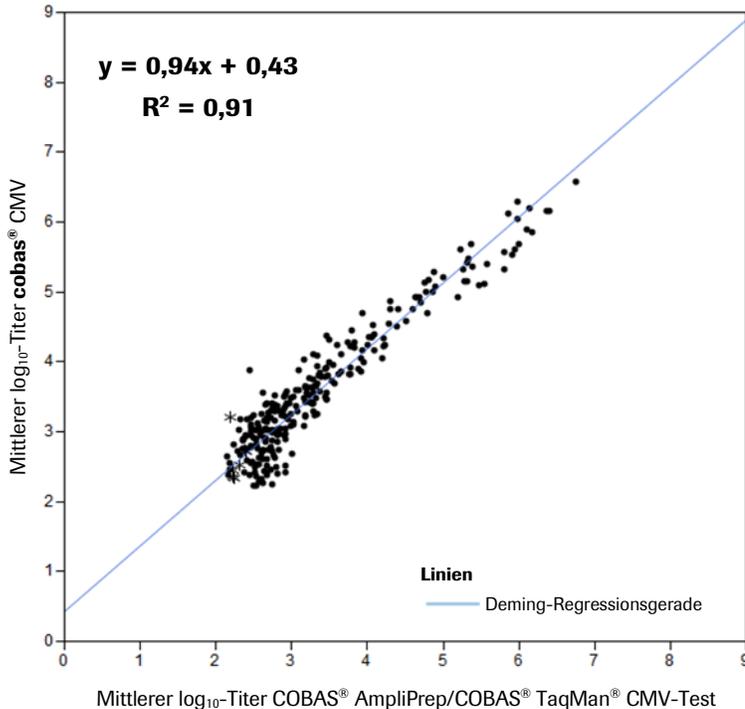
Tabelle 18 Wirkstoffe, die auf eine mögliche Störung der quantitativen Bestimmung von CMV-DNA mit dem **cobas®** CMV-Test getestet wurden

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

Leistung im Vergleich zum COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Test

Zum Vergleich der Leistungsmerkmale des **cobas®** CMV-Tests und des COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Tests wurden EDTA-Plasmaproben von CMV-infizierten Patienten analysiert. Die Ergebnisse von insgesamt 275 in Doppelbestimmungen analysierten EDTA-Plasmaproben aller CMV-Genotypen waren gültig und lagen bei beiden Tests innerhalb des Quantifizierungsbereichs. Es wurde eine Deming-Regressionsanalyse durchgeführt.

Die Ergebnisse der Deming-Regression sind in Abbildung 5 dargestellt.

Abbildung 5 Regressionsanalyse des cobas® CMV-Tests im Vergleich zum CAP/CTM CMV Quantitative Test

Gesamtsystemausfall

Zur Ermittlung der Gesamtsystemausfall-Rate für den cobas® CMV-Test wurden 100 Replikate von EDTA-Plasma getestet, das mit CMV-positiven klinischen Proben versetzt wurde. Diese Proben wurden mit einer Konzentration von ca. der 3fachen Nachweisgrenze getestet.

Die Studie ergab, dass alle Replikate gültig und für die CMV-Zielsequenz positiv waren, was einer Gesamtsystemausfall-Rate von 0 % entspricht (95-%-Konfidenzintervall: 0 % bis 3,6 %).

Kreuzkontamination

Zur Ermittlung der Kreuzkontaminationsrate des cobas® CMV-Tests wurden 240 Replikate einer normalen CMV-negativen EDTA-Humanplasmaprobe sowie 225 Replikate einer Probe mit hohem CMV-Titer von 1,00E+06 IE/ml getestet. Es wurden insgesamt fünf Läufe mit Positiv- und Negativproben in Schachbrettkonfiguration durchgeführt.

Alle 240 Replikate der Negativprobe waren negativ, was einer Kreuzkontaminationsrate von 0 % entspricht (95-%-Konfidenzintervall: 0 % bis 1,5 %).

Klinische Leistungsmerkmale für die cobas® 6800/8800 Systems

Klinische Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des cobas® CMV-Tests wurde in EDTA-Plasma auf dem cobas® 6800 System evaluiert. Die Reproduzierbarkeit und die Charge-zu-Charge-Variabilität wurden mit 3 Reagenzchargen an 3 Standorten ermittelt. Zwei Anwender testeten an jedem Standort jede Reagenzcharge 6 Tage lang (3 Tage Anwender 1 und 3 Tage Anwender 2). Es wurden 2 Läufe pro Tag durchgeführt; für jeden Lauf wurden 3 Replikate jeder Panelprobe analysiert. Zur Bestimmung der Gesamtvarianz wurden die Daten mittels Mixed-Model-Analyse analysiert. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in den folgenden Tabellen (Tabelle 19 bis Tabelle 21) zusammengefasst.

Tabelle 19 zeigt die klinische Reproduzierbarkeit des Tests an verschiedenen Punkten über den linearen Bereich. Es sind die relativen Anteile der verschiedenen Faktoren an der beobachteten Varianz angegeben.

Tabelle 19 Zuordenbarer Prozentsatz der Gesamtvarianz (% TV), Standardabweichung (SD) der Gesamtpräzision und lognormaler VK (%) der CMV-DNA-Konzentration (\log_{10} IE/ml) nach positiver Panelprobe

Erwartete CMV-DNA-Konz. (\log_{10} IE/ml)	Gemessene mittlere ^a CMV-DNA-Konz. (\log_{10} IE/ml)	Anzahl Tests ^b	Charge % TV ^c (VK %) ^e SD ^d	Standort % TV ^c (VK %) ^e SD ^d	Anwender/Tag % TV ^c (VK %) ^e SD ^d	Lauf % TV ^c (VK %) ^e SD ^d	Intra-Lauf % TV ^c (VK %) ^e SD ^d	Gesamtpräzision SD ^f	Gesamtpräzision (VK %) ^g
2,01	2,07	324	1 % (2,97) 0,0129	6 % (6,49) 0,0282	0 % (0,00) 0,0000	3 % (4,47) 0,0194	90 % (25,15) 0,1076	0,114	26,61
3,26	3,27	322	10 % (4,29) 0,0186	13 % (4,85) 0,0210	3 % (2,50) 0,0109	0 % (0,00) 0,0000	74 % (11,71) 0,0507	0,059	13,64
3,86	3,90	324	23 % (7,26) 0,0315	0 % (0,00) 0,0000	0 % (0,22) 0,0010	0 % (0,00) 0,0000	77 % (13,50) 0,0584	0,066	15,36
6,70	6,74	324	15 % (5,16) 0,0224	3 % (2,31) 0,0100	1 % (1,52) 0,0066	0 % (0,00) 0,0000	81 % (11,98) 0,0518	0,058	13,35

Hinweis: Die Tabelle enthält nur Ergebnisse mit nachweisbarer Viruslast.

^a Mittels SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

^b Anzahl der gültigen Tests mit nachweisbarer Viruslast.

^c % TV = Prozentualer Anteil an der Gesamtvarianz.

^d Anhand Varianzkomponente aus SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

^e VK % = Lognormaler prozentualer Variationskoeffizient = $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$

^f Anhand Gesamtvariabilität aus SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

^g Anhand Gesamtvariabilität aus SAS-MIXED-Verfahren berechnet.

DNA = Desoxyribonukleinsäure; CMV = Cytomegalievirus; Konz. = Konzentration; SD = Standardabweichung; sqrt = Quadratwurzel.

Tabelle 20 zeigt die bestimmte nachweisbare Viruslast-Differenz für jede positive Panelprobe. Anhand der nachweisbaren x-fachen Differenz können bei der Durchführung von Reihenmessungen statistisch signifikante Veränderungen in der Viruslast eines Patienten bewertet werden.

Tabelle 20 Nachweisbare Viruslast-Differenz nach positiver Panelprobe

Erwartete CMV-DNA-Konz. (\log_{10} IE/ml)	Gemessene mittlere CMV-DNA-Konz. (\log_{10} IE/ml)	Anzahl Tests ^a	Standardabweichung der Gesamtpräzision (\log_{10} IE/ml)	Standardabweichung der Differenz zwischen zwei Messwerten ^b	95-%-KI ^c ($\pm \log_{10}$ IE/ml)	Nachweisbare x-fache Differenz ^d
2,01	2,07	324	0,11	0,16	0,31	2,06
3,26	3,27	322	0,06	0,08	0,16	1,46
3,86	3,90	324	0,07	0,09	0,18	1,53
6,70	6,74	324	0,06	0,08	0,16	1,45

Hinweis: Die Tabelle enthält nur Ergebnisse mit nachweisbarer Viruslast. Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ, lower limit of quantitation) des Tests beträgt 3,45E+01 IE/ml und die obere Quantifizierungsgrenze (ULoQ) 1,0E+07 IE/ml.

^a Anzahl der gültigen Tests mit nachweisbarer Viruslast.

^b Standardabweichung der Differenz zwischen zwei Messwerten = $\sqrt{2 \times (\text{Standardabweichung der Gesamtpräzision})^2}$.

^c 95-%-KG = Konfidenzgrenze = $1,96 \times \text{Standardabweichung der Differenz zwischen zwei Messwerten}$.

^d Nachweisbare x-fache Differenz = $10^{(1,96 \times \sqrt{2 \times (\text{Gesamtstandardabweichung})^2})}$.

DNA = Desoxyribonukleinsäure; CMV = Cytomegalievirus; sqrt = Quadratwurzel.

Tabelle 21 zeigt die Ergebnisse zur Reproduzierbarkeit für die negative Panelprobe bei Verwendung des cobas® 6800 Systems.

Tabelle 21 Reproduzierbarkeits-Ergebnisse für die negative Panelprobe

Erwartete CMV-DNA-Konzentration	Anzahl gültiger Tests	Positive Ergebnisse	Negative Ergebnisse	Negative Übereinstimmung in Prozent ^a	Exaktes 95-%-KI ^b
Negativ	323	0	323	100,00	(98,86, 100,00)

^a Negative Übereinstimmung in Prozent = $(\text{Anzahl der negativen Ergebnisse} \div \text{Gesamtanzahl der gültigen Tests für die negative Panelprobe}) \times 100 \%$.

^b Mittels Clopper-Pearson-Methode berechnet (exaktes Konfidenzintervall für die Erfolgswahrscheinlichkeit der Binomialverteilung).

DNA = Desoxyribonukleinsäure; CMV = Cytomegalievirus; KI = Konfidenzintervall.

Klinische Leistungsmerke: Population der Organtransplantierten

Ziel dieser Studie war es, die klinische Konkordanz zwischen dem cobas® CMV-Test und dem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Test (im Weiteren als TaqMan® CMV-Test bezeichnet) an einer Population von Organtransplantierten zu evaluieren. Dazu wurden Restproben gefrorener EDTA-Plasmaproben von Nierentransplantatempfängern, die an einer doppelblinden, randomisierten, placebokontrollierten Phase-IIa-Studie zu einem CMV-Prophylaxeschema teilnahmen, prospektiv getestet. Die Zielregionen des Tests wurden sequenziert für Proben, die zwischen zwei Tests einen Offset von $> 0,5 \log_{10}$ IE/ml aufwiesen, sowie für einen repräsentativen Probensatz ohne Mess-Offset. Mit einem mittleren Offset $> 0,9 \log_{10}$ IE/ml assoziierte Sequenzen wurden eingestuft als „mit großem Effekt“. Es wurden nur Sequenzen mit großem Effekt auf die Zielregionen des COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Tests bestimmt.

Die demografischen Eigenschaften der Patientenpopulation sind in Tabelle 22 dargestellt.

Tabelle 22 Demografische und Baseline-Eigenschaften von Organtransplantierten

Eigenschaften	Gruppen	Statistik
Anzahl der Patienten	Gesamt, N	107
Alter (in Jahren)	Mittelwert \pm SD	49 \pm 13,6
Alter (in Jahren)	Median	50
Alter (in Jahren)	Bereich	18–76
Geschlecht, n (%)	Männer, männlich	74 (69,2 %)
Geschlecht, n (%)	Frauen, weiblich	33 (30,8 %)
Ethnische Zugehörigkeit, n (%)	Hispano-/Lateinamerikaner	10 (9,3 %)
Ethnische Zugehörigkeit, n (%)	Nicht-Hispano-/Lateinamerikaner	91 (85,0 %)
Ethnische Zugehörigkeit, n (%)	Unbekannt	6 (5,6 %)
Population (Abstammung), n (%)	Asiaten	1 (0,9 %)
Population (Abstammung), n (%)	Schwarze/Afroamerikaner	16 (15,0 %)
Population (Abstammung), n (%)	Weißer	88 (82,2 %)
Population (Abstammung), n (%)	Andere	2 (1,9 %)
Immunsuppressive Induktion, n (%)	Ja	26 (24,3 %)
Immunsuppressive Induktion, n (%)	Nein	81 (75,7 %)
Studienarm, n (%)	CMV-Prophylaxeschema	53 (49,5 %)
Serologischer CMV-Status, n (%)	Spender positiv, Empfänger negativ	107 (100,0 %)

Hinweis: Die Kategorie „Unbekannt“ steht für Patienten, für die keine Daten vorlagen bzw. angegeben wurden.

CMV = Cytomegalievirus, SD = Standardabweichung.

Klinische Konkordanz in der Population der Organtransplantierten

Übereinstimmung bei Baseline

In Tabelle 23 bis Tabelle 26 sind die Ergebnisse der Konkordanzanalyse zwischen dem **cobas**® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test aufgeführt. Dafür wurden die folgenden Schwellenwerte verwendet: TND, < 1,37E+02 / ≥ 1,37E+02 IE/ml, < 5,00E+02 / ≥ 5,00E+02 IE/ml und < 1,8E+03 / ≥ 1,8E+03 IE/ml, von auswertbaren Proben, die am Tag des Behandlungsbeginns oder unmittelbar davor entnommen wurden.

Tabelle 23 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des **cobas**® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts für „Target Not Detected“ (gepaarte Proben bei Baseline der Anti-CMV-Therapie) in der Population der Organtransplantierten

cobas ® CMV-Test bei Baseline	TaqMan ® CMV-Test Target Not Detected	TaqMan ® CMV-Test Detected	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)^a
Target Not Detected	9	0	9	100,0 % (66,4 %, 100,0 %)
Detected	2	60	62	96,8 % (88,8 %, 99,6 %)
Gesamt	11	60	71	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI) ^a	81,8 % (48,2 %, 97,7 %)	100,0 % (94,0 %, 100,0 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI) ^a	97,2 % (90,2 %, 99,7 %)	-	-	-
p-Wert ^b	0,5000	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline auswertbar waren.

^a Es wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

^b Anhand McNemar-Test berechnet.

1 IE/ml = 1,1 Kopien/ml.

Tabelle 24 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des **cobas®** CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts 1,37E+02 IE/ml (gepaarte Proben bei Baseline der Anti-CMV-Therapie) in der Population der Organtransplantierten

cobas® CMV-Test bei Baseline	TaqMan® CMV-Test < 1,37E+02 IE/ml (< 2,137 log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test ≥ 1,37E+02 IE/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IE/ml)	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95-%-KI) ^a
< 1,37E+02 IE/ml (< 2,137 log ₁₀ IE/ml)	24	1	25	96,0 % (79,6 %, 99,9 %)
≥ 1,37E+02 IE/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IE/ml)	5*	41	46	89,1 % (76,4 %, 96,4 %)
Gesamt	29	42	71	
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95-%-KI) ^a	82,8 % (64,2 %, 94,2 %)	97,6 % (87,4 %, 99,9 %)	--	
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95-%-KI) ^a	91,5 % (82,5 %, 96,8 %)	-	-	-
p-Wert ^b	0,2188	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline auswertbar waren. Eine Probe mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ oder einer nachweisbaren Viruslast unter 1,37E+02 IE/ml wurde als „< 1,37E+02 IE/ml (< 2,137 log₁₀ IE/ml)“ eingestuft.

*Unter den 5 Patienten mit nicht übereinstimmenden Proben wurde bei 2 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

^a Es wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

^b Anhand McNemar-Test berechnet.

1 IE/ml = 1,1 Kopien/ml.

Tabelle 25 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des **cobas®** CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts 5,00E+02 IE/ml (gepaarte Proben bei Baseline der Anti-CMV-Therapie) in der Population der Organtransplantierten

cobas® CMV-Test bei Baseline	TaqMan® CMV-Test < 5,00E+02 IE/ml (< 2,699 log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test ≥ 5,00E+02 IE/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IE/ml)	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95-%-KI) ^a
< 5,00E+02 IE/ml (< 2,699 log ₁₀ IE/ml)	33	2	35	94,3 % (80,8 %, 99,3 %)
≥ 5,00E+02 IE/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IE/ml)	7*	29	36	80,6 % (64,0 %, 91,8 %)
Gesamt	40	31	71	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95-%-KI) ^a	82,5 % (67,2 %, 92,7 %)	93,5 % (78,6 %, 99,2 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95-%-KI) ^a	87,3 % (77,3 %, 94,0 %)	-	-	-
p-Wert ^b	0,1797	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline auswertbar waren. Eine Probe mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ oder einer nachweisbaren Viruslast unter 5,00E+02 IE/ml wurde als „< 5,00E+02 IE/ml (< 2,699 log₁₀ IE/ml)“ eingestuft.

*Unter den 7 Patienten mit nicht übereinstimmenden Proben wurde bei 3 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

^a Es wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

^b Anhand McNemar-Test berechnet.

1 IE/ml = 1,1 Kopien/ml.

Tabelle 26 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des **cobas®** CMV-Tests und des **TaqMan®** CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts 1,8E+03 IE/ml (gepaarte Proben bei Baseline der Anti-CMV-Therapie) in der Population der Organtransplantierten

cobas® CMV-Test bei Baseline	TaqMan® CMV-Test < 1,8E+03 IE/ml (< 3,255 log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test ≥ 1,8E+03 IE/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IE/ml)	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)^a
< 1,8E+03 IE/ml (< 3,255 log ₁₀ IE/ml)	48	0	48	100,0 % (92,6 %, 100,0 %)
≥ 1,8E+03 IE/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IE/ml)	4*	19	23	82,6 % (61,2 %, 95,0 %)
Gesamt	52	19	71	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI) ^a	92,3 % (81,5 %, 97,9 %)	100,0 % (82,4 %, 100,0 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI) ^a	94,4 % (86,2 %, 98,4 %)	-	-	-
p-Wert ^b	0,1250	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline auswertbar waren. Eine Probe mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ oder einer nachweisbaren Viruslast unter 1,8E+03 IE/ml wurde als „< 1,8E+03 IE/ml (< 3,255 log₁₀ IE/ml)“ eingestuft.

* Unter den 4 Patienten mit nicht übereinstimmenden Proben wurde bei 1 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

^a Es wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

^b Anhand McNemar-Test berechnet.

1 IE/ml = 1,1 Kopien/ml.

Auflösungsanalyse pro Tag

Tabelle 27 zeigt eine Konkordanzanalyse der Auflösung von CMV-Episoden bei Organtransplantierten an Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 und Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie.

Tabelle 27 Konkordanzanalyse der Auflösung von CMV-Episoden bei Organtransplantierten, bei denen bereits mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen wurde

Zeitpunkt nach Beginn der Anti-CMV-Therapie	cobas® CMV	TaqMan® CMV-Test Auflösung der CMV- Episode ^a	TaqMan® CMV-Test Keine Auflösung der CMV-Episode	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
Tag 14	Auflösung der CMV-Episode ^a	0	0	0	NB
Tag 14	Keine Auflösung der CMV-Episode	0	40	40	100,0 % (91,2 %, 100,0 %)
Tag 14	Gesamt	0	40	40	
Tag 14	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	NB	100,0 % (91,2 %, 100,0 %)	-	-
Tag 14	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	100,0 % (91,2 %, 100,0 %)	-	-	-
Tag 14	p-Wert ^b	NB	-	-	-
Tag 21	Auflösung der CMV-Episode ^a	0	0	0	NB
Tag 21	Keine Auflösung der CMV-Episode	1	50	51	98,0 % (89,6 %, 100,0 %)
Tag 21	Gesamt	1	50	51	

Zeitpunkt nach Beginn der Anti-CMV-Therapie	cobas® CMV	TaqMan® CMV-Test Auflösung der CMV-Episode ^a	TaqMan® CMV-Test Keine Auflösung der CMV-Episode	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95-%-KI)
Tag 21	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95-%-KI)	0,0 % (0,0 %, 97,5 %)	100,0 % (92,9 %, 100,0 %)	-	-
Tag 21	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95-%-KI)	98,0 % (89,6 %, 100,0 %)	-	-	-
Tag 21	p-Wert ^b	NB	-	-	-
Tag 28	Auflösung der CMV-Episode ^a	6	0	6	100,0 % (54,1 %, 100,0 %)
Tag 28	Keine Auflösung der CMV-Episode	4	46	50	92,0 % (80,8 %, 97,8 %)
Tag 28	Gesamt	10	46	56	-
Tag 28	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95-%-KI)	60,0 % (26,2 %, 87,8 %)	100,0 % (92,3 %, 100,0 %)	-	-
Tag 28	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95-%-KI)	92,9 % (82,7 %, 98,0 %)	-	-	-
Tag 28	p-Wert ^b	0,1250	-	-	-
Tag 35	Auflösung der CMV-Episode ^a	16	1	17	94,1 % (71,3 %, 99,9 %)
Tag 35	Keine Auflösung der CMV-Episode	8	31	39	79,5 % (63,5 %, 90,7 %)
Tag 35	Gesamt	24	32	56	-
Tag 35	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95-%-KI)	66,7 % (44,7 %, 84,4 %)	96,9 % (83,8 %, 99,9 %)	-	-
Tag 35	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95-%-KI)	83,9 % (71,7 %, 92,4 %)	-	-	-
Tag 35	p-Wert ^b	0,0391	-	-	-
Tag 49	Auflösung der CMV-Episode ^a	38	0	38	100,0 % (90,7 %, 100,0 %)
Tag 49	Keine Auflösung der CMV-Episode	7	12	19	63,2 % (38,4 %, 83,7 %)
Tag 49	Gesamt	45	12	57	-
Tag 49	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95-%-KI)	84,4 % (70,5 %, 93,5 %)	100,0 % (73,5 %, 100,0 %)	-	-
Tag 49	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95-%-KI)	87,7 % (76,3 %, 94,9 %)	-	-	-
Tag 49	p-Wert ^b	0,0156	-	-	-

Unter den Patienten, die in der Tabelle für Tag 14 aufgeführt sind, wurde bei 2 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

Unter den Patienten, die in der Tabelle für Tag 21 aufgeführt sind, wurde bei 2 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

Unter den Patienten, die in der Tabelle für Tag 28 aufgeführt sind, wurde bei 3 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

Unter den Patienten, die in der Tabelle für Tag 35 aufgeführt sind, wurde bei 3 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

Unter den Patienten, die in der Tabelle für Tag 49 aufgeführt sind, wurde bei 4 Patienten eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt.

^a Eine Auflösung der CMV-Episode war definitionsgemäß gegeben, wenn 2 aufeinanderfolgende Proben (die vorzugsweise in einem zeitlichen Abstand von einer Woche entnommen wurden) unter der Quantifizierungsgrenze (LLoQ) des TaqMan® CMV-Tests (137 IE/ml) lagen, also 2 aufeinanderfolgende „negative“ Proben als Viruslast-Endpunkt für die Behandlung akuter CMV-Episoden. Dies entspricht den derzeit empfohlenen Leitlinien.

^b Anhand McNemar-Test berechnet.

KI = Konfidenzintervall; NB = nicht bestimmbar.

Bei Verwendung zur Bestimmung der Auflösung virämischer Episoden an Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 und Tag 49 (nach Beginn der Anti-CMV-Therapie) lag die Gesamtübereinstimmung in Prozent zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test im Bereich von 83,9 % bis 100 % (Tabelle 28).

Tabelle 28 Gesamtübereinstimmung in Prozent nach Auflösungsstatus (nicht aufgelöst / aufgelöst) bei Organtransplantierten, die eine Anti-CMV-Therapie begonnen haben

Zeitpunkt	Übereinstimmung Nicht aufgelöst	Übereinstimmung Aufgelöst	Gesamtübereinstimmung in Prozent	Exaktes 95-%-KI Gesamtübereinstimmung in Prozent
Tag 14	100,0 % (40/40)	NB	100,0 % (40/40)	(91,2 %, 100,0 %)
Tag 21	100,0 % (50/50)	0,0 % (0/1)	98,0 % (50/51)	(89,6 %, 100,0 %)
Tag 28	100,0 % (46/46)	60,0 % (6/10)	92,9 % (52/56)	(82,7 %, 98,0 %)
Tag 35	96,9 % (31/32)	66,7 % (16/24)	83,9 % (47/56)	(71,7 %, 92,4 %)
Tag 49	100,0 % (12/12)	84,4 % (38/45)	87,7 % (50/57)	(76,3 %, 94,9 %)

Hinweis: Eine Auflösung der CMV-Episode war definitionsgemäß gegeben, wenn 2 aufeinanderfolgende Proben (die vorzugsweise in einem zeitlichen Abstand von einer Woche entnommen wurden) unter der Quantifizierungsgrenze (LLoQ) des TaqMan® CMV-Tests (137 IE/ml) lagen, also 2 aufeinanderfolgende „negative“ Proben als Viruslast-Endpunkt für die Behandlung akuter CMV-Episoden. Dies entspricht den derzeit empfohlenen Leitlinien.

2 der insgesamt 40 Proben an Tag 14 stammten von Patienten, bei denen eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt wurde.

2 der insgesamt 51 Proben an Tag 21 stammten von Patienten, bei denen eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt wurde.

3 der insgesamt 56 Proben an Tag 28 stammten von Patienten, bei denen eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt wurde.

3 der insgesamt 56 Proben an Tag 35 stammten von Patienten, bei denen eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt wurde.

4 der insgesamt 57 Proben an Tag 49 stammten von Patienten, bei denen eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt festgestellt wurde.

CMV = Cytomegalievirus; LLoQ = untere Quantifizierungsgrenze; NB = nicht bestimmbar.

Gesamtübereinstimmungen zwischen unterschiedlichen Viruslasten

Tabelle 29 zeigt die Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests für alle 1898 gepaarten Proben, die bei der Analyse der klinischen Konkordanz in der Population der Organtransplantierten auswertbar waren.

Tabelle 29 Zusammenfassung der Konkordanzanalysen (alle gepaarten Proben) in der Population der Organtransplantierten

Alle gepaarten Proben – cobas® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Target Not Detected	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) < 2,137	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,137 bis < 2,699	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,699 bis < 3,255	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 3,255 bis < 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Gesamt
Target Not Detected	1.022	8	0	0	0	0	1.030
< 2,137	168	193	6	0	0	0	367
2,137 bis < 2,699	3 ^a	76	61	8	0	0	148
2,699 bis < 3,255	0	12 ^c	73	63	1	0	149
3,255 bis < 3,899	1 ^b	5 ^d	8 ^e	44	58	0	116
≥ 3,899	0	0	3 ^f	1 ^b	45	39	88
Gesamt	1.194	294	151	116	104	39	1.898

Hinweis: In diese Tabelle wurden alle 1898 gepaarten Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz auswertbar waren. Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ) beträgt für den cobas® CMV-Test 3,45E+01 IE/ml und für den TaqMan® CMV-Test 1,37E+02 IE/ml. $\log_{10}(1,37E+02) = 2,137$; $\log_{10}(5,0E+02) = 2,699$; $\log_{10}(1,8E+03) = 3,255$; $\log_{10}(7,943E+03) = 3,899$.

^a Diese nicht übereinstimmenden Proben wurden sequenziert und in 2 der 3 Proben wurde eine signifikante Mutation mit großem Effekt festgestellt.

^b Diese nicht übereinstimmende Probe wurde sequenziert und es wurde festgestellt, dass sie eine signifikante Mutation mit großem Effekt enthält.

^c 8 der 12 nicht übereinstimmenden Proben wurden von 5 Patienten entnommen. Alle 8 Proben wurden sequenziert und es wurde festgestellt, dass sie eine signifikante Mutation mit großem Effekt enthalten.

^d Diese 5 nicht übereinstimmenden Proben wurden von 3 Patienten entnommen. Sie wurden sequenziert und es wurde in allen 5 Proben eine signifikante Mutation mit großem Effekt festgestellt.

^e 7 der 8 nicht übereinstimmenden Proben wurden von 3 Patienten entnommen. Alle 7 Proben wurden sequenziert und es wurde festgestellt, dass sie eine signifikante Mutation mit großem Effekt enthalten.

^f Diese 3 nicht übereinstimmenden Proben wurden von 2 Patienten entnommen. Sie wurden sequenziert und es wurde in allen 3 Proben eine signifikante Mutation mit großem Effekt festgestellt.

Tabelle 30 zeigt eine Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse nach unterschiedlichen Schwellenwerten („Target Not Detected“, 137 IE/ml, 500 IE/ml und 1800 IE/ml) für alle gepaarten Proben in der Population der Organtransplantierten.

Tabelle 30 Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse nach unterschiedlichen Schwellenwerten für alle gepaarten Proben in der Population der Organtransplantierten

Alle gepaarten Proben – cobas® CMV-Test	Übereinstimmung in Prozent < Schwellenwert	Übereinstimmung in Prozent ≥ Schwellenwert	Gesamtübereinstimmung in Prozent
	95%-KI (n/N)	95%-KI (n/N)	95%-KI (n/N)
Target Not Detected	85,6 % 83,5 %, 87,5 % (1022/1194)	98,9 % 97,8 %, 99,5 % (696/704)	90,5 % 89,1 %, 91,8 % (1718/1898)
137 IE/ml (2,1 log₁₀ IE/ml*)	93,5 % 92,1 %, 94,7 % (1391/1488)	98,5 % 96,8 %, 99,5 % (404/410)	94,6 % 93,5 %, 95,5 % (1795/1898)
500 IE/ml (2,7 log₁₀ IE/ml**)	93,8 % 92,5 %, 94,9 % (1537/1639)	96,9 % 94,0 %, 98,7 % (251/259)	94,2 % 93,1 %, 95,2 % (1788/1898)
1800 IE/ml (3,3 log₁₀ IE/ml***)	96,5 % 95,5 %, 97,3 % (1693/1755)	99,3 % 96,2 %, 100,0 % (142/143)	96,7 % 95,8 %, 97,4 % (1835/1898)

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz auswertbar waren. Proben mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ wurden als „< Schwellenwert in IE/ml“ eingestuft.

* Log₁₀ von 2,137 auf 2,1 log₁₀ IE/ml gerundet.

** Log₁₀ von 2,699 auf 2,7 log₁₀ IE/ml gerundet.

*** Log₁₀ von 3,255 auf 3,3 log₁₀ IE/ml gerundet.

Das 95%-Konfidenzintervall (KI) wurde nach dem exakten Verfahren berechnet. Dabei wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

Tabelle 31 zeigt die Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse des **cobas**® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests für alle 272 gepaarten Proben, die an Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 oder Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie in der Population der Organtransplantierten auswertbar waren.

Tabelle 31 Zusammenfassung der Konkordanzanalysen (gepaarte Proben an bestimmten Zeitpunkten von Interesse nach Beginn der Anti-CMV-Therapie) in der Population der Organtransplantierten

Alle Zeitpunkte von Interesse – cobas® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Target Not Detected	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) < 2,137	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,137 bis < 2,699	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,699 bis < 3,255	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 3,255 bis < 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Gesamt
Target Not Detected	24	3	0	0	0	0	27
< 2,137	36	42	1	0	0	0	79
2,137 bis < 2,699	0	27	18	0	0	0	45
2,699 bis < 3,255	0	4 ^a	25	16	0	0	45
3,255 bis < 3,899	0	2 ^b	1 ^c	21	12	0	36
≥ 3,899	0	0	2 ^b	0	26	12	40
Gesamt	60	78	47	37	38	12	272

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz an bestimmten Zeitpunkten von Interesse (Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 oder Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie) auswertbar waren. Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ) beträgt für den **cobas**® CMV-Test 3,45E+01 IE/ml und für den TaqMan® CMV-Test 1,37E+02 IE/ml.

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

^a Diese 4 nicht übereinstimmenden Proben wurden sequenziert und in 2 der 4 Proben wurde eine signifikante Mutation mit großem Effekt festgestellt.

^b Diese 2 nicht übereinstimmenden Proben wurden sequenziert und in beiden Proben wurde eine signifikante Mutation mit großem Effekt festgestellt.

^c Diese nicht übereinstimmende Probe wurde sequenziert und es wurde festgestellt, dass sie eine signifikante Mutation mit großem Effekt enthält.

Tabelle 32 zeigt eine Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse nach unterschiedlichen Schwellenwerten („Target Not Detected“, 137 IE/ml, 500 IE/ml und 1800 IE/ml) für alle gepaarten Proben, die an Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 oder Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie in der Population der Organtransplantierten auswertbar waren.

Tabelle 32 Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse nach unterschiedlichen Schwellenwerten für alle gepaarten Proben an Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 oder Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie in der Population der Organtransplantierten

Alle Zeitpunkte von Interesse – cobas® CMV-Test	Übereinstimmung in Prozent < Schwellenwert	Übereinstimmung in Prozent ≥ Schwellenwert	Gesamtübereinstimmung in Prozent
	95-%-KI (n/N)	95-%-KI (n/N)	95-%-KI (n/N)
Target Not Detected	40,0 % 27,6 %, 53,5 % (24/60)	98,6 % 95,9 %, 99,7 % (209/212)	85,7 % 80,9 %, 89,6 % (233/272)
137 IE/ml (2,1 log ₁₀ IE/ml*)	76,1 % 68,1 %, 82,9 % (105/138)	99,3 % 95,9 %, 100,0 % (133/134)	87,5 % 83,0 %, 91,2 % (238/272)
500 IE/ml (2,7 log ₁₀ IE/ml**)	81,6 % 75,3 %, 86,9 % (151/185)	100,0 % 95,8 %, 100,0 % (87/87)	87,5 % 83,0 %, 91,2 % (238/272)
1800 IE/ml (3,3 log ₁₀ IE/ml***)	88,3 % 83,3 %, 92,2 % (196/222)	100,0 % 92,9 %, 100,0 % (50/50)	90,4 % 86,3 %, 93,7 % (246/272)

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz an Tag 14, Tag 21, Tag 28, Tag 35 oder Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie auswertbar waren.

Proben mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ wurden als „< Schwellenwert in IE/ml“ eingestuft.

* Log₁₀ von 2,137 auf 2,1 log₁₀ IE/ml gerundet.

** Log₁₀ von 2,699 auf 2,7 log₁₀ IE/ml gerundet.

*** Log₁₀ von 3,255 auf 3,3 log₁₀ IE/ml gerundet.

Das 95-%-Konfidenzintervall (KI) wurde nach dem exakten Verfahren berechnet. Dabei wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

Methodenvergleich in der Population der Organtransplantierten

Es wurde ein Methodenvergleich durchgeführt, um die Leistungsmerkmale des cobas® CMV-Tests im Vergleich zu einem anderen FDA-zugelassenen Test zur Bestimmung der CMV-Viruslast, dem TaqMan® CMV-Test, zu beurteilen. Für den Vergleich wurden 543 gepaarte Proben verwendet, darunter 381 CMV-positive Proben aus der oben erwähnten doppelblinden, randomisierten, placebokontrollierten Phase-IIa-Studie zu einem CMV-Prophylaxeschema, ergänzt durch 64 übrig gebliebene Proben von Transplantationspatienten und 98 Proben, die durch Versetzen von CMV-negativem EDTA-Plasma mit kultiviertem CMV (Merlin-Stamm) künstlich hergestellt wurden.

In Tabelle 33 sowie in Abbildung 6 bis Abbildung 8 ist die Deming-Regression der für alle Standorte kombinierten Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests für die Population der Organtransplantierten dargestellt.

Tabelle 33 Parameterwerte aus der Deming-Regression zwischen den Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (cobas® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test)

Proben	Anzahl der gepaarten Proben	Parameter	Bestimmter Parameter	Standardfehler	95%-KI ^a 95%-KI ^b	r
Klinisch und versetzt	543	Achsenabschnitt	0,348 0,407*	0,033	(0,283, 0,413) (0,356, 0,462)	0,98
Klinisch und versetzt	543	Steigung	0,961 0,945*	0,009	(0,944, 0,979) (0,933, 0,957)	0,98
Klinisch	445	Achsenabschnitt	0,193 0,229*	0,037	(0,120, 0,266) (0,160, 0,301)	0,97
Klinisch	445	Steigung	1,023 1,010*	0,010	(1,002, 1,044) (0,992, 1,030)	0,97
Versetzt	98	Achsenabschnitt	0,012 k. A.	0,063	(-0,114, 0,138) k. A.	0,99
Versetzt	98	Steigung	0,985 k. A.	0,013	(0,960, 1,010) k. A.	0,99

Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Tabelle enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests.

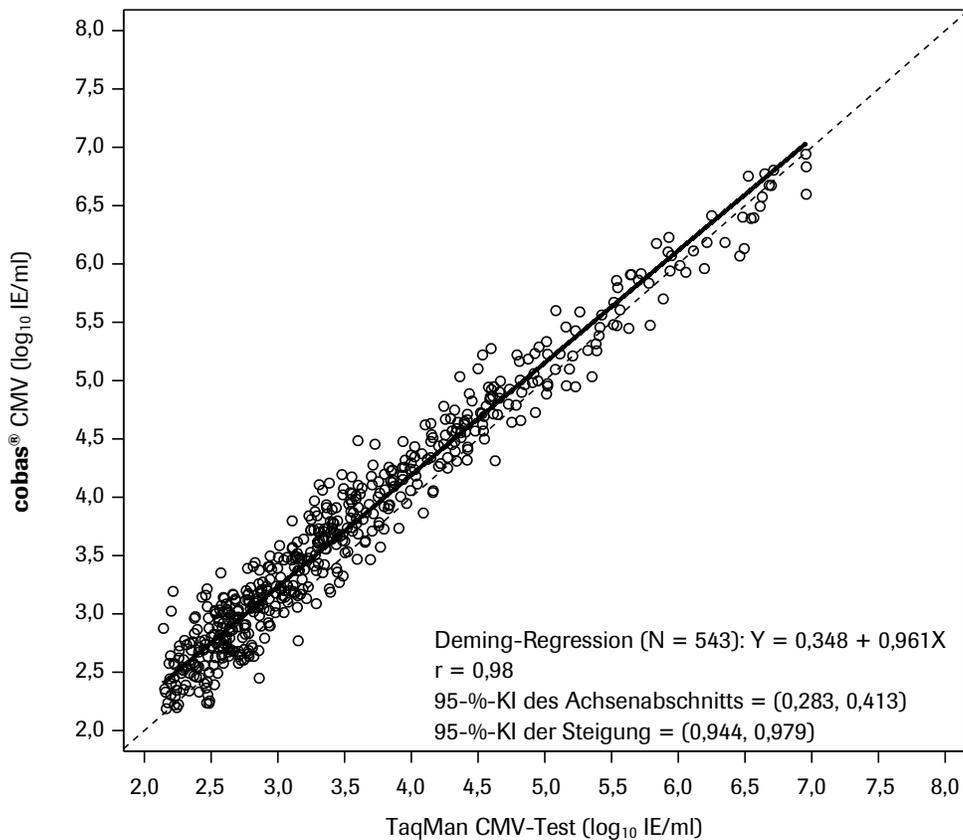
^a Es wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

^b Angepasste Korrelation zwischen den Proben derselben Patienten nach der Bootstrapping-Methode mit 500 Iterationen.

* Steht für das 50. Perzentil der Bootstrapping-Verteilung der bestimmten Parameterwerte.

KI = Konfidenzintervall; k. A. = keine Angabe; r = Korrelationskoeffizient.

Abbildung 6 Diagramm der linearen Deming-Regression der Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (cobas® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test; klinische und versetzte Proben)



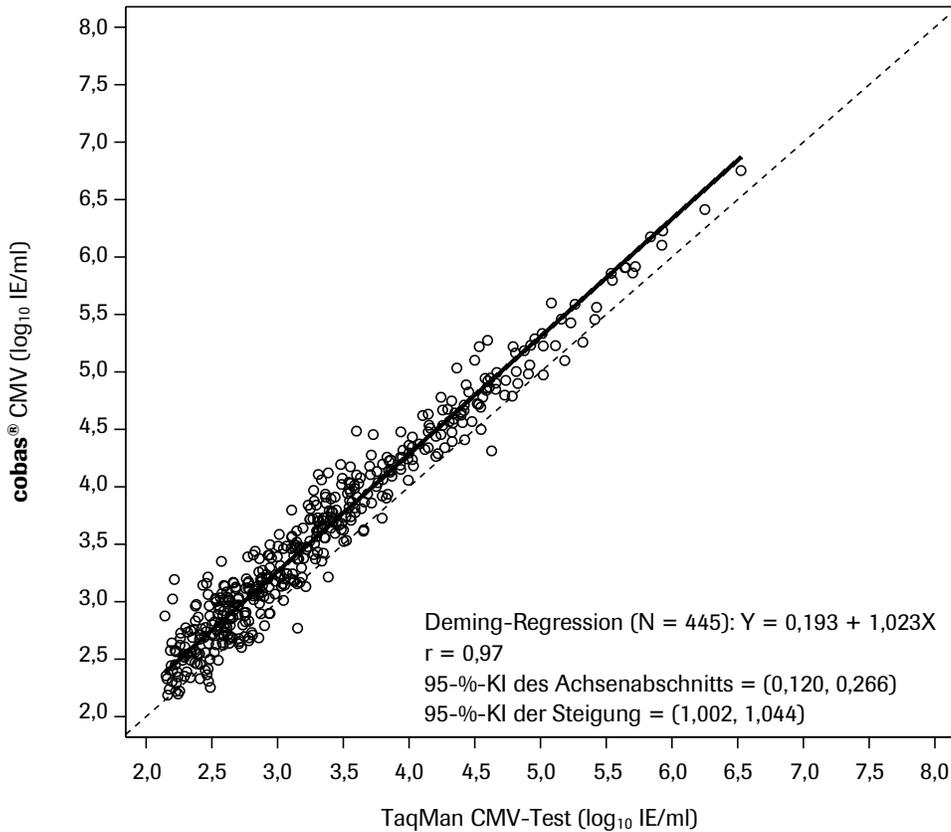
Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen.

Die Abbildung enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests.

KI = Konfidenzintervall.

r = Korrelationskoeffizient.

Abbildung 7 Diagramm der linearen Deming-Regression der Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (cobas® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test; klinische Proben)



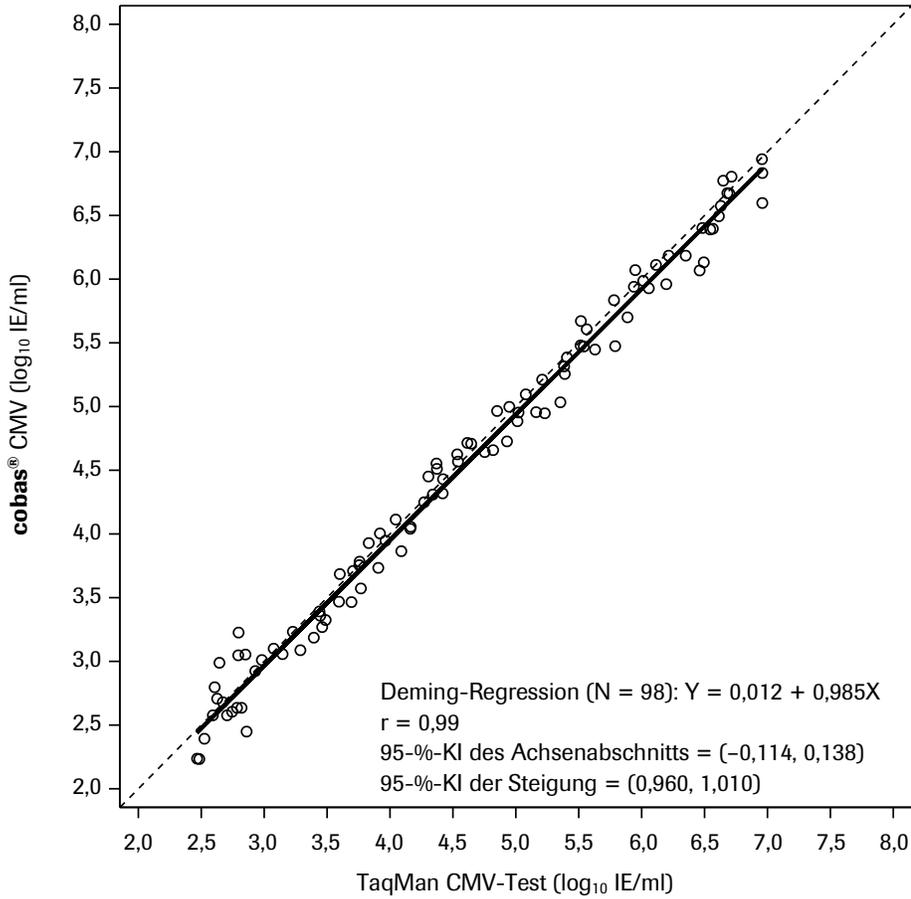
Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen.

Die Abbildung enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests.

KI = Konfidenzintervall.

r = Korrelationskoeffizient.

Abbildung 8 Diagramm der linearen Deming-Regression der Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (cobas® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test; versetzte Proben)



Hinweis: KI = Konfidenzintervall.

r = Korrelationskoeffizient.

Systematische Abweichung bei ausgewählten Viruslasten

Tabelle 34 zeigt die systematische Abweichung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test bei fünf ausgewählten Viruslasten im Bereich von 2,14 log₁₀ IE/ml bis 7,00 log₁₀ IE/ml mit den zugehörigen nicht transformierten Äquivalenten.

Tabelle 34 Systematische Abweichung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test (log₁₀ IE/ml) bei fünf ausgewählten Viruslasten (klinische und versetzte Proben)

Proben	Viruslast (pro TaqMan® CMV-Test)	Systematische Abweichung ^a
Klinisch und versetzt	2,137 log ₁₀ IE/ml (1,37E+02 IE/ml)	0,265 log ₁₀ IE/ml (1,15E+02 IE/ml)
Klinisch und versetzt	2,699 log ₁₀ IE/ml (5,00E+02 IE/ml)	0,243 log ₁₀ IE/ml (3,74E+02 IE/ml)
Klinisch und versetzt	3,255 log ₁₀ IE/ml (1,80E+03 IE/ml)	0,221 log ₁₀ IE/ml (1,19E+03 IE/ml)
Klinisch und versetzt	4,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+04 IE/ml)	0,192 log ₁₀ IE/ml (5,56E+03 IE/ml)
Klinisch und versetzt	7,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+07 IE/ml)	0,075 log ₁₀ IE/ml (1,89E+06 IE/ml)
Klinisch	2,137 log ₁₀ IE/ml (1,37E+02 IE/ml)	0,242 log ₁₀ IE/ml (1,02E+02 IE/ml)
Klinisch	2,699 log ₁₀ IE/ml (5,00E+02 IE/ml)	0,255 log ₁₀ IE/ml (4,00E+02 IE/ml)
Klinisch	3,255 log ₁₀ IE/ml (1,80E+03 IE/ml)	0,268 log ₁₀ IE/ml (1,53E+03 IE/ml)
Klinisch	4,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+04 IE/ml)	0,285 log ₁₀ IE/ml (9,28E+03 IE/ml)
Klinisch	7,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+07 IE/ml)	0,354 log ₁₀ IE/ml (1,26E+07 IE/ml)
Versetzt	2,137 log ₁₀ IE/ml (1,37E+02 IE/ml)	-0,020 log ₁₀ IE/ml (-6,19E+00 IE/ml)
Versetzt	2,699 log ₁₀ IE/ml (5,00E+02 IE/ml)	-0,028 log ₁₀ IE/ml (-3,17E+01 IE/ml)
Versetzt	3,255 log ₁₀ IE/ml (1,80E+03 IE/ml)	-0,037 log ₁₀ IE/ml (-1,46E+02 IE/ml)
Versetzt	4,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+04 IE/ml)	-0,048 log ₁₀ IE/ml (-1,05E+03 IE/ml)
Versetzt	7,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+07 IE/ml)	-0,093 log ₁₀ IE/ml (-1,93E+06 IE/ml)

^a Abweichung in IE/ml wurde wie folgt berechnet: 10(Parameterwert cobas® CMV-Test, log₁₀ IE/ml) – 10(Viruslast TaqMan® CMV-Test, log₁₀ IE/ml).

Mittelwert der gepaarten Differenz

Tabelle 35 zeigt die mittlere gepaarte Differenz zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test an repräsentativen Schwellenwerten und die zugehörigen, mittels Paardifferenzentest berechneten 95-%-Konfidenzintervalle.²⁸

Tabelle 35 Mittlere gepaarte Viruslast-Differenzen zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test (\log_{10} IE/ml) in repräsentativen Entscheidungsintervallen (IE/ml) in der Population der Organtransplantierten

Proben	Repräsentative Entscheidungsintervalle ^a (IE/ml)	N	Mittlere gepaarte Differenz (\log_{10} IE/ml)	SF für die mittlere gepaarte Differenz (\log_{10} IE/ml)	95-%-KI (\log_{10} IE/ml)
Klinisch und versetzt	1,37E+02 bis < 2,0E+03	275	0,234	0,013	(0,208, 0,260)
Klinisch und versetzt	2,0E+03 bis < 2,0E+04	143	0,260	0,019	(0,223, 0,296)
Klinisch und versetzt	2,0E+04 bis < 1,0E+05	62	0,195	0,025	(0,145, 0,245)
Klinisch und versetzt	≥ 1,0E+05	63	0,012	0,025	(-0,039, 0,062)
Klinisch und versetzt	Insgesamt	543	0,211	0,010	(0,191, 0,230)
Klinisch	1,37E+02 bis < 2,0E+03	253	0,256	0,013	(0,230, 0,282)
Klinisch	2,0E+03 bis < 2,0E+04	122	0,317	0,016	(0,285, 0,350)
Klinisch	2,0E+04 bis < 1,0E+05	47	0,251	0,027	(0,196, 0,305)
Klinisch	≥ 1,0E+05	23	0,201	0,030	(0,139, 0,262)
Klinisch	Insgesamt	445	0,269	0,009	(0,251, 0,288)
Versetzt	1,37E+02 bis < 2,0E+03	22	-0,017	0,044	(-0,108, 0,074)
Versetzt	2,0E+03 bis < 2,0E+04	21	-0,074	0,024	(-0,125, -0,024)
Versetzt	2,0E+04 bis < 1,0E+05	15	0,021	0,031	(-0,045, 0,086)
Versetzt	≥ 1,0E+05	40	-0,097	0,022	(-0,141, -0,053)
Versetzt	Insgesamt	98	-0,056	0,015	(-0,087, -0,025)

Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Tabelle enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von 1,37E+02 IE/ml bis 9,1E+06 IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests. Die gepaarten Ergebnisse innerhalb des linearen Bereichs beider Tests wurden auf der Grundlage des TaqMan® CMV-Testergebnisses (IE/ml) in repräsentative Entscheidungsintervalle eingeteilt.

^a Äquivalente repräsentative Entscheidungsintervalle (IE/ml) für 1,37E+02 bis < 2,0E+03 (IE/ml) = 2,137 bis < 3,301 (\log_{10} IE/ml), 2,0E+03 bis < 2,0E+04 (IE/ml) = 3,301 bis < 4,301 (\log_{10} IE/ml), 2,0E+04 bis < 1,0E+05 (IE/ml) = 4,301 bis < 5,000 (\log_{10} IE/ml) und ≥ 1,0E+05 (IE/ml) = ≥ 5,000 (\log_{10} IE/ml).

N = Anzahl der gepaarten Proben; SF = Standardfehler; KI = Konfidenzintervall.

Zulässige Gesamtdifferenz (ATD)

Tabelle 36 sowie Abbildung 9 bis Abbildung 11 auf den folgenden Seiten zeigen die Ergebnisse der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD, Allowable Total Difference) unter Verwendung der einzelnen gepaarten Differenzen zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test im Vergleich zu den zugehörigen Mittelwerten an repräsentativen Schwellenwerten und die berechneten Prozentsätze der gepaarten Ergebnisse im ATD-Bereich.

Tabelle 36 Prozentsatz der Proben in der Population der Organtransplantierten, die in die Intervalle (IE/ml) des ATD-Bereichs fallen (cobas® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test)

Proben	Intervallkategorie	Intervallbereich ^a (IE/ml)	Prozentsatz der gepaarten Proben im ATD-Bereich % (n/N)
Klinisch und versetzt	Niedrig	1,37E+02 bis < 2,0E+03	95,6 % (239/250)
Klinisch und versetzt	Mittel	2,0E+03 bis < 8,0E+03	89,6 % (103/115)
Klinisch und versetzt	Hoch	8,0E+03 bis 9,10E+06	95,5 % (170/178)
Klinisch und versetzt	Insgesamt	-	94,3 % (512/543)
Klinisch	Niedrig	1,37E+02 bis < 2,0E+03	95,2 % (216/227)
Klinisch	Mittel	2,0E+03 bis < 8,0E+03	88,2 % (90/102)
Klinisch	Hoch	8,0E+03 bis 9,10E+06	93,1 % (108/116)
Klinisch	Insgesamt	-	93,0 % (414/445)
Versetzt	Niedrig	1,37E+02 bis < 2,0E+03	100,0 % (23/23)
Versetzt	Mittel	2,0E+03 bis < 8,0E+03	100,0 % (13/13)
Versetzt	Hoch	8,0E+03 bis 9,10E+06	100,0 % (62/62)
Versetzt	Insgesamt	-	100,0 % (98/98)

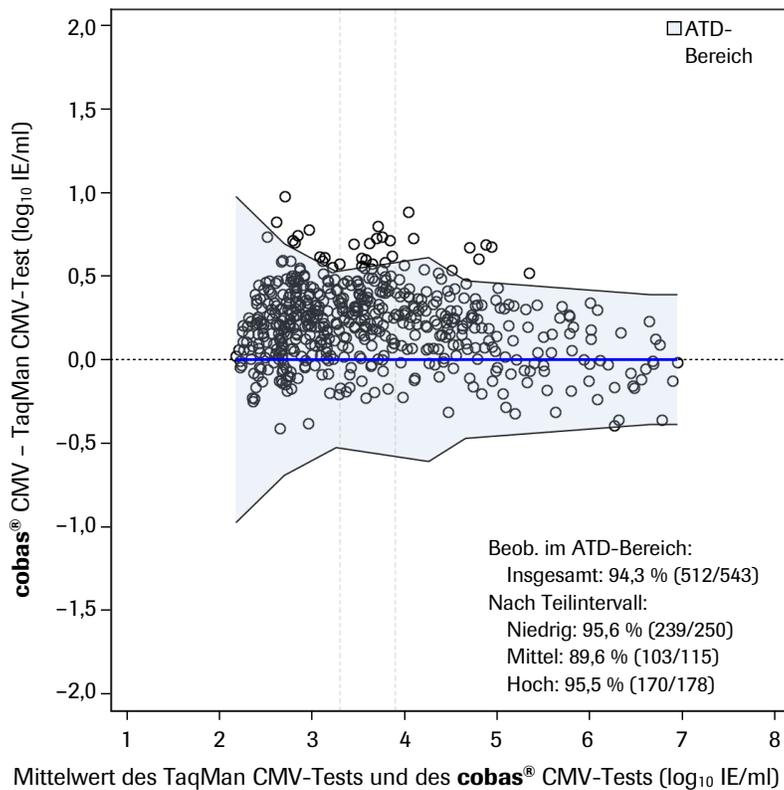
Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Tabelle enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von 1,37E+02 IE/ml bis 9,1E+06 IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests. Die gepaarten Ergebnisse wurden auf der Grundlage des TaqMan® CMV-Testergebnisses (IE/ml) in Viruslast-Intervalle eingestuft. ATD-Bereich = Bereich der zulässigen Gesamtdifferenz.

^a Die äquivalenten medizinisch relevanten Intervalle (IE/ml) für 1,37E+02 bis < 2,0E+03, 2,0E+03 bis < 8,0E+03 und 8,0E+03 bis 9,1E+06 in \log_{10} IE/ml betragen jeweils 2,137 bis < 3,301, 3,301 bis < 3,903 und 3,903 bis 6,959.

N = Gesamtanzahl der gepaarten Proben im entsprechenden Intervall.

n = Anzahl der gepaarten Proben, die sich im entsprechenden Intervall innerhalb des ATD-Bereichs befinden.

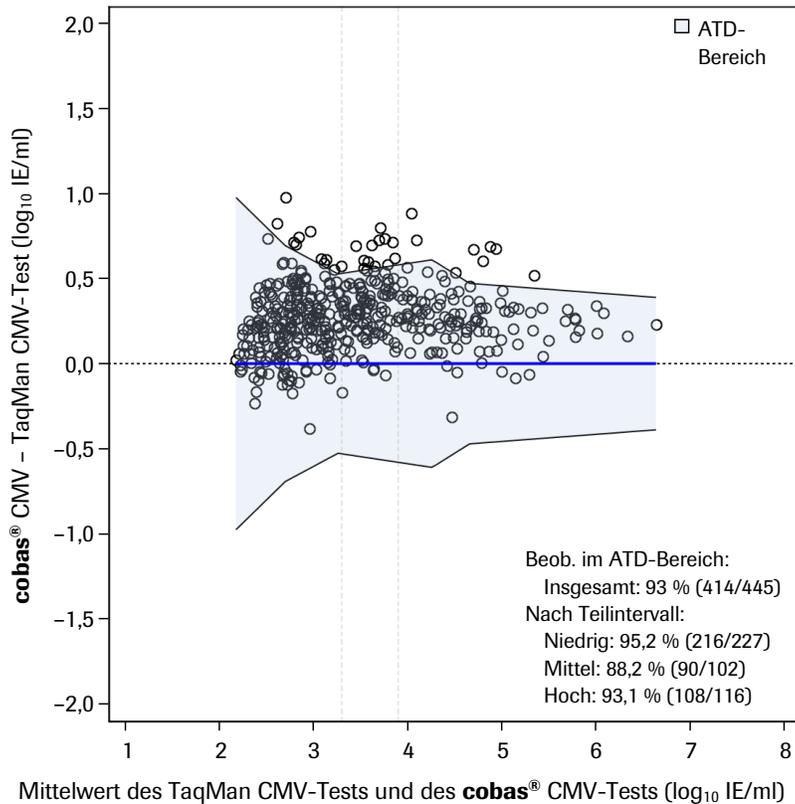
Abbildung 9 Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) der einzelnen Viruslast-Differenzen im Vergleich zum zugehörigen Mittelwert (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (**cobas**® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test; klinische und versetzte Proben)



ATD = zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference); Beob. = Beobachtungen.

Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Abbildung enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests. Die gepaarten Ergebnisse wurden auf der Grundlage des TaqMan® CMV-Testergebnisses (IE/ml) in Viruslast-Intervalle eingestuft.

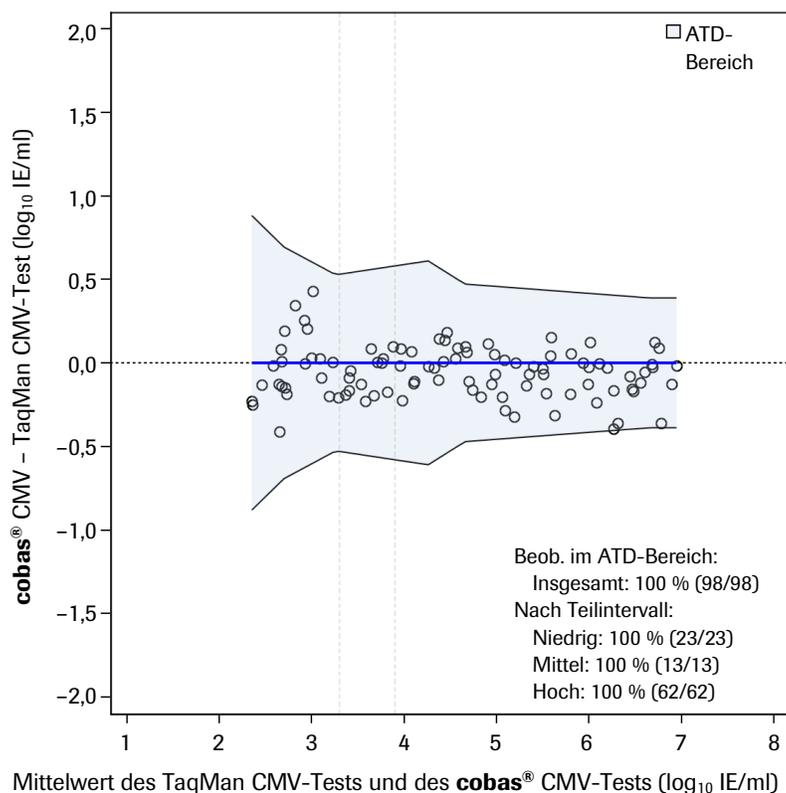
Abbildung 10 Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) der einzelnen Viruslast-Differenzen im Vergleich zum zugehörigen Mittelwert (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (cobas® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test; klinische Proben)



ATD = zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference); Beob. = Beobachtungen.

Hinweis: Sechszwanzig Proben von neun Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Abbildung enthält nur gepaarte Proben mit gepaarten Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem überlappenden linearen Bereich beider Tests. Die gepaarten Ergebnisse wurden auf der Grundlage des TaqMan® CMV-Testergebnisses (IE/ml) in Viruslast-Intervalle eingestuft.

Abbildung 11 Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) der einzelnen Viruslast-Differenzen im Vergleich zum zugehörigen Mittelwert (\log_{10} IE/ml) in der Population der Organtransplantierten (**cobas**® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test; versetzte Proben)



ATD = zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference); Beob. = Beobachtungen.

Übereinstimmung mit negativen Proben

Es wurden 30 CMV-IgG-negative Proben mit jedem Test getestet; die Ergebnisse sind in Tabelle 37 dargestellt.

Tabelle 37 Ergebnisse der CMV-IgG-negativen Proben (**cobas**® CMV-Test versus TaqMan® CMV-Test)

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

Hinweis: Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ) beträgt für den TaqMan® CMV-Test 1,37E+02 IE/ml.

CMV = Cytomegalievirus; IgG = Immunglobulin G.

Klinische Leistungsmerkmale: Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

Ziel dieser Studie war es, die Konkordanz zwischen dem **cobas**® CMV-Test und dem COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Test an einer Population von Personen zu evaluieren, die eine hämatopoetische Stammzelltransplantation erhalten haben. Dazu wurden Restproben getestet, die von einer randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten, multizentrischen klinischen Dosisfindungsstudie der Phase II zu Brincidofovir für die CMV-Prophylaxe²¹ übrig geblieben waren.

Alle getesteten Proben, die auswertbar waren, wurden im Laufe der Zeit von insgesamt 258 Patienten entnommen. Die Zielregionen des Tests wurden sequenziert für Proben, die zwischen zwei Tests einen Offset von $> 0,5 \log_{10}$ IE/ml aufwiesen, sowie für einen repräsentativen Probensatz ohne Mess-Offset. Mit einem mittleren Offset $> 0,9 \log_{10}$ IE/ml assoziierte Sequenzen wurden eingestuft als „mit großem Effekt“. Es wurden nur Sequenzen mit großem Effekt auf die Zielregionen des COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV-Tests bestimmt.

Tabelle 38 enthält eine Zusammenfassung der demografischen Eigenschaften und der klinischen Baseline-Eigenschaften der 258 Patienten.

Tabelle 38 Demografische Eigenschaften und klinische Baseline-Eigenschaften von Patienten, die eine hämatopoetische Stammzelltransplantation erhalten haben

Eigenschaften	Gruppen	Statistik
Gesamtanzahl der Patienten	Gesamt, N	258
Alter (in Jahren)	Mittelwert \pm SD	51 \pm 12,3
Alter (in Jahren)	Median	51
Alter (in Jahren)	Bereich	21–71
Geschlecht, n (%)	Männer, männlich	144 (55,8 %)
Geschlecht, n (%)	Frauen, weiblich	114 (44,2 %)
Ethnische Zugehörigkeit, n (%)	Hispano-/Lateinamerikaner	24 (9,3 %)
Ethnische Zugehörigkeit, n (%)	Nicht-Hispano-/Lateinamerikaner	230 (89,1 %)
Ethnische Zugehörigkeit, n (%)	Unbekannt	4 (1,6 %)
Population (Abstammung), n (%)	Asiaten	15 (5,8 %)
Population (Abstammung), n (%)	Schwarze/Afroamerikaner	10 (3,9 %)
Population (Abstammung), n (%)	Weißer	228 (88,4 %)
Population (Abstammung), n (%)	Andere	5 (1,9 %)
Studienarm, n (%)	CMV-Prophylaxeschema	164 (63,6 %)
Studienarm, n (%)	Placebo	61 (23,6 %)
Studienarm, n (%)	Screening-Versager	33 (12,8 %)

Hinweis: Patienten, für die keine Daten vorlagen bzw. angegeben wurden, wurden für die entsprechende Eigenschaft als „Unbekannt“ eingestuft. Die folgenden Kohorten sind in das CMV-Prophylaxeschema des Studienarms eingeschlossen: CMX001-Kohorte 1, CMX001-Kohorte 2, CMX001-Kohorte 3 und CMX001-Kohorte 4.

CMV = Cytomegalievirus; SD = Standardabweichung.

Klinische Konkordanz in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

Übereinstimmung bei Baseline auf der Grundlage der Viruslast-Schwellenwerte

Tabelle 39 zeigt die Übereinstimmung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test unter Verwendung des Schwellenwerts „Target Not Detected“ bei Baseline für Patienten, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Tabelle 39 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des cobas® CMV- und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts „Target Not Detected“ in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

cobas® CMV-Test bei Baseline	TaqMan® CMV-Test Target Not Detected	TaqMan® CMV-Test Detected	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
Target Not Detected	11	0	11	100,0 % (71,5 %, 100,0 %)
Detected	8*	48	56	85,7 % (73,8 %, 93,6 %)
Gesamt	19	48	67	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	57,9 % (33,5 %, 79,7 %)	100,0 % (92,6 %, 100,0 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	88,1 % (77,8 %, 94,7 %)	-	-	-
p-Wert ^a	0,0078	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline für Patienten auswertbar waren, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

* 1 der 8 nicht übereinstimmenden Proben stammte von einem Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt.

^a Anhand McNemar-Test berechnet.

KI = Konfidenzintervall.

Tabelle 40 zeigt die Übereinstimmung zwischen dem **cobas**® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test unter Verwendung des Schwellenwerts 1,37E+02 IE/ml bei Baseline für Patienten, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Tabelle 40 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des **cobas**® CMV- und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts 1,37E+02 IE/ml in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

cobas ® CMV-Test bei Baseline	TaqMan ® CMV-Test < 1,37E+02 IE/ml (< 2,137 log ₁₀ IE/ml)	TaqMan ® CMV-Test ≥ 1,37E+02 IE/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IE/ml)	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
< 1,37E+02 IE/ml (< 2,137 log ₁₀ IE/ml)	36	1	37	97,3 % (85,8 %, 99,9 %)
≥ 1,37E+02 IE/ml (≥ 2,137 log ₁₀ IE/ml)	1	29	30	96,7 % (82,8 %, 99,9 %)
Gesamt	37	30	67	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	97,3 % (85,8 %, 99,9 %)	96,7 % (82,8 %, 99,9 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	97,0 % (89,6 %, 99,6 %)	-	-	-
p-Wert ^a	1,0000	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline für Patienten auswertbar waren, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Eine Probe mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ oder einer nachweisbaren Viruslast unter 1,37E+02 IE/ml wurde als „< 1,37E+02 IE/ml (< 2,137 log₁₀ IE/ml)“ eingestuft.

Keine der 2 nicht übereinstimmenden Proben stammte von einem Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt.

^a Anhand McNemar-Test berechnet.

1,0E+00 IE/ml = 1,1 Kopien/ml.

KI = Konfidenzintervall.

Tabelle 41 zeigt die Übereinstimmung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test unter Verwendung des Schwellenwerts 5,0E+02 IE/ml bei Baseline für Patienten, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Tabelle 41 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des cobas® CMV- und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts 5,0E+02 IE/ml in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

cobas® CMV-Test bei Baseline	TaqMan® CMV-Test < 5,0E+02 IE/ml (< 2,699 log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test ≥ 5,0E+02 IE/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IE/ml)	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
< 5,0E+02 IE/ml (< 2,699 log ₁₀ IE/ml)	43	1	44	97,7 % (88,0 %, 99,9 %)
≥ 5,0E+02 IE/ml (≥ 2,699 log ₁₀ IE/ml)	0	23	23	100,0 % (85,2 %, 100,0 %)
Gesamt	43	24	67	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	100,0 % (91,8 %, 100,0 %)	95,8 % (78,9 %, 99,9 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	98,5 % (92,0 %, 100,0 %)	-	-	-
p-Wert ^a	1,0000	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline für Patienten auswertbar waren, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Eine Probe mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ oder einer nachweisbaren Viruslast unter 5,0E+02 IE/ml wurde als „< 5,0E+02 IE/ml (< 2,699 log₁₀ IE/ml)“ eingestuft.

Die 1 nicht übereinstimmende Probe stammte nicht von einem Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt.

^a Anhand McNemar-Test berechnet.

1,0E+00 IE/ml = 1,1 Kopien/ml.

KI = Konfidenzintervall.

Tabelle 42 zeigt die Übereinstimmung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test unter Verwendung des Schwellenwerts 1,8E+03 IE/ml bei Baseline für Patienten, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Tabelle 42 Konkordanzanalyse der Ergebnisse des cobas® CMV- und des TaqMan® CMV-Tests unter Verwendung des Schwellenwerts 1,8E+03 IE/ml in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

cobas® CMV-Test bei Baseline	TaqMan® CMV-Test < 1,8E+03 IE/ml (< 3,255 log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test ≥ 1,8E+03 IE/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IE/ml)	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
< 1,8E+03 IE/ml (< 3,255 log ₁₀ IE/ml)	48	0	48	100,0 % (92,6 %, 100,0 %)
≥ 1,8E+03 IE/ml (≥ 3,255 log ₁₀ IE/ml)	2	17	19	89,5 % (66,9 %, 98,7 %)
Gesamt	50	17	67	-
Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	96,0 % (86,3 %, 99,5 %)	100,0 % (80,5 %, 100,0 %)	-	-
Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	97,0 % (89,6 %, 99,6 %)	-	-	-
p-Wert ^a	0,5000	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz bei Baseline für Patienten auswertbar waren, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Eine Probe mit dem Ergebnis „Target Not Detected“ oder einer nachweisbaren Viruslast unter 1,8E+03 IE/ml wurde als „ < 1,8E+03 IE/ml (< 3,255 log₁₀ IE/ml)“ eingestuft.

Keine der 2 nicht übereinstimmenden Proben stammte von einem Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt.

^a Anhand McNemar-Test berechnet.

1,0E+00 IE/ml = 1,1 Kopien/ml; 1,8E+03 IE/ml = 2000 Kopien/ml.

KI = Konfidenzintervall.

Analyse der Auflösung von CMV-Episoden

Tabelle 43 zeigt die Konkordanzanalysen der Auflösung von CMV-Episoden zu bestimmten Zeitpunkten für virämische Patienten, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben.

Tabelle 43 Konkordanzanalyse der Auflösung von CMV-Episoden nach Zeitpunkt für virämische Patienten, die eine hämatopoetische Stammzelltransplantation erhalten und mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben

Zeitpunkt	cobas® CMV	TaqMan® CMV-Test Auflösung der CMV-Episode ^a	TaqMan® CMV-Test Keine Auflösung der CMV-Episode	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
Tag 14	Auflösung der CMV-Episode ^a	0	0	0	NB
Tag 14	Keine Auflösung der CMV-Episode	0	14	14	100,0 % (76,8 %, 100,0 %)
Tag 14	Gesamt	0	14	14	-
Tag 14	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	NB	100,0 % (76,8 %, 100,0 %)	-	-
Tag 14	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	100,0 % (76,8 %, 100,0 %)	-	-	-
Tag 21	Auflösung der CMV-Episode ^a	1	0	1	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)
Tag 21	Keine Auflösung der CMV-Episode	0	12	12	100,0 % (73,5 %, 100,0 %)
Tag 21	Gesamt	1	12	13	-

Zeitpunkt	cobas® CMV	TaqMan® CMV-Test Auflösung der CMV-Episode ^a	TaqMan® CMV-Test Keine Auflösung der CMV-Episode	Gesamt	Übereinstimmung Zeile (exaktes 95%-KI)
Tag 21	Übereinstimmung Spalte (exaktes 95%-KI)	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)	100,0 % (73,5 %, 100,0 %)	-	-
Tag 21	Gesamtübereinstimmung in Prozent (exaktes 95%-KI)	100,0 % (75,3 %, 100,0 %)	-	-	-
Tag 28	Auflösung der CMV-Episode ^a	2	0	2	100,0 % (15,8 %, 100,0 %)
Tag 28	Keine Auflösung der CMV-Episode	0	7	7	100,0 % (59,0 %, 100,0 %)
Tag 28	Gesamt	2	7	9	-
Tag 28	Übereinstimmung Spalte	100,0 % (15,8 %, 100,0 %)	100,0 % (59,0 %, 100,0 %)	-	-
Tag 28	Gesamtübereinstimmung in Prozent	100,0 % (66,4 %, 100,0 %)	-	-	-
Tag 49	Auflösung der CMV-Episode ^a	3	0	3	100,0 % (29,2 %, 100,0 %)
Tag 49	Keine Auflösung der CMV-Episode	0	1	1	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)
Tag 49	Gesamt	3	1	4	-
Tag 49	Übereinstimmung Spalte	100,0 % (29,2 %, 100,0 %)	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)	-	-
Tag 49	Gesamtübereinstimmung in Prozent	100,0 % (39,8 %, 100,0 %)	-	-	-

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur Patienten mit gepaarten Ergebnissen aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz entweder an Tag 14, Tag 21, Tag 28 oder Tag 49 nach Beginn der Anti-CMV-Therapie auswertbar waren und für die ein Auflösungsstatus für den jeweiligen Test vorlag. Bei zwei Patienten lag mit beiden Tests an Tag 28 eine Auflösung der CMV-Episode vor und ihr Auflösungsstatus hatte bis Tag 49 Bestand. Keiner der in diese Analyse eingeschlossenen Patienten wies eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt auf.

^a Eine Auflösung der CMV-Episode war definitionsgemäß gegeben, wenn 2 aufeinanderfolgende Proben (die vorzugsweise in einem zeitlichen Abstand von einer Woche entnommen wurden) unter der Quantifizierungsgrenze (LLoQ) des TaqMan® CMV-Tests (137 IE/ml) lagen, also 2 aufeinanderfolgende „negative“ Proben als Viruslast-Endpunkt für die Behandlung akuter CMV-Episoden. Dies entspricht den derzeit empfohlenen Leitlinien.

CMV = Cytomegalievirus. NB = nicht bestimmbar.

Tabelle 44 zeigt die Gesamtübereinstimmung in Prozent bei der Konkordanzanalyse der Auflösung von CMV-Episoden zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test für virämische Patienten an Tag 14, Tag 21, Tag 28 und Tag 49. Die Gesamtübereinstimmung in Prozent betrug für alle Zeitpunkte von Interesse 100 %. Das Akzeptanzkriterium für die Gesamtübereinstimmung in Prozent wurde somit erfüllt.

Tabelle 44 Gesamtübereinstimmung in Prozent bei der Konkordanzanalyse der Auflösung von CMV-Episoden bei virämischen Patienten, die eine hämatopoetische Stammzelltransplantation erhalten und mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben

Zeitpunkt	Gesamtübereinstimmung in Prozent Nicht aufgelöst	Gesamtübereinstimmung in Prozent Aufgelöst	Gesamtübereinstimmung in Prozent	Exaktes 95%-KI Gesamtübereinstimmung in Prozent
Tag 14	100,0 % (14/14)	NB	100,0 % (14/14)	(76,8 %, 100,0 %)
Tag 21	100,0 % (12/12)	100,0 % (1/1)	100,0 % (13/13)	(75,3 %, 100,0 %)
Tag 28	100,0 % (7/7)	100,0 % (2/2)	100,0 % (9/9)	(66,4 %, 100,0 %)
Tag 49	100,0 % (1/1)	100,0 % (3/3)	100,0 % (4/4)	(39,8 %, 100,0 %)

Hinweis: Bei zwei Patienten lag mit beiden Tests an Tag 28 eine Auflösung der CMV-Episode vor und ihr Auflösungsstatus hatte bis Tag 49 Bestand. Keiner der in diese Analyse eingeschlossenen Patienten wies eine Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt auf. Eine Auflösung der CMV-Episode war definitionsgemäß gegeben, wenn 2 aufeinanderfolgende Proben (die vorzugsweise in einem zeitlichen Abstand von einer Woche entnommen wurden) unter der Quantifizierungsgrenze (LLOQ) des TaqMan® CMV-Tests (1,37E+02 IE/ml) lagen, also 2 aufeinanderfolgende „negative“ Proben als Viruslast-Endpunkt für die Behandlung akuter CMV-Episoden. Dies entspricht den derzeit empfohlenen Leitlinien.

CMV = Cytomegalievirus; LLOQ = untere Quantifizierungsgrenze; NB = nicht bestimmbar.

Gesamtübereinstimmungen nach Viruslast

Tabelle 45 zeigt die Gesamtübereinstimmung der Viruslast-Ergebnisse zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test für alle 1367 gepaarten Proben in der Analyse der klinischen Konkordanz.

Tabelle 45 Gesamtübereinstimmung zwischen den Viruslast-Ergebnissen des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

Alle gepaarten Proben cobas® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Target Not Detected	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) < 2,137	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,137 bis < 2,699	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,699 bis < 3,255	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 3,255 bis < 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Gesamt
Target Not Detected	918	23	0	0	1	1	943
< 2,137	154	138	9	0	0	0	301
2,137 bis < 2,699	0	13	24	5	0	0	42
2,699 bis < 3,255	1*	1	17	17	0	0	36
3,255 bis 3,899	0	0	0	8	16	1	25
> 3,899	0	0	0	0	10	10	20
Gesamt	1.073	175	50	30	27	12	1.367

Hinweis: In diese Tabelle wurden alle gepaarten Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz auswertbar waren. Die untere Quantifizierungsgrenze (LLOQ) beträgt für den cobas® CMV-Test 3,45E+01 IE/ml und für den TaqMan® CMV-Test 1,37E+02 IE/ml. Die Ergebnisse wurden je nach dem IE/ml-Ergebnis des jeweiligen Tests in einen der fünf Viruslast-Bereiche eingestuft.

In diese Tabelle wurden sieben Proben von drei Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt einbezogen.

* Die Probe stammt von einem Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt.

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

Tabelle 46 zeigt eine Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse bei unterschiedlichen Schwellenwerten („Target Not Detected“, 137 IE/ml, 500 IE/ml und 1800 IE/ml) für alle gepaarten Proben in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten.

Tabelle 46 Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse bei unterschiedlichen Schwellenwerten in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (alle gepaarten Proben)

Schwellenwert	Übereinstimmung in Prozent < Schwellenwert Exaktes 95%-KI (n/N)	Übereinstimmung in Prozent ≥ Schwellenwert Exaktes 95%-KI (n/N)	Gesamtübereinstimmung in Prozent Exaktes 95%-KI (n/N)
Target Not Detected	85,6 % (83,3 %, 87,6 %) (918/1073)	91,5 % (87,7 %, 94,4 %) (269/294)	86,8 % (84,9 %, 88,6 %) (1187/1367)
1,37E+02 IE/ml (2,137 log ₁₀ IE/ml)	98,8 % (98,0 %, 99,3 %) (1233/1248)	90,8 % (84,1 %, 95,3 %) (108/119)	98,1 % (97,2 %, 98,8 %) (1341/1367)
5,0E+02 IE/ml (2,699 log ₁₀ IE/ml)	98,5 % (97,7 %, 99,1 %) (1279/1298)	89,9 % (80,2 %, 95,8 %) (62/69)	98,1 % (97,2 %, 98,8 %) (1341/1367)
1,8E+03 IE/ml (3,255 log ₁₀ IE/ml)	99,4 % (98,8 %, 99,7 %) (1320/1328)	94,9 % (82,7 %, 99,4 %) (37/39)	99,3 % (98,7 %, 99,6 %) (1357/1367)

Hinweis: In diese Tabelle wurden alle gepaarten Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz auswertbar waren. Die Nachweisgrenze des cobas® CMV-Tests beträgt 3,45E+01 IE/ml. Die Nachweisgrenze des TaqMan® CMV-Tests beträgt 1,37E+02 IE/ml. Das 95%-Konfidenzintervall (KI) wurde nach dem exakten Verfahren berechnet. Dabei wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

1 IE/ml = 1,1 Kopien/ml; LoD = Nachweisgrenze.

Tabelle 47 zeigt die Gesamtübereinstimmung zwischen den Viruslast-Ergebnissen des **cobas**® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests für alle Proben von Patienten, die mit einer Anti-CMV-Therapie begonnen haben. Die Proben wurden zu im Prüfplan festgelegten Zeitpunkten von Interesse nach Beginn der Anti-CMV-Therapie entnommen.

Tabelle 47 Gesamtübereinstimmung zwischen der Viruslast des **cobas**® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests für Proben zu bestimmten Zeitpunkten von Interesse nach Beginn der Anti-CMV-Therapie in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

Alle Zeitpunkte cobas® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml)	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Target Not Detected	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) < 2,137	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,137 bis < 2,699	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 2,699 bis < 3,255	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) 3,255 bis < 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV-Test (log ₁₀ IE/ml) Gesamt
Target Not Detected	17	1	0	0	0	0	18
< 2,137	10	8	0	0	0	0	18
2,137 bis < 2,699	0	0	0	0	0	0	0
2,699 bis < 3,255	1*	0	2	2	0	0	5
3,255 bis 3,899	0	0	0	2	0	0	2
> 3,899	0	0	0	0	1	1	2
Gesamt	28	9	2	4	1	1	45

Hinweis: In diese Tabelle wurden nur gepaarte Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz an den Zeitpunkten Tag 14, Tag 21, Tag 28 oder Tag 49 auswertbar waren. Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ) beträgt für den **cobas**® CMV-Test 3,45E+01 IE/ml und für den TaqMan® CMV-Test 1,37E+02 IE/ml. Die Ergebnisse wurden je nach dem IE/ml-Ergebnis des jeweiligen Tests in einen der fünf Viruslast-Bereiche eingestuft.

* Die Probe stammt von einem Patienten mit einer Sequenz-Fehlpaarung mit großem Effekt.

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

Tabelle 48 zeigt eine Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse für gepaarte Proben zu bestimmten Zeitpunkten von Interesse nach Beginn der Anti-CMV-Therapie bei unterschiedlichen Schwellenwerten („Target Not Detected“, 137 IE/ml, 500 IE/ml und 1800 IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten.

Tabelle 48 Zusammenfassung der Konkordanz der Viruslast-Ergebnisse bei unterschiedlichen Schwellenwerten in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (Proben an Zeitpunkten von Interesse nach Beginn der Anti-CMV-Therapie)

Schwellenwert	Übereinstimmung in Prozent < Schwellenwert Exaktes 95-%-KI (n/N)	Übereinstimmung in Prozent ≥ Schwellenwert Exaktes 95-%-KI (n/N)	Gesamtübereinstimmung in Prozent Exaktes 95-%-KI (n/N)
Target Not Detected	60,7 % (40,6 %, 78,5 %) (17/28)	94,1 % (71,3 %, 99,9 %) (16/17)	73,3 % (58,1 %, 85,4 %) (33/45)
1,37E+02 IE/ml (2,137 log ₁₀ IE/ml)	97,3 % (85,8 %, 99,9 %) (36/37)	100,0 % (63,1 %, 100,0 %) (8/8)	97,8 % (88,2 %, 99,9 %) (44/45)
5,0E+02 IE/ml (2,699 log ₁₀ IE/ml)	92,3 % (79,1 %, 98,4 %) (36/39)	100,0 % (54,1 %, 100,0 %) (6/6)	93,3 % (81,7 %, 98,6 %) (42/45)
1,8E+03 IE/ml (3,255 log ₁₀ IE/ml)	95,3 % (84,2 %, 99,4 %) (41/43)	100,0 % (15,8 %, 100,0 %) (2/2)	95,6 % (84,9 %, 99,5 %) (43/45)

Hinweis: In diese Tabelle wurden alle gepaarten Proben aufgenommen, die für die Analyse der klinischen Konkordanz auswertbar waren. Die Nachweisgrenze des cobas® CMV-Tests beträgt 3,45E+01 IE/ml. Die Nachweisgrenze des TaqMan® CMV-Tests beträgt 1,37E+02 IE/ml. Das 95-%-Konfidenzintervall (KI) wurde nach dem exakten Verfahren berechnet. Dabei wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

1 IE/ml = 1,1 Kopien/ml; LoD = Nachweisgrenze.

Methodenvergleich in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

Es wurde ein Methodenvergleich durchgeführt, um die Leistungsmerkmale des **cobas**® CMV-Tests im Vergleich zu einem anderen FDA-zugelassenen Test zur Bestimmung der CMV-Viruslast, dem TaqMan® CMV-Test, in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten zu beurteilen. Für den Vergleich wurden 204 gepaarte Proben verwendet, darunter 107 CMV-positive Proben aus der oben erwähnten Phase-II-Studie zu einem CMV-Prophylaxeschema, ergänzt durch 97 Proben, die durch Versetzen von negativem Plasma von hämatopoetisch Stammzelltransplantierten mit kultiviertem CMV (Merlin-Stamm) hergestellt wurden.

Tabelle 49 enthält die Parameter nach Probenmaterial, die mittels Deming-Regression der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des **cobas**® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests bestimmt wurden.

Tabelle 49 Parameterwerte, die mittels Deming-Regression zwischen den Viruslasten (\log_{10} IE/ml) des **cobas**® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten bestimmt wurden; nach Probenmaterial

Probenmaterial	Anzahl der gepaarten Proben	Parameter	Bestimmter Parameter	Standardfehler	95-%-KI ^a 95-%-KI (Bootstrapping) ^b	r
Klinisch und versetzt	204	Achsenabschnitt	0,145 0,172*	0,041	(0,064, 0,227) (0,132, 0,219)	0,99
Klinisch und versetzt	204	Steigung	0,990 0,982*	0,009	(0,972, 1,008) (0,972, 0,990)	0,99
Klinisch	107	Achsenabschnitt	-0,146 -0,188*	0,106	(-0,356, 0,064) (-0,462, -0,008)	0,96
Klinisch	107	Steigung	1,110 1,125*	0,034	(1,041, 1,178) (1,066, 1,217)	0,96
Versetzt	97	Achsenabschnitt	-0,097 k. A.	0,063	(-0,223, 0,028) k. A.	0,99
Versetzt	97	Steigung	1,025 k. A.	0,012	(1,000, 1,049) k. A.	0,99

Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Tabelle enthält nur gepaarte klinische und versetzte Proben mit Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem gemeinsamen linearen Bereich beider Tests.

^a Es wurde angenommen, dass alle Proben voneinander unabhängig sind.

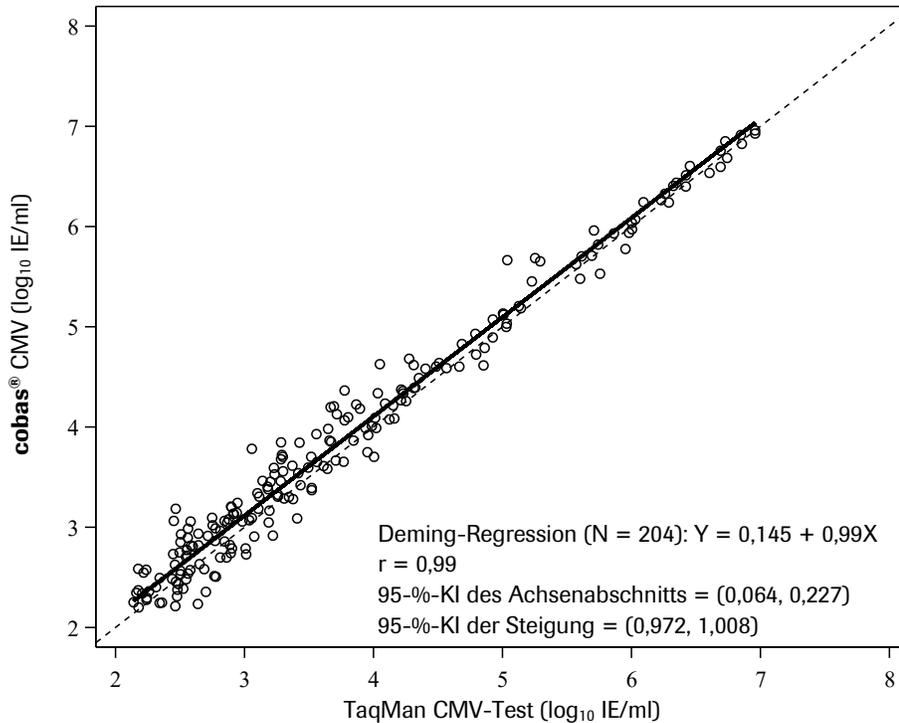
^b Angepasste Korrelation zwischen den Proben desselben Patienten nach der Bootstrapping-Methode mit 500 Iterationen.

* Steht für das 50. Perzentil der Bootstrapping-Verteilung der bestimmten Parameterwerte.

KI = Konfidenzintervall; **cobas**® CMV-Test = **cobas**® CMV-Test zur Verwendung auf den **cobas**® 6800/8800 Systems; k. A. = keine Angabe; r = Korrelationskoeffizient.

Abbildung 12 zeigt das Diagramm der Deming-Regression der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests, kombiniert für klinische und versetzte Proben.

Abbildung 12 Diagramm der linearen Deming-Regression der Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (klinische und versetzte Proben)

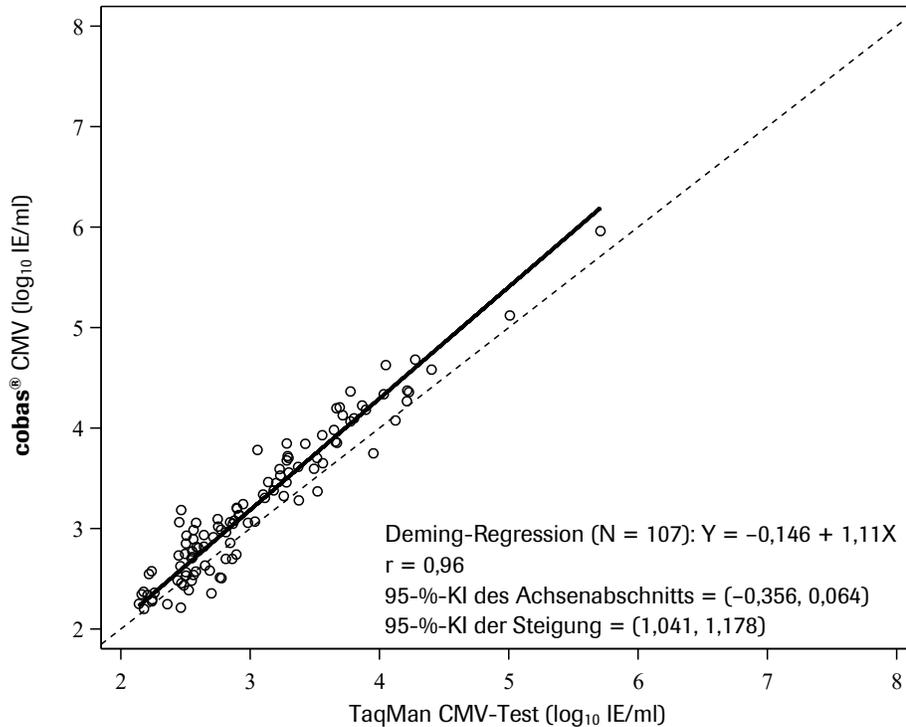


Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen.

KI = Konfidenzintervall; r = Korrelationskoeffizient.

Abbildung 13 zeigt das Diagramm der Deming-Regression der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests von klinischen Proben.

Abbildung 13 Diagramm der linearen Deming-Regression der Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (klinische Proben)

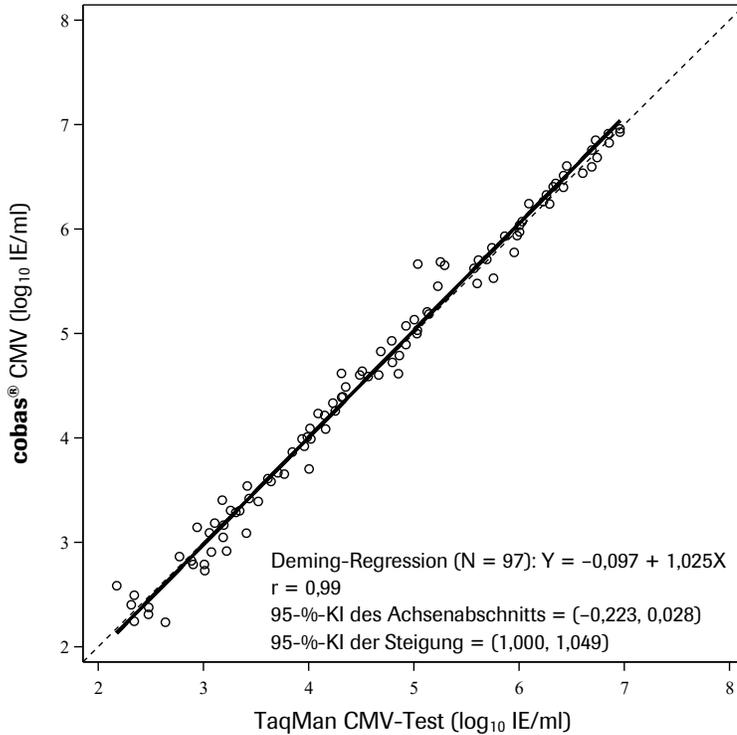


Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen.

KI = Konfidenzintervall; r = Korrelationskoeffizient.

Abbildung 14 zeigt das Diagramm der Deming-Regression der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests von versetzten Proben.

Abbildung 14 Diagramm der linearen Deming-Regression der Viruslasten (\log_{10} IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (versetzte Proben)



KI = Konfidenzintervall; r = Korrelationskoeffizient.

Systematische Abweichung bei ausgewählten Viruslasten

Tabelle 50 zeigt die systematische Abweichung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test bei fünf ausgewählten Viruslasten im Bereich von 2,14 log₁₀ IE/ml bis 7,00 log₁₀ IE/ml mit den zugehörigen nicht transformierten Äquivalenten.

Tabelle 50 Systematische Abweichung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test (log₁₀ IE/ml) bei fünf ausgewählten Viruslasten in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (klinische und versetzte Proben)

Probenmaterial	Viruslast (pro TaqMan® CMV-Test)	Systematische Abweichung zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test
Klinisch und versetzt	2,137 log ₁₀ IE/ml (1,37E+02 IE/ml)	0,124 log ₁₀ IE/ml (4,51E+01 IE/ml)
Klinisch und versetzt	2,699 log ₁₀ IE/ml (5,00E+02 IE/ml)	0,118 log ₁₀ IE/ml (1,56E+02 IE/ml)
Klinisch und versetzt	3,255 log ₁₀ IE/ml (1,80E+03 IE/ml)	0,112 log ₁₀ IE/ml (5,32E+02 IE/ml)
Klinisch und versetzt	4,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+04 IE/ml)	0,105 log ₁₀ IE/ml (2,74E+03 IE/ml)
Klinisch und versetzt	7,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+07 IE/ml)	0,075 log ₁₀ IE/ml (1,89E+06 IE/ml)
Klinisch	2,137 log ₁₀ IE/ml (1,37E+02 IE/ml)	0,089 log ₁₀ IE/ml (3,12E+01 IE/ml)
Klinisch	2,699 log ₁₀ IE/ml (5,00E+02 IE/ml)	0,151 log ₁₀ IE/ml (2,08E+02 IE/ml)
Klinisch	3,255 log ₁₀ IE/ml (1,80E+03 IE/ml)	0,212 log ₁₀ IE/ml (1,13E+03 IE/ml)
Klinisch	4,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+04 IE/ml)	0,294 log ₁₀ IE/ml (9,68E+03 IE/ml)
Klinisch	7,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+07 IE/ml)	0,624 log ₁₀ IE/ml (3,21E+07 IE/ml)
Versetzt	2,137 log ₁₀ IE/ml (1,37E+02 IE/ml)	-0,044 log ₁₀ IE/ml (-1,31E+01 IE/ml)
Versetzt	2,699 log ₁₀ IE/ml (5,00E+02 IE/ml)	-0,030 log ₁₀ IE/ml (-3,29E+01 IE/ml)
Versetzt	3,255 log ₁₀ IE/ml (1,80E+03 IE/ml)	-0,016 log ₁₀ IE/ml (-6,36E+01 IE/ml)
Versetzt	4,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+04 IE/ml)	0,003 log ₁₀ IE/ml (6,93E+01 IE/ml)
Versetzt	7,000 log ₁₀ IE/ml (1,00E+07 IE/ml)	0,078 log ₁₀ IE/ml (1,97E+06 IE/ml)

Mittelwert der gepaarten Differenz

Tabelle 51 enthält eine Zusammenfassung der systematischen Abweichung in Form des bestimmten Mittelwerts der gepaarten Viruslast-Differenz nach Probenmaterial. Die systematische Gesamtabweichung betrug im Mittel $0,107 \log_{10}$ IE/ml über den gemeinsamen linearen Bereich, kombiniert für klinische und versetzte Proben. Die Tabelle enthält darüber hinaus die nach repräsentativen Entscheidungsintervallen stratifizierte systematische Abweichung.

Tabelle 51 Mittelwert der gepaarten Viruslast-Differenz (\log_{10} IE/ml) zwischen dem cobas® CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test in repräsentativen Entscheidungsintervallen (IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten; nach Probenmaterial

Probenmaterial	Repräsentative Entscheidungsintervalle (IE/ml) ^a	N	Mittlere gepaarte Differenz (\log_{10} IE/ml)	SF für die mittlere gepaarte Differenz (\log_{10} IE/ml)	95-%-KI (\log_{10} IE/ml)
Klinisch und versetzt	1,37E+02 bis < 2,0E+03	98	0,126	0,023	(0,080, 0,171)
Klinisch und versetzt	2,0E+03 bis < 2,0E+04	49	0,121	0,032	(0,058, 0,184)
Klinisch und versetzt	2,0E+04 bis < 1,0E+05	16	0,061	0,033	(-0,009, 0,131)
Klinisch und versetzt	1,0E+05 bis 9,1E+06	41	0,062	0,024	(0,013, 0,110)
Klinisch und versetzt	Insgesamt	204	0,107	0,014	(0,078, 0,135)
Klinisch	1,37E+02 bis < 2,0E+03	77	0,170	0,024	(0,122, 0,219)
Klinisch	2,0E+03 bis < 2,0E+04	27	0,241	0,041	(0,157, 0,326)
Klinisch	2,0E+04 bis < 1,0E+05	1	0,178	-	-
Klinisch	1,0E+05 bis 9,1E+06	2	0,181	0,070	(-0,705, 1,068)
Klinisch	Insgesamt	107	0,188	0,021	(0,148, 0,229)
Versetzt	1,37E+02 bis < 2,0E+03	21	-0,037	0,043	(-0,127, 0,053)
Versetzt	2,0E+03 bis < 2,0E+04	22	-0,027	0,025	(-0,079, 0,025)
Versetzt	2,0E+04 bis < 1,0E+05	15	0,053	0,034	(-0,020, 0,126)
Versetzt	1,0E+05 bis 9,1E+06	39	0,056	0,025	(0,006, 0,106)
Versetzt	Insgesamt	97	0,017	0,016	(-0,015, 0,048)

Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Tabelle enthält nur gepaarte klinische und versetzte Proben (kombiniert) mit Ergebnissen, die alle im Bereich von $1,37E+02$ IE/ml bis $9,1E+06$ IE/ml lagen, dem gemeinsamen linearen Bereich beider Tests. Die gepaarten Ergebnisse wurden auf der Grundlage des TaqMan® CMV-Testergebnisses (IE/ml) in medizinisch relevante Intervalle eingestuft.

KI = Konfidenzintervall; N = Anzahl der gepaarten Proben; SF = Standardfehler.

^a Äquivalente repräsentative Entscheidungsintervalle (IE/ml) für $1,37E+02$ bis < $2,0E+03$ (IE/ml) = 2,137 bis < 3,301 (\log_{10} IE/ml), $2,0E+03$ bis < $2,0E+04$ (IE/ml) = 3,301 bis < 4,301 (\log_{10} IE/ml), $2,0E+04$ bis < $1,0E+05$ (IE/ml) = 4,301 bis < 5,000 (\log_{10} IE/ml) und $\geq 1,0E+05$ (IE/ml) = $\geq 5,000$ (\log_{10} IE/ml).

Zulässige Gesamtdifferenz

Tabelle 52 zeigt den Prozentsatz der Ergebnisse im niedrigen, mittleren und hohen Intervall des Bereichs der zulässigen Gesamtdifferenz nach Probenmaterial.

Tabelle 52 Prozentsatz der Proben im niedrigen, mittleren und hohen Intervall im Bereich der zulässigen Gesamtdifferenz nach Probenmaterial in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten

Probenmaterial	Intervallkategorie	Intervallbereich (IE/ml) ^a	Prozentsatz der Proben im ATD-Bereich
Klinisch und versetzt	Niedrig	1,37E+02 bis < 2,0E+03	98,9 % (88/89)
Klinisch und versetzt	Mittel	2,0E+03 bis < 8,0E+03	93,9 % (31/33)
Klinisch und versetzt	Hoch	8,0E+03 bis 9,1E+06	98,8 % (81/82)
Klinisch und versetzt	Insgesamt	-	98,0 % (200/204)
Klinisch	Niedrig	1,37E+02 bis < 2,0E+03	98,5 % (65/66)
Klinisch	Mittel	2,0E+03 bis < 8,0E+03	91,3 % (21/23)
Klinisch	Hoch	8,0E+03 bis 9,1E+06	100,0 % (18/18)
Klinisch	Insgesamt	-	97,2 % (104/107)
Versetzt	Niedrig	1,37E+02 bis < 2,0E+03	100,0 % (23/23)
Versetzt	Mittel	2,0E+03 bis < 8,0E+03	100,0 % (10/10)
Versetzt	Hoch	8,0E+03 bis 9,1E+06	98,4 % (63/64)
Versetzt	Insgesamt	-	99,0 % (96/97)

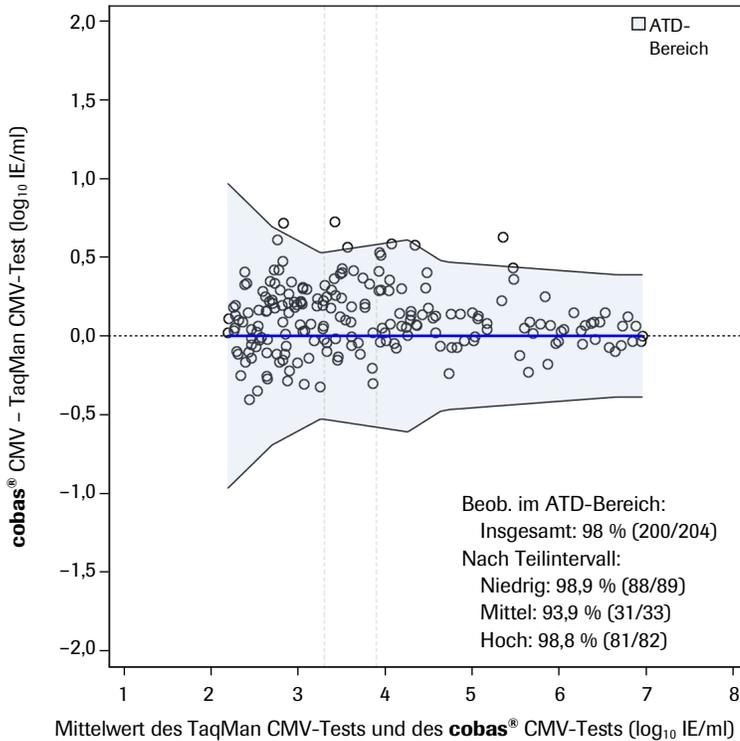
Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen. Die Tabelle enthält nur gepaarte Proben mit Ergebnissen, die alle im Bereich von 1,37E+02 IE/ml bis 9,1E+06 IE/ml lagen, dem gemeinsamen linearen Bereich beider Tests. Die gepaarten Ergebnisse wurden auf der Grundlage des TaqMan® CMV-Testergebnisses (IE/ml) in die Intervalle eingestuft.

ATD = zulässige Gesamtdifferenz (allowable total difference).

^a Die äquivalenten medizinisch relevanten Intervalle (IE/ml) für 1,37E+02 bis < 2,0E+03, 2,0E+03 bis < 8,0E+03 und 8,0E+03 bis 9,1E+06 in \log_{10} IE/ml betragen jeweils 2,137 bis < 3,301, 3,301 bis < 3,903 und 3,903 bis 6,959.

Abbildung 15 zeigt das Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests, kombiniert für klinische und versetzte Proben.

Abbildung 15 Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) der Viruslast-Differenz (\log_{10} IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (klinische und versetzte Proben)

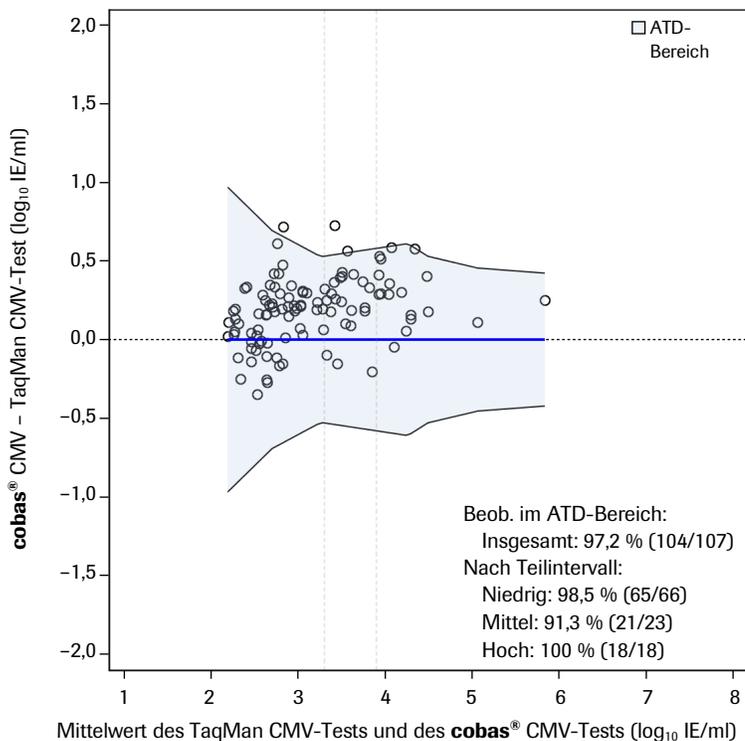


Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen.

ATD = zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference); Beob. = Beobachtungen.

Abbildung 16 zeigt das Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests von klinischen Proben.

Abbildung 16 Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) der Viruslast-Differenz (\log_{10} IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (klinische Proben)

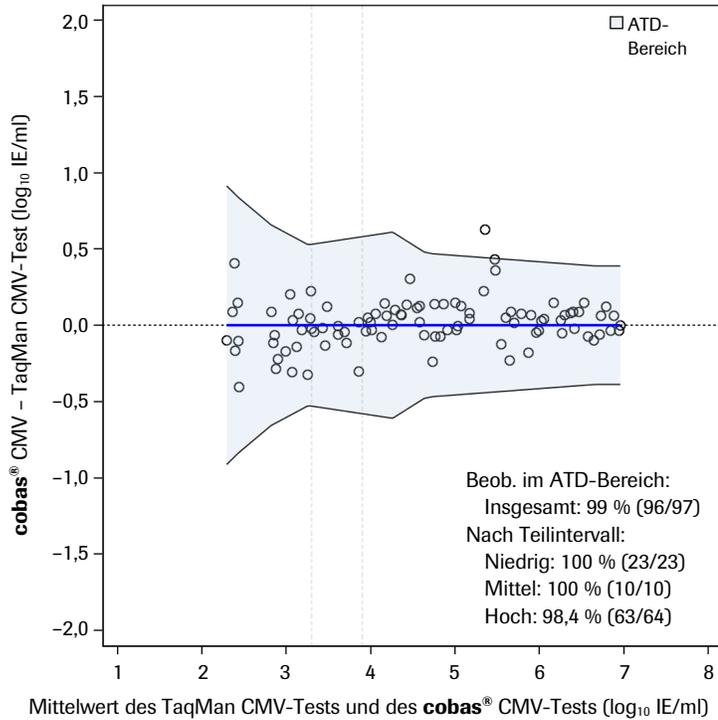


Hinweis: Sieben Proben von drei Patienten wurden aufgrund von Sequenz-Fehlpaarungen mit großem Effekt vom Methodenvergleich ausgeschlossen.

ATD = zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference); Beob. = Beobachtungen.

Abbildung 17 zeigt das Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des cobas® CMV-Tests und des TaqMan® CMV-Tests von versetzten Proben.

Abbildung 17 Diagramm der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) der Viruslast-Differenz (\log_{10} IE/ml) in der Population der hämatopoetisch Stammzelltransplantierten (versetzte Proben)



ATD = zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference); Beob. = Beobachtungen.

Übereinstimmung mit negativen Proben

Es wurden 30 CMV-IgG-negative Proben von hämatopoetisch Stammzelltransplantierten mit jedem Test getestet; die Ergebnisse sind in Tabelle 53 dargestellt.

Tabelle 53 Ergebnisse der CMV-IgG-negativen Proben, die mit dem **cobas®** CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test getestet wurden

cobas® CMV	TaqMan® CMV-Test Target Not Detected	TaqMan® CMV-Test < 1,37E+02 IE/ml	TaqMan® CMV-Test ≥ 1,37E+02 IE/ml	Gesamt
Target Not Detected	30	0	0	30
< 1,37E+02 IE/ml	0	0	0	0
≥ 1,37E+02 IE/ml	0	0	0	0
Gesamt	30	0	0	30

Hinweis: Die untere Quantifizierungsgrenze beträgt für den **cobas®** CMV-Test 34,5 IE/ml und für den TaqMan® CMV-Test 1,37E+02 IE/ml.

IgG = Immunglobulin G.

Schlussfolgerung

Der **cobas®** CMV-Test ermöglicht die Quantifizierung von CMV-DNA in EDTA-Plasma mit einer guten Übereinstimmung mit dem FDA-zugelassenen TaqMan® CMV-Test. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen belegen die klinische Konkordanz zwischen dem **cobas®** CMV-Test und dem TaqMan® CMV-Test bei der Therapieüberwachung von Organtransplantierten und hämatopoetisch Stammzelltransplantierten.

Systemäquivalenz und -vergleich

Die Systemäquivalenz der **cobas®** 5800, **cobas®** 6800 und **cobas®** 8800 Systems wurde anhand von Leistungsstudien belegt.

Die in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Ergebnisse zeigen, dass die Leistungsmerkmale für alle Systeme gleich sind.

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

Probenmaterial	EDTA-Plasma
Erforderliche Probenmindestmenge	500 µl*
Probenverarbeitungsvolumen	350 µl
Analytische Sensitivität	34,5 IE/ml
Linearer Bereich	34,5 IE/ml bis 1E+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

* Für die cobas® omni Sekundärröhrchen wurde ein Totvolumen von 0,150 ml ermittelt. Andere mit den cobas® 5800/6800/8800 Systems kompatible Röhrchen weisen möglicherweise ein anderes Totvolumen auf und erfordern daher ein höheres oder geringeres Mindestvolumen (weitere Informationen finden Sie in der Benutzerunterstützung und/oder im Benutzerhandbuch).

Symbole

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

Tabelle 54 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 dieser Test 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.htm

Hersteller und Importeur

Tabelle 55 Hersteller und Importeur

Hergestellt in den USA



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>

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, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. 6th ed. London: John Wiley and Sons; 2009:161-190.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields Virology, vol. 1. 4th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:2675-2706.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus. Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer-Verlag, 2008:297-313.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis*. 1983;5:205-15. PMID: 6302813.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser*. 1989;44:507-34. PMID: 2562249.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:204-10. PMID: 1315617.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:2629-2674.
8. Asberg 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 Transplant*. 2007;7:2106-13. PMID: 17640310.
9. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. *J Infect Dis*. 2002;186:829-33. PMID: 12198618.
10. 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. PMID: 29596116.
11. 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. PMID: 9395358.
12. 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. PMID: 24092851.
13. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol*. 2008;41:237-41. PMID: 18203657.
14. Salmon-Céron D, Mazon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:1041-9. PMID: 10853987.
15. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, et al. Quantitative effects of valganciclovir 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. PMID: 10438356.

16. 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. PMID: 9189214.
17. 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. PMID: 11919489.
18. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68. PMID: 19178413.
19. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev*. 2002;2:155-167.
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. PMID: 15643981.
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. PMID: 2227421.
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. PMID: 7845459.
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. PMID: 7697717.
24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
26. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed March 8, 2021.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.
28. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP21-A: Estimation of total analytical error for clinical laboratory methods; approved guideline. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 3.0 09/2022	Auf der Titelseite sowie in Tabelle 2 und Tabelle 3 wurden die Bestellnummern für die Kontrollkits hinzugefügt. Der Abschnitt Marken und Patente einschließlich des darin enthaltenen Links wurde aktualisiert. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.
Doc Rev. 4.0 05/2023	In den Abschnitten Gebrauchsanweisung und Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests wurde die erforderliche Probenmindestmenge auf den ursprünglichen Wert zurückgesetzt. Die Angabe zur Meldung schwerwiegender Vorkommnissen an die zuständigen Behörden wurde aktualisiert. Die Marke cobas® wurde aktualisiert. Es wurden geringfügige Formulieringsänderungen vorgenommen. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort.

Unter dem folgenden Link finden Sie eine Zusammenfassung des Berichts zu Sicherheit und Leistung:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>