

Aptima® CMV Quant Assay

Gebrauchsanweisung
In-vitro-Diagnostikum
 Nur zum US-Export

Allgemeine Informationen	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Testerklärung	2
Testprinzip	2
Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung	3
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	3
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	7
Probenentnahme und -lagerung	9
Im Panther System gelagerte Proben	12
Transport von Patientenproben	12
Panther System	13
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien	13
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	15
Optionale Materialien	16
Testverfahren mit dem Panther System	16
Verfahrenshinweise	24
Qualitätskontrolle	25
Assay-Kalibrierung	25
Negativ- und Positivkontrollen	25
Interner Kalibrator/Interne Kontrolle	25
Interpretation der Ergebnisse	27
Einschränkungen	29
Analytische Leistung	30
Detektionsgrenze mit dem 1. internationalen WHO-Standard	30
Nachweisgrenze für CMV-Genotypen und arzneimittelresistente Mutationen	31
Linearer Bereich	33
Linearität bei CMV-Genotypen	35
Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 1. Internationalen WHO-Standard	37
Bestimmung der unteren Qualifizierungsgrenze bei CMV-Genotypen und arzneimittelresistenten Mutationen	39
Rückführbarkeit auf den 1. internationalen WHO-Standard	42
Präzision	44
Mögliche Störsubstanzen	45
Spezifität	46
Analytische Spezifität	47
Plasma-Probenverdünnung mit Aptima CMV Negativkontrolle (1:3)	48
Bestätigung der LoD und LLoQ mittels des in Aptima CMV Negativkontrolle verdünnten 1. internationalen CMV-Standards der WHO	49
Verschleppung	49
Methodenkorrelation	50
Reproduzierbarkeit	52
Klinische Leistungsdaten	54
Klinische Übereinstimmung	54
Methodenvergleich	60
Gepaarte Mittelwertdifferenz	65
Abweichung bei ausgewählten Viruslastwerten	66
Zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference, ATD)	67
Bibliographie	72
Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll	73

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima® CMV Quant Assay ist ein in-vitro Nukleinsäure-Amplifikationstest auf dem vollautomatischen Panther® System zur Quantifizierung von DNA des menschlichen Cytomegalievirus in menschlichem EDTA-Plasma und Vollblut.

Der Aptima CMV Quant Assay ist als Hilfsmittel für die Diagnose sowie bei der Behandlung von Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen und Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation vorgesehen.

Der Aptima CMV Quant Assay ist nicht für die Verwendung als Screening-Assay auf das Vorhandensein von CMV im Blut oder Blutprodukten bestimmt.

Zusammenfassung und Testerklärung

Das menschliche CMV ist ein ubiquitäres Virus mit 240 kb linearer, doppelsträngiger DNA, das zur Herpes-Familie gehört. Die Seroprävalenz des CMV variiert je nach untersuchter Population und geografischer Region weltweit zwischen 45 und 100 %.^{1,2} Bei immunkompetenten Wirten verläuft die CMV-Infektion in der Regel asymptomatisch und selbstlimitiert. Bei immunschwachen Personen, wie Transplantatempfängern und Personen mit einer Infektion mit dem humanen Immundefizienz-Virus, ist das CMV eine wesentliche Ursache für Morbidität und Mortalität.

Ähnlich wie andere Herpesviren etabliert das CMV nach der primären Infektion eine lebenslange, latente Infektion, die sporadisch reaktiviert werden kann. Bei Transplantatempfängern können die Übertragung eines latenten CMV im Transplantat oder die Reaktivierung einer latenten CMV-Infektion beim Wirt zu einer breit gestreuten Virusreplikation und Dissemination auf zahlreiche Organe führen, die oft lebensbedrohlich ist.³

Quantitative Nukleinsäure-Amplifikationstests sind die bevorzugte Methode zur Überwachung von CMV-Infektionen und -Erkrankungen bei Transplantatempfängern, da sie schnell und sensitiv sind.⁴ Die jüngsten Richtlinien empfehlen eine mindestens wöchentliche Überwachung der CMV-Viruslast als Entscheidungshilfe für den Start einer Anti-CMV-Behandlung und zur Überwachung des Ansprechens auf die Behandlung.^{5,6,7,8} Generell werden höhere Viruslastwerte mit einem erhöhten Risiko für eine CMV-Erkrankung korreliert.^{4,9} Daher ist die Quantifizierung von CMV-DNA in Verbindung mit einer klinischen Präsentation und anderen Labormarkern wesentlich für die Behandlung von Patienten mit einer CMV-Infektion.

Testprinzip

Der Aptima CMV Quant Assay ist ein In-vitro-Test zur Nukleinsäure-Amplifikation, der mit Hilfe des Panther System* realtime transkriptionsvermittelte Amplifikations(TMA)-Technik verwendet, um die CMV-DNA der Genotypen 1, 2, 3 und 4 zu quantifizieren. Das Primer-Design zielt auf das hochkonservierte UL56-Gen ab, um eine präzise Quantifizierung der CMV-DNA sicherzustellen. Der Assay ist auf den 1. internationalen WHO-Standard (NIBSC-Code: 09/162) für das menschliche Cytomegalovirus standardisiert.²¹

Der Aptima CMV Quant Assay umfasst drei Hauptschritte, die in einem einzigen Reaktionsgefäß im Panther System stattfinden: Target Capture, Target-Amplifikation durch TMA und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplifikons) mithilfe von fluoreszenzmarkierten Sonden (Torches).

*Einschließlich Varianten des Panther Systems.

Beim Target-Capture wird die Virus-DNA von den Proben isoliert: Die Patientenprobe wird mit einem Detergens behandelt, um die Virushülle aufzulösen, Proteine zu denaturieren und die genomische Virus-DNA freizusetzen. Capture-Oligonukleotide hybridisieren an hoch konservierte Regionen der ggf. in der Testprobe vorhandenen CMV-DNA. Das hybridisierte Target wird anschließend an magnetische Mikropartikel gebunden, die dann in einem Magnetfeld von der Patientenprobe getrennt werden. Irrelevante Bestandteile werden durch Waschschriffe aus dem Reaktionsröhrchen entfernt.

Die Target-Amplifikation findet durch TMA statt, eine transkriptionsvermittelte Nukleinsäureamplifikationsmethode, bei der zwei Enzyme, die reverse Transkriptase des MMLV (Moloney murines Leukämievirus) und die T7-RNA-Polymerase zum Einsatz kommen. Die reverse Transkriptase erzeugt eine DNA-Kopie (mit einer Promotorsequenz für die T7-RNA-Polymerase) der Targetsequenz. T7-RNA-Polymerase produziert mehrere Kopien des RNA-Amplikons vom Template der DNA-Kopie.

Die Detektion wird erreicht, indem einzelsträngige Nukleinsäure-Torches verwendet werden, die während der Amplifikation des Targets vorhanden sind und spezifisch und in Echtzeit an das Amplikon hybridisieren. Jede Sonde hat ein Fluorophor und einen Quencher. Wenn die Sonde nicht mit dem Amplikon hybridisiert, befindet sich der Quencher nahe bei dem Fluorophor und unterdrückt die Fluoreszenz. Bindet die Sonde jedoch an das Amplikon, ist der Abstand zwischen Quencher und Fluorophor größer, sodass dieses bei Anregung mit einer Lichtquelle ein Signal mit einer bestimmten Wellenlänge abgibt. Je mehr Sonden an Amplikons hybridisieren, desto stärker ist das erzeugte Fluoreszenzsignal. Der Zeitraum, der verstreicht, bis das Fluoreszenzsignal einen bestimmten Schwellenwert erreicht hat, ist zur CMV-Ausgangskonzentration proportional. Jede Reaktion hat einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (Internal Control, IC) zur Überprüfung auf Schwankungen bei der Probenbearbeitung, Amplifikation und Detektion. Die Konzentration einer Probe wird von der Panther System Software bestimmt, indem die CMV- und IC-Signale in jeder Reaktion mit Kalibrierungsdaten verglichen werden.

Assay-Ergebnisse werden über einen in die Panther Software integrierten Umrechnungsfaktor von Kopien/ml in IU/ml umgerechnet. Für Vollblut- und Plasmaproben wird der gleiche Umrechnungsfaktor verwendet. Auf CMV-Viruslast-Ergebnisse für Vollblutproben wird ein Verdünnungsfaktor von 4 angewendet, wenn der Vollblut-Umrechnungsfaktor auf dem Panther System ausgewählt wird.

Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung

Die SSP (Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung, Summary of Safety and Performance) ist in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) verfügbar und dort mit den Gerätekennungen (Basis UDI-DI) verknüpft. Die SSP für den Aptima CMV Quant Assay finden Sie unter der grundlegenden eindeutigen Gerätekennung (Basic Unique Device Identifier, BUDI): **54200455DIAGAPTCMVAP**.

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. *In-vitro*-Diagnostikum.
- B. Für den professionellen Einsatz.
- C. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse müssen die Packungsbeilage und das entsprechende *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System)* vollständig durchgelesen werden, bevor dieser Assay durchgeführt wird.

Laborbezogen

- D. VORSICHT: Die Kontrollen für diesen Assay enthalten Humanplasma. In von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) zugelassenen Verfahren ist das Plasma negativ auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Antikörper gegen HCV, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2 und HIV-Antigen. Das Plasma ist außerdem bei Testung mit zugelassenen Nukleinsäuretests von Probenpools nicht-reaktiv auf CMV-DNA, HBV-DNA, HCV-RNA und HIV-1-RNA. Alle aus Humanblut stammenden Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und mit den allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln.^{10,11,12}
- E. Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima CMV Quant Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.
- F. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.
- G. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Beim Umgang mit Proben und Kit-Reagenzien ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kit-Reagenzien die Hände gründlich waschen.
- H. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5- bis 3,5% igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.
- I. Material, das in Kontakt mit Patientenproben und Reagenzien gelangt ist, nach regionalen Vorschriften entsorgen.^{10,11,12,13} Alle Arbeitsflächen gründlich reinigen und desinfizieren.
- J. Die Kontrollen enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Für den Reagenzientransfer keine Metallröhrchen verwenden. Wenn Lösungen mit Natriumazidverbindungen in ein Abwassersystem entsorgt werden, sind sie zu verdünnen und mit reichlich fließendem Leitungswasser hinunterzuspülen. Diese Vorsichtsmaßnahmen werden empfohlen, um Ablagerungen in Metall-Abflussrohren zu vermeiden, die eine Explosionsgefahr bilden können.
- K. Zu der guten Standardpraxis für Molekularbiologie-Laboratorien gehört auch die Überwachung der Laborumgebung. Zur Überwachung der Laborumgebung wird folgende Vorgehensweise empfohlen:
1. Einen Tupfer mit Wattespitze und ein Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tube, SAT) bereitlegen.
 2. Jedes SAT entsprechend beschriften.
 3. Jedes SAT mit 1 ml Aptima Probenverdünner füllen.
 4. Zum Aufnehmen der Oberflächenproben einen Tupfer leicht mit nukleasefreiem entionisiertem Wasser befeuchten.
 5. Den Probenentnahmetupfer auf der betreffenden Oberfläche in einer vertikalen Bewegung von oben nach unten führen. Während der Probengewinnung den Probenentnahmetupfer etwa eine halbe Drehung drehen.
 6. Die Tupferprobe sofort in das Röhrchen geben und im Verdünner vorsichtig schwenken, um möglicherweise auf dem Tupfer vorhandenes Material zu extrahieren. Den Tupfer an der Seite des Transportröhrchens ausdrücken, um so viel Flüssigkeit wie möglich zu extrahieren. Den Tupfer entsorgen und das Röhrchen mit der Kappe verschließen.
 7. Die Schritte mit den verbleibenden Tupferproben wiederholen.
 8. Die Tupferprobe mit dem molekularen Assay testen.




Probenbezogen

- L. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind die allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen^{10,11,12} zu befolgen. Entsprechend den vor Ort geltenden Bestimmungen sind angemessene Handhabungs- und Entsorgungsmethoden festzulegen.¹¹ Dieses Verfahren darf nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima CMV Quant Assays und in der Handhabung infektiösen Materials geschult sind.
- M. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.
- N. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, beim Lösen oder Entfernen von Kappen von Patientenproben eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Die Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt gekommen sind.

Testbezogen

- O. Bei ungültigem Ergebnis aufgrund eines ML2-Fehlers darf die unverdünnte Plasmaprobe nicht erneut getestet werden. Anweisungen zur Verdünnung der Plasmaprobe finden Sie unter *Testverfahren mit dem Panther System*, Schritt E.5 in dieser Packungsbeilage.
Hinweis: Angaben zum ML2-Fehler finden Sie im entsprechenden *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual for Mag Wash Clean Instructions [Bedienungsanleitung für Mag-Waschanweisungen für das Panther/Panther Fusion System]*.
- P. Das Reagenzien-Kit, den Kalibrator oder die Kontrollen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Q. Assay-Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. Assay-Flüssigkeiten dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen. Kontrollen und Kalibratoren dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen.
- R. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben oder Nuklease ist zu vermeiden.
- S. Alle Assay-Reagenzien verschließen und bei den angegebenen Temperaturen lagern. Die Assay-Leistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assay-Reagenzien beeinträchtigt werden. Siehe *Testverfahren mit dem Panther System* für weitere Informationen.
- T. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nur auf ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.
- U. Berührung des TER mit Haut, Augen und Schleimhäuten vermeiden. Bei Kontakt mit diesem Reagenz den betroffenen Bereich mit Wasser abspülen. Wird dieses Reagenz verschüttet, muss es mit Wasser verdünnt und anschließend entsprechend den örtlich geltenden Vorschriften weiter verfahren werden.
- V. Einige Reagenzien in diesem Kit sind mit Risiko- und Sicherheitssymbolen gekennzeichnet.
Hinweis: Die Gefahrenkommunikation spiegelt die Einstufung der EU Sicherheitsdatenblätter (SDS) wider. Spezifische Informationen zur Vermittlung von Gefahren für Ihre Region finden Sie in dem regionalspezifischen SDS in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung (Safety Data Sheet Library) unter www.hologic.com. *Weitere Informationen zu anderen Symbolen finden Sie in der Symbollegende auf <http://www.hologic.com/package-inserts>*

Gefahrenhinweise für Europa	
—	<p>Amplification Reagent Magnesiumchlorid 65 - 70 %</p> <p>—</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit Langzeitwirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.</p>
—	<p>Enzyme Reagent 4-(2-Hydroxyethyl)-1-Piperazinylethan-Sulfonsäure 1-5% Poly(oxy-1,2-ethane-diyl), alpha-[(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenyl]-omega-hydroxy 1-5%</p> <p>—</p> <p>H402 - Schädlich für Wasserorganismen. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.</p>
—	<p>Enzyme Reconstitution Solution Glycerin 20 - 25 % Triton X-100 5 - 10 % HEPES 1 - 5 %</p> <p>—</p> <p>H402 - Schädlich für Wasserorganismen. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.</p>
—	<p>Promoter Reagent Magnesiumchlorid 55 - 60 %</p> <p>—</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit Langzeitwirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.</p>
—	<p>Target Capture Reagent HEPES 15 - 20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5 - 10 % Succinylsäure 1 - 5 % Lithiumhydroxid, Monohydrat 1 - 5 %</p> <p>—</p> <p>H402 - Schädlich für Wasserorganismen. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.</p>

 	<p>Target Enhancer Reagent (TER) <i>Lithiumhydroxid, Monohydrat 5 - 10 %</i></p> <p>GEFAHR H302 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H314 - Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. P264 - Nach Gebrauch Gesicht, Hände und ungeschützte Hautpartien gründlich waschen P270 - Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen. P301 + P312 - BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. P330 - Mund ausspülen. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen. P260 - Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol nicht einatmen. P280 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P301 + P330 + P331 - BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. P303 + P361 + P353 - BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen [oder duschen]. P304 + P340 - BEI EINATMEN: Verletzte an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. P305 + P351 + P338 - BEI AUGENKONTAKT: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. P310 - Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. P321 - Besondere Behandlung (siehe ergänzende Erste-Hilfe-Anweisungen auf diesem Kennzeichnungsetikett). P363 - Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. P405 - Unter Verschluss aufbewahren.</p>
	<p>CMV Kit Kontrollen <i>Humanserum/Humanplasma 95 - 100 %</i> <i>Natriumazid < 1 %</i> —</p> <p>H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit Langzeitwirkung. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden</p>
—	<p>Kit-Kalibrator <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 0 - 10 %</i> <i>Succinylsäure 0 - 10 %</i> —</p> <p>— H402 – Schädlich für Wasserorganismen P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.</p>

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

A. Die folgende Tabelle zeigt die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Reagenzien, der Kontrollen und des Kalibrators.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Offenes Kit (rekonstituiert)	
		Lagerung	Stabilität
qCMV Amplifikationsreagenz	2 °C bis 8 °C		
qCMV Amplifikationsrekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qCMV Enzymreagenz	2 °C bis 8 °C		
qCMV Lösung zur Enzymrekonstitution	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qCMV Promotorreagenz	2 °C bis 8 °C		
qCMV Promotorekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qCMV Target-Capture-Reagenz	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a

qCMV PCAL (Positivkalibrator)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden aufbrauchen
qCMV NC CONTROL – (Negativkontrolle)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden aufbrauchen
qCMV LPC CONTROL + (schwach positive Kontrolle)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden aufbrauchen
qCMV HPC CONTROL + (stark positive Kontrolle)	-15 °C bis -35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 24 Stunden aufbrauchen
qCMV Target-Enhancer-Reagenz	15 °C bis 30 °C	15 °C bis 30 °C	30 Tage ^a

^a Wenn Reagenzien aus dem Panther System genommen werden, sind sie sofort wieder bei ihren jeweiligen Lagerungstemperaturen aufzubewahren.

- B. Alle unbenutzten und rekonstituierten Reagenzien, das Target-Capture-Reagenz (Target Capture Reagent, TCR) und das Target-Enhancer-Reagenz (Target Enhancer Reagent, TER) nach 30 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend) entsorgen.
- C. Im Panther System gelagerte Reagenzien sind im Gerät 96 Stunden stabil. Reagenzien können bis zu 8 Mal in das Panther System geladen werden. Das Laden von Reagenzien wird jedes Mal im Panther System-Protokoll vermerkt.
- D. Nach dem Auftauen des Kalibrators muss die Lösung klar sein, d. h., keine Trübungen oder Präzipitate aufweisen. Sicherstellen, dass sich die Niederschläge gelöst haben. Den Kalibrator nicht verwenden, wenn darin Gelbildung, Niederschlag oder eine Trübung vorhanden ist.
- E. Das gefriergetrocknete Promotorreagenz und das rekonstituierte Promotorreagenz sind lichtempfindlich. Diese Reagenzien sind lichtgeschützt zu lagern und für die Anwendung vorzubereiten.
- F. Das qCMV Target-Enhancer-Reagenz muss vor Gebrauch eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C erreichen.

Probenentnahme und -lagerung

Hinweis: Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.

Hinweis: Bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf achten, dass es zu keiner Kreuzkontamination kommt. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.

Hinweis: Nur sekundäre Röhrchen aus Plastik werden für die Probenlagerung empfohlen.

Für die Plasmavorbereitung können in die folgenden Glas- oder Kunststoffröhrchen entnommene Vollblutproben verwendet werden:

- Röhrchen mit EDTA-Antikoagulanzen
- Plasmapräparationsröhrchen (PPTs)

A. Probenentnahme

1. Plasma: Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Plasma unter Einhaltung der Herstelleranweisungen für das jeweils verwendete Röhrchen vom Erythrozytenpellet trennen. Plasma kann in einem primären Röhrchen im Panther System getestet oder zuvor in ein sekundäres Röhrchen wie ein Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tube, SAT) überführt werden. Das Mindestvolumen an Plasma für primäre Entnahmeröhrchen beträgt bis zu 1200 µl für den Erhalt des Probenvolumens von 500 µl. Für sekundäre Röhrchen beträgt das Mindestvolumen 700 µl für den Erhalt des Probenvolumens von 500 µl. In der folgenden Tabelle sind die Anforderungen an das Totvolumen für jeden primären und sekundären Röhrchentyp angegeben.

Röhrchen (Größe und Typ)	Totvolumen beim Panther-System
Aptima Probenaliquotröhrchen (Sample Aliquot Tube; SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm mit Gel	0,3 ml
16 x 100 mm mit Gel	0,7 ml

Wird der Test nicht sofort durchgeführt, kann das Plasma nach den nachstehenden Spezifikationen gelagert werden. Bei Überführung in ein sekundäres Röhrchen kann das Plasma bei -20 °C oder -70 °C eingefroren werden. Die Proben sollten höchstens dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden. Plasmaproben dürfen nicht in primären EDTA-Entnahmeröhrchen eingefroren werden.

2. Vollblut muss vor dem Test im Panther System mit vorgefüllten Röhrchen mit Vollblutverdünner vorbereitet werden. Nicht vorbereitete Vollblutproben sollten höchstens dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden.

B. Bedingungen für die Lagerung von Patientenproben

1. EDTA-Plasmaproben

Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Anschließend kann Plasma unter einer der folgenden Bedingungen längere Zeit gelagert werden:

- Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 30 °C,
- Im primären Entnahmeröhrchen oder sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- Im sekundären Röhrchen bis zu 60 Tage lang bei -20 °C bis -70 °C.

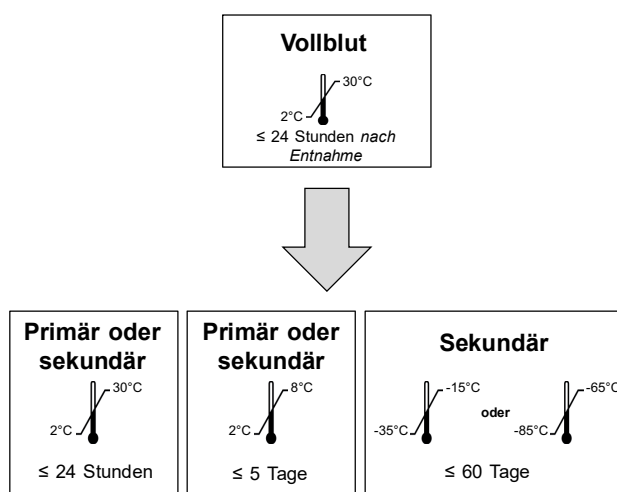


Abbildung 1. Bedingungen für die Lagerung von EDTA-Röhrchen

2. PPT-Patientenproben

Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Anschließend kann Plasma unter einer der folgenden Bedingungen längere Zeit gelagert werden:

- Im PPT bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 30 °C,
- im PPT bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- im PPT bis zu 60 Tage lang bei -20 °C oder -70 °C.

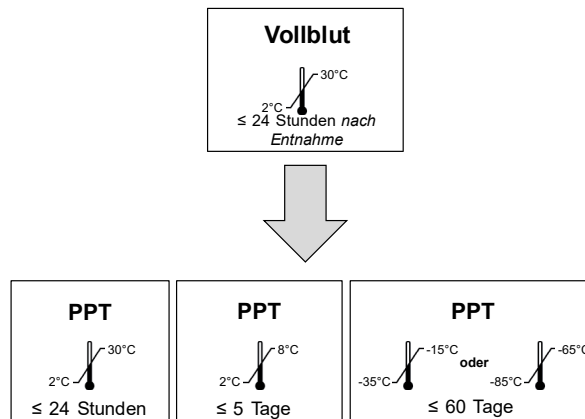


Abbildung 2. Bedingungen für die Lagerung von PPTs

3. Verdünnung von Plasmaproben

Plasmaproben können für die Analyse auf dem Panther System im SAT oder sekundären Röhrchen verdünnt werden. Siehe *Testverfahren mit dem Panther System*, Schritt E.5 unten für weitere Informationen.

Hinweis: Wenn eine Patientenprobe verdünnt wird, sollte sie sofort nach der Verdünnung analysiert werden. Eine verdünnte Patientenprobe nicht einfrieren.

4. Vollblutproben

Vollblut kann bei 15 °C bis 30 °C für bis zu 36 Stunden nach der Probenentnahme gelagert werden. Entnommenes Vollblut kann unter einer der folgenden Bedingungen gelagert werden:

- im primären Entnahmeröhrchen bei 2 °C bis 8 °C bis zu 5 Tage lang oder

- im primären Entnahmeröhrchen bis zu 60 Tage lang bei 20 °C bis 70 °C.

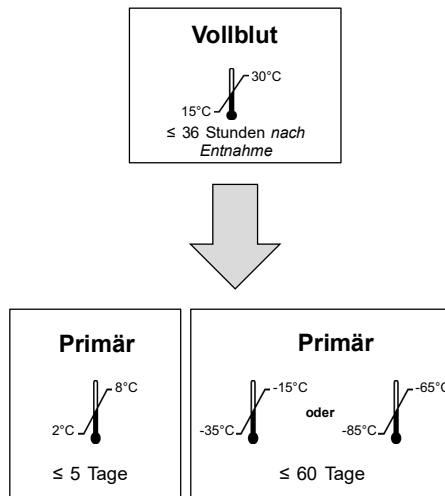


Abbildung 3. Bedingungen für die Lagerung von Vollblutproben

Im Panther System gelagerte Proben

Plasma und vorbereitete Vollblutproben können bis zu 8 Stunden lang unverschlossen im Panther System stehen gelassen werden. Solange die Gesamtverweildauer im System vor dem Pipettieren der Probe durch das Panther System 8 Stunden nicht übersteigt, können die Proben wieder aus dem Panther System genommen und getestet werden.

Transport von Patientenproben

Die unter *Probenentnahme und -lagerung* beschriebenen Lagerbedingungen für Proben müssen eingehalten werden.

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther System

Nachstehend sind die Reagenzien für den Aptima CMV Quant Assay für das Panther System gelistet. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben den Reagenzbezeichnungen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Kit mit Aptima CMV Quant Assay, 100 Tests (Kat. Nr. PRD-05074)
(1 Assay-Box, 1 Box mit Target Enhancer Reagent, 1 Kalibrator-Kit und 1 Kit mit Kontrollen)

Aptima CMV Quant Assay-Box

(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
A	qCMV Amplifikationsreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in gepufferter Lösung.</i>	1 Fläschchen
E	qCMV Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet, in HEPES-gepufferter Lösung.</i>	1 Fläschchen
PRO	qCMV Promotorreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in gepufferter Lösung.</i>	1 Fläschchen
AR	qCMV Amplifikationsrekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Glycerol und Konservierungsmitteln.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qCMV Lösung zur Enzymrekonstitution <i>HEPES-gepufferte Lösung mit einer oberflächenaktiven Substanz und Glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qCMV Promotorekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Glycerol und Konservierungsmitteln.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qCMV Target-Capture-Reagenz <i>Nukleinsäuren in einer gepufferten Salzlösung mit nicht-infektiösen Nukleinsäuren in der Festphase und einem internen Kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Aptima CMV Quant Target-Enhancer-Reagenz-Box

(Lagerung bei 15 °C bis 30 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
TER	qCMV Target-Enhancer-Reagenz <i>Konzentrierte Lithiumhydroxid-Lösung.</i>	1 x 46,0 ml

Kit mit Aptima CMV Quant Calibrator(Kat. Nr. PRD-05075)
(Lagerung bei -15 °C bis -35 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
PCAL	qCMV Positivkalibrator <i>Plasmid-DNA in gepufferter Lösung.</i>	5 x 2,5 ml
	Barcode-Etikett des Kalibrators	—

Kit mit Aptima CMV Quant-Kontrollen(Kat. Nr. PRD-05076)
(Lagerung bei -15 °C bis -35 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
NC	qCMV Negativkontrolle <i>CMV-negatives defibriniertes Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	qCMV Schwach positive Kontrolle <i>Inaktiviertes CMV-negatives defibriniertes Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	qCMV Stark positive Kontrolle <i>Inaktiviertes CMV-negatives defibriniertes Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.</i>	5 x 0,8 ml
	Barcode-Etikett der Kontrolle	—

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Die von Hologic erhältlichen Materialien sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

Material	Kat.- Nr.
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Panther Durchlaufkit für Echtzeitassays (nur für Echtzeitassays)	PRD-03455 (5000 Tests)
<i>Aptima® Assay-Flüssigkeitskit (auch als Universalflüssigkeitskit bezeichnet) enthält Aptima Waschlösung, Aptima Flüssigpuffer zur Deaktivierung und Aptima Ölreagenz</i>	303014 (1000 Tests)
<i>Multi-Röhrchen-Einheiten (MTUs)</i>	104772-02
<i>Panther Entsorgungsbeutel-Kit</i>	902731
<i>Panther Abfallabdeckung</i>	504405
oder Panther System-Durchlaufkit (wenn Echtzeit- und Nicht-Echtzeit-TMA-Assays gleichzeitig laufen) enthält MTUs, Entsorgungsbeutel, Abfallabdeckungen, Auto Detect und Assayflüssigkeiten	303096 (5000 Tests)
Röhrchen mit Vollblutverdünner (nur für die Vorbereitung von Vollblutproben)	PRD-06783 (100 vorgefüllte Röhrchen pro Beutel)
Spitzen, 1000 µl gefiltert, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung und Einwegmaterial	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nicht alle Produkte sind in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an Ihren Vertreter, um regionsspezifische Informationen zu erhalten.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bleichmittel, 5 %ige bis 8.25 %ige (0,7 M bis 1,16 M) Natriumhypochloritlösung	—
Nicht-durchstechbare Einweghandschuhe	—
Undurchlässige Ersatzkappen	103036A
Hologic nicht-durchstechbare Ersatzkappen (Einweg-Röhrchenkappe für Vorbereitung von Vollblut)	PRD-06720
Ersatzkappen für Reagenzien	
<i>Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenz Rekonstitutionsflaschen</i>	CL0041 (100 Kappen)
<i>TCR-Flasche</i>	CL0040 (100 Kappen)
<i>TER-Flasche</i>	903302 (100 Kappen)
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Fusselfreie Tücher	—
Pipette	—
Spitzen	—
Primäre Entnahmeröhrchen (EDTA und PPT) Optionen:	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	

Material	Kat.- Nr.
Zentrifuge	—
Vortex-Mischer	—

Optionale Materialien

Material	Kat.- Nr.
Optionen für sekundäre Röhrchen:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tubes, SAT) (100 St.)</i>	FAB-18184
Kappe für Transportröhrchen (100 St.)	504415
<i>Kappe für SAT</i>	
Aptima Probenverdünner	PRD-03003
Aptima Probenverdünner-Kit	PRD-03478
<i>enthält Aptima Probenverdünner, 100 SATs und 100 Kappen</i>	
Transferpipetten	—
Wattestäbchen	—
Wippschüttler für Röhrchen	—

Testverfahren mit dem Panther System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen finden Sie in der entsprechenden Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System.

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen, auf denen die Reagenzien vorbereitet werden, reinigen. Die Arbeitsflächen mit einer 2,5- bis 3,5 %igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung abwischen. Die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken lassen. Diese anschließend mit entionisiertem Wasser abspülen. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Die Labortischoberflächen mit sauberen, saugfähigen Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite abdecken.
2. Eine separate Arbeitsfläche, auf der die Proben vorbereitet werden, reinigen. Gehen Sie dabei wie vorstehend beschrieben vor (Schritt A.1).
3. Alle Pipetten reinigen. Gehen Sie bei der Reinigung wie vorstehend beschrieben vor (Schritt A.1).

B. Vorbereitung von Kalibrator und Kontrollen

Lassen Sie den Kalibrator und die Kontrollen vor der Verarbeitung eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C annehmen, indem Sie folgenderweise vorgehen:

1. Den Kalibrator und die Kontrollen aus der Lagerung (-15 °C bis -35 °C) entnehmen und bei 15 °C bis 30 °C platzieren. Jedes Röhrchen während des Auftauens zum gründlichen Mischen vorsichtig umdrehen. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Option. Die Röhren mit dem Kalibrator und den Kontrollen können auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung platziert werden, um ihren Inhalt gründlich zu mischen. Darauf achten, dass der Röhreninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Hinweis: Beim Umdrehen des Kalibrators und der Kontrollen übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

2. Wenn der Röhreninhalt aufgetaut ist, trocknen Sie das Röhren außen mit einem sauberen, trockenen Einwegtuch ab.
3. Zur Verhinderung einer Kontamination sollten Sie die Röhren zu diesem Zeitpunkt nicht öffnen.

C. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: Die Reagenzrekonstitution sollte vor dem Arbeiten mit dem Panther System durchgeführt werden.

1. Gehen Sie folgenderweise vor, um das Target Capture-Reagenz (TCR) vorzubereiten:
 - a. Nehmen Sie das TCR aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Überprüfen Sie die Chargennummer auf der TCR-Flasche, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
 - b. Schütteln Sie die TCR-Flasche sofort kräftig 10 Mal. Lassen Sie die TCR-Flasche mindestens 45 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen. Während dieser Zeit sollten Sie das TCR-Fläschchen mindestens alle 10 Minuten schwenken und umdrehen.

Option. Das TCR-Fläschchen kann auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung folgenderweise vorbereitet werden: Nehmen Sie das TCR aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) und schütteln Sie es sofort kräftig 10 Mal. Platzieren Sie die TCR-Flasche auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung und lassen Sie sie mindestens 45 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen.

- c. Vergewissern Sie sich vor dem Gebrauch, dass alle Präzipitate gelöst und die Magnetpartikel suspendiert sind.
2. Zum Rekonstituieren von Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenz gehen Sie folgenderweise vor:
 - a. Nehmen Sie die gefriergetrockneten Reagenzien und die entsprechenden Rekonstitutionslösungen aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem gefriergetrockneten Reagenz.
 - b. Vergewissern Sie sich, dass das Etikett der Rekonstitutionslösung und das des gefriergetrockneten Reagenzes dieselbe Farbe aufweisen. Kontrollieren Sie die Chargennummern, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart werden.
 - i. Öffnen Sie das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz, indem Sie die Metallversiegelung und den Gummistopfen entfernen.
 - ii. Führen Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks (schwarz) fest in das Fläschchen ein (Abbildung 4, Schritt 1).
 - iii. Die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung öffnen und den Verschluss auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche legen.
 - iv. Die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf eine stabile Fläche stellen (z. B. auf den Labortisch.) Drehen sich dann das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz über dem Fläschchen mit der Rekonstitutionslösung um und befestigen Sie das Verbindungsstück an dem Fläschchen mit Rekonstitutionslösung (Abbildung 4, Schritt 2).

- v. Drehen Sie die zusammengefügt Gefäße langsam um, damit die Lösung in das Glasfläschchen laufen kann (Abbildung 4, Schritt 3).
 - vi. Schwenken Sie die zusammengefügt Gefäße mindestens 10 Sekunden lang (Abbildung 4, Schritt 4).
 - vii. Warten Sie mindestens 30 Minuten, damit das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung gehen kann.
 - viii. Nachdem das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung gegangen ist, schwenken Sie die zusammengefügt Flaschen mindestens 10 Sekunden lang und mischen Sie anschließend die Lösung gründlich, indem Sie das Glasfläschchen leicht nach vorne und hinten kippen.
- c. Drehen Sie die zusammengefügt Flaschen dann wieder langsam um, damit die Lösung wieder komplett zurück in die Flasche der Rekonstitutionslösung fließen kann (Abbildung 4, Schritt 5).
 - d. Entfernen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abbildung 4, Schritt 6).
 - e. Die Flasche wieder verschließen. Die Initialen des Anwenders und das Rekonstitutionsdatum auf das Etikett schreiben (Abbildung 4, Schritt 7).
 - f. Entsorgen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und das Glasfläschchen (Abbildung 4, Schritt 8).

Warnung: Bei der Rekonstitution von Reagenzien übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

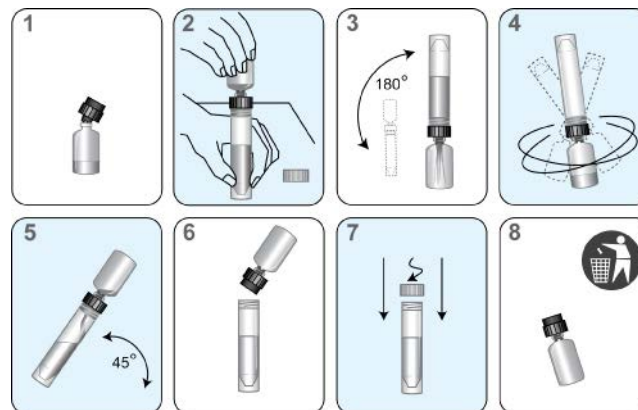


Abbildung 4. Rekonstitution von Reagenzien

3. Nehmen Sie das qCMV Target-Enhancer-Reagenz aus der Lagerung (15 °C bis 30 °C). Tragen Sie die Initialen des Bedieners und das Öffnungsdatum auf dem Etikett ein. Überprüfen Sie die Chargennummer auf der TER-Flasche, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
- D. Reagenzienvorbereitung für bereits vorbereitete Reagenzien
1. Nehmen Sie die bereits angesetzten Reagenzien aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Bereits angesetzte Amplifikations-, Enzym-, Promoter- und TCR-Reagenzien müssen vor Beginn des Assays auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C gebracht werden.
 2. Nehmen Sie das TER aus der Lagerung (15 °C bis 30 °C).
 3. Bei bereits vorbereiteten TCR führen Sie vor dem Laden in das System den Schritt C.1 oben durch.

4. Vor dem Laden in das System müssen Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenzien zum gründlichen Mischen geschwenkt und umgedreht werden. Beim Umdrehen von Reagenzien übermäßige Schaumbildung vermeiden.

Option. Die zuvor vorbereiteten Reagenzien können auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung folgenderweise vorbereitet werden: Nehmen Sie die Reagenzien aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Platzieren Sie die Reagenzien auf einer geeigneten Wippe und lassen Sie sie mindestens 30 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen.

5. Reagenzflaschen nicht nachfüllen. Das Panther System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

E. Handhabung von Plasmaproben

1. Stellen Sie sicher, dass vorbereitete Proben in primären Röhrchen oder unverdünnte Proben in sekundären Röhrchen ordnungsgemäß entsprechend *Probenentnahme und -lagerung* gelagert wurden.
2. Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Patientenproben ganz aufgetaut sind. Mischen Sie die aufgetauten Patientenproben gründlich 3 bis 5 Sekunden auf dem Vortexer.
3. Bringen Sie die Patientenproben vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C. Siehe *Im Panther System gelagerte Proben* für zusätzliche Informationen zu im System gelagerten Proben.
4. Stellen Sie sicher, dass alle primären Entnahmeröhrchen bis zu 1200 µl Probe bzw. alle sekundären Röhrchen mindestens 700 µl Probe enthalten. In der unter *Probenentnahme* aufgeführten Tabelle sind die Anforderungen an das Totvolumen für jeden Typ Primär- und Sekundärröhrchen zu finden. Wenn bei geringem Probenvolumen und/oder erforderlicher Testwiederholung die Plasmaprobe verdünnt werden muss, finden Sie zusätzliche Informationen im nachstehenden Schritt E.5.
5. Verdünnung von Plasmaproben

Eine Plasmaprobe kann für die Analyse auf dem Panther System im SAT oder in einem sekundären Röhrchen im Verhältnis 1:3 verdünnt werden.

a. Aptima CMV Negativkontrolle auftauen

- i. Ein Röhrchen Negativkontrolle aus der Lagerung (-15 °C bis -35 °C) entnehmen und bei 15 °C bis 30 °C auftauen lassen. Zum gründlichen Mischen beim Auftauen das Röhrchen vorsichtig invertieren. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Option: Das Röhrchen mit der Kontrolle kann zum gründlichen Mischen auf eine geeignete Schüttelvorrichtung platziert werden. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

- ii. Wenn der Röhrcheninhalt aufgetaut ist, trocknen Sie das Röhrchen außen mit einem sauberen, trockenen Einwegtuch ab.
- iii. Zur Verhinderung einer Kontamination sollten Sie das Röhrchen zu diesem Zeitpunkt nicht öffnen.

b. Verdünnung von Plasmaproben

Hinweis: Bei einer Probenverdünnung muss diese sofort nach erfolgter Verdünnung analysiert werden.

- i. Geben Sie 240 µl Patientenprobe in das SAT.
- ii. Geben Sie 480 µl Negativkontrolle dazu.
- iii. Verschließen Sie das Röhrchen.

iv. Zum Mischen des Inhalts das Röhrchen vorsichtig fünfmal invertieren.

Patientenproben, die 1:3 verdünnt wurden, können mit der 1:3-Option auf dem Panther System getestet werden (weitere Informationen finden Sie im *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* [Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System]). Mit Hilfe des Verdünnungsfaktors liefert die Software automatisch das Ergebnis für die unverdünnte Probe. Solche Patientenproben werden als verdünnte Patientenproben gekennzeichnet.

6. Zentrifugieren Sie jede Patientenprobe unmittelbar vor dem Laden in einen Probenständer 10 Minuten bei 1000 bis 3000g. Bei diesem Schritt nicht die Kappen entfernen.

Für Informationen zum Laden des Ständers und zum Abnehmen der Deckel siehe Schritt G.2 nachstehend.

F. Handhabung von Vollblutproben

1. Sicherstellen, dass nicht verarbeitete Patientenproben in primären Röhrchen ordnungsgemäß entsprechend *Probenentnahme und -lagerung* gelagert werden.
2. Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Patientenproben ganz aufgetaut sind. Bringen Sie die Patientenproben vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C. Siehe *Im Panther System gelagerte Proben* für zusätzliche Informationen zu im System gelagerten Proben.
3. Drehen Sie die Röhrchen mit Vollblut mindestens 3 Mal vorsichtig um oder mischen Sie sie vorsichtig auf einer Schwenkvorrichtung, bis das Blut homogen ist.
4. Führen Sie vor der Probenvorbereitung für jede Patientenprobe das folgende Verfahren durch.
 - a. Das Blut in den primären Röhrchen sollte gründlich durch Umdrehen gemischt werden und die Probe sollte umgehend in das Röhrchen mit dem Vollblutverdünner überführt werden.
 - b. Geben Sie 500 µl der Vollblutprobe in das vorgefüllte Röhrchen mit Vollblutverdünner.
 - c. Setzen Sie die Kappe wieder auf und mischen Sie die Probe mindestens 5 Sekunden lang mit dem Vortex-Mischer.

Für Informationen zum Laden des Ständers und zum Abnehmen der Deckel siehe Schritt G.2 nachstehend.

G. Vorbereitung des Systems

1. Das System entsprechend den Anweisungen im *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System)* und den *Verfahrenshinweise einrichten*. Achten Sie darauf, dass Reagenzienständer und TCR-Adapter geeigneter Größe verwendet werden.
2. Die Proben in den Probenständer laden. Führen Sie für jedes Probenröhrchen (Patientenproben und ggf. Kalibrator und Kontrollen) die folgenden Schritte durch:
 - a. Die Kappe eines Probenröhrchens lösen, aber noch nicht abnehmen.

Hinweis: *Besonders darauf achten, eine Kontamination durch Aerosolausbreitung zu vermeiden. Die Kappen der Proben vorsichtig lösen.*
 - b. Das Probenröhrchen in den Probenständer laden.
 - c. Wiederholen Sie die Schritte 2.a und 2.b für jede verbleibende Probe.

- d. Wenn die Proben in den Probenständer geladen sind, die Kappen von allen Probenröhrchen abnehmen und verwerfen. Zur Vermeidung von Kontamination die Kappen nicht über einen Probenständer oder ein Probenröhrchen führen.
- e. Ggf. eine neue Einweg-Transferpipette verwenden, um etwaige Luftblasen oder Schaum zu entfernen. Luftblasen im Röhrchen stören die Füllstandsmessung des Panther Systems.
- f. Wenn die letzte Kappe entfernt wurde, laden Sie den Probenständer in ein Probenfach.
Hinweis: *Sichern Sie bei gleichzeitiger Analyse anderer Assays und Probenarten den Probenhalter, bevor Sie den Probenständer in ein Probenfach laden.*
- g. Wiederholen Sie die Schritte 2.a bis 2.f für den nächsten Probenständer.

H. Vorbereitung des Systems – Anwenden des Vollblutproben-Umrechnungsfaktors.

1. Das System entsprechend den Anweisungen im *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) einrichten.
2. Probenständer laden.
3. Den Vollblut-Umrechnungsfaktor auf Assay-Testanforderungen für Vollblutproben anwenden.

Hinweis: *Der Vollblut-Umrechnungsfaktor kann auf einen ganzen Ständer oder eine einzelne Testanforderung angewendet werden.*

So kann der Vollblut-Umrechnungsfaktor auf einen ganzen Ständer mit Vollblutproben angewendet werden:

- a. Auf dem Bildschirm „*Laden von Probenständern*“ auf den auszuwählenden Ständer doppelklicken. Für den ausgewählten Ständer wird der Bildschirm *Laden von Probenständern* angezeigt.
- b. **Alle verdünnen** auswählen.
Das Fenster „Verdünnungsfaktor“ erscheint.

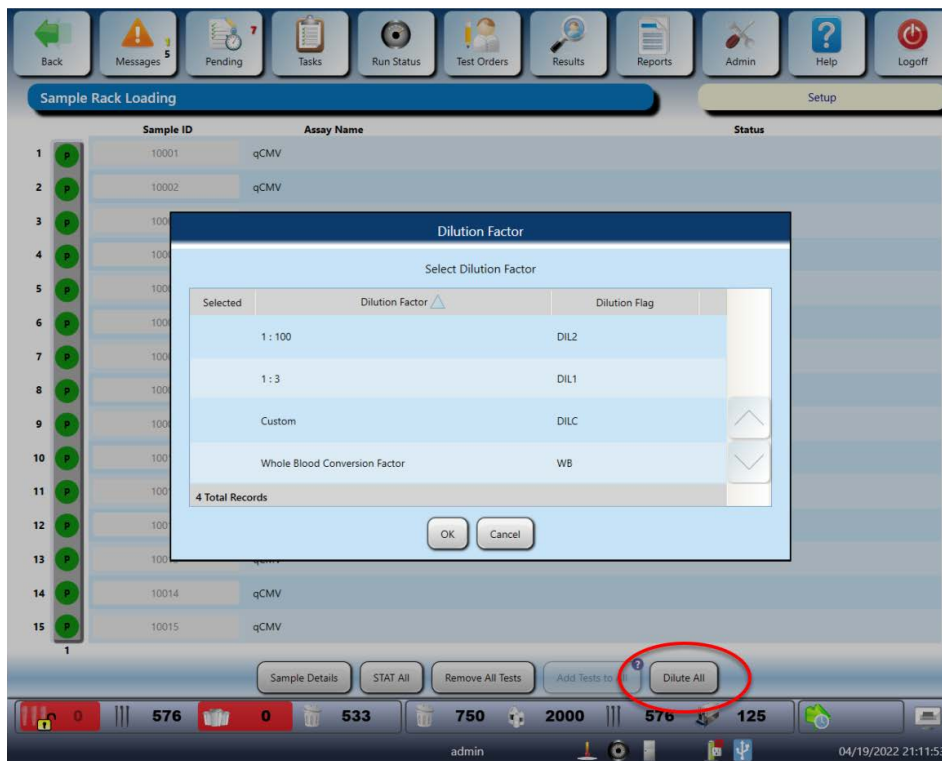


Abbildung 5. Das Fenster „Verdünnungsfaktor“ im Bildschirm „Probenständer laden“ (Beispiel)

- c. **Vollblut-Umrechnungsfaktor** auswählen.
- d. **OK** wählen.
Das Fenster *Verdünnungsfaktor für Probenständer einrichten* wird angezeigt.
- e. **Ja** auswählen, um die Vollblut-Umrechnungsfaktormarkierung auf den ganzen Ständer mit Vollblutproben anzuwenden.

Anwenden des Vollblut-Umrechnungsfaktors auf eine einzelne Testanforderung (siehe die Abbildung unten):

- a. Im Bildschirm „*Probenständerfach*“ auf den geladenen Ständer doppelklicken, der die Zielproben enthält.
Für den ausgewählten Probenständer wird der Bildschirm *Laden von Probenständern* angezeigt.
- b. Auf dem Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) auf die Patientenprobe(n) von Interesse doppelklicken.
Der Bildschirm *Probendetails* öffnet sich mit den aktuellen Testanforderungen für die ausgewählte Probe.
- c. Im Bereich *Test Orders* (Testanforderungen) die interessierende Testanforderung wählen.
- d. **Verdünnung anwenden** auswählen.

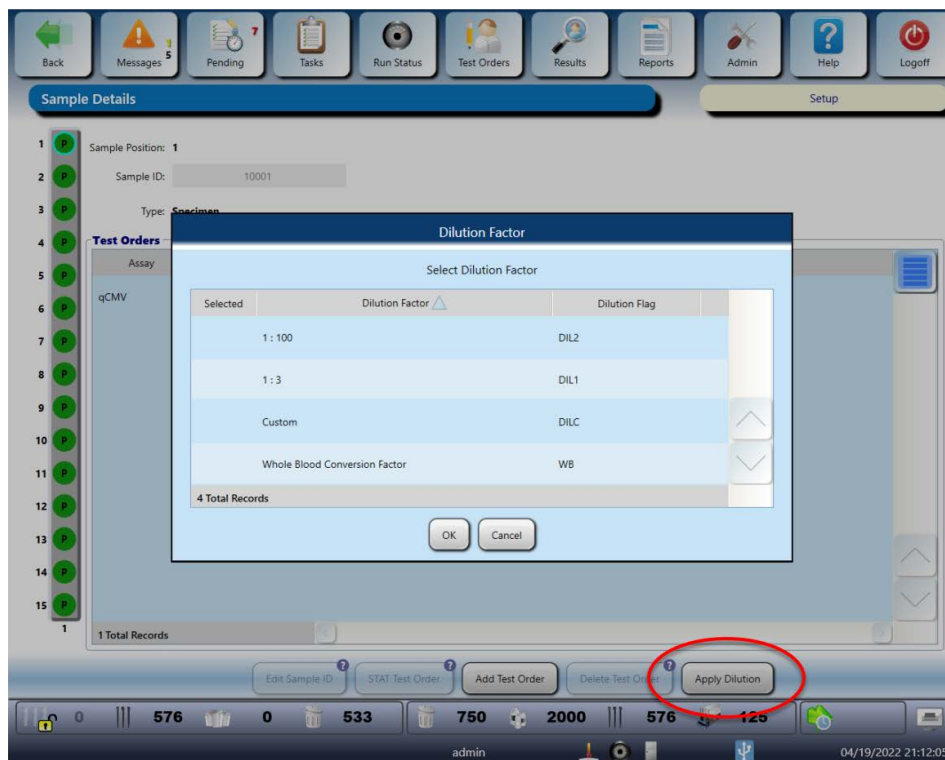


Abbildung 6. Das Fenster „Verdünnungsfaktor“ im Bildschirm „Probendetails“ (Beispiel)

- e. **Vollblut-Umrechnungsfaktor** auswählen.
 - f. **OK** wählen, um den Vollblut-Umrechnungsfaktor bei allen ausgewählten Testanforderungen anzuwenden.
4. Bei Bedarf kann der Vollblut-Umrechnungsfaktor vor Beginn der Verarbeitung aus Testanforderungen entfernt werden.

So kann der Vollblut-Umrechnungsfaktor aus einem gesamten Probenständer entfernt werden:

1. Auf dem Bildschirm „Laden von Probenständern“ auf den auszuwählenden Ständer doppelklicken.
Für den ausgewählten Ständer wird der Bildschirm *Laden von Probenständern* angezeigt.
2. **Alle verdünnen** auswählen.
3. Im Fenster *Verdünnungsfaktor* die Auswahl für **Vollblut-Umrechnungsfaktor** aufheben.
4. **OK** wählen.
Das Fenster *Verdünnungsfaktor für Probenständer einrichten* wird angezeigt.
5. **Ja** auswählen, um den Vollblut-Umrechnungsfaktor aus einem gesamten Probenständer zu entfernen.

So kann der Vollblut-Umrechnungsfaktor aus Assay-Testanforderungen entfernt werden:

1. Im Bildschirm „Probenständerfach“ auf den geladenen Ständer doppelklicken, der die Zielproben enthält.

Für den ausgewählten Probenständer wird der Bildschirm *Laden von Probenständern* angezeigt.

2. Auf dem Bildschirm *Sample Rack Loading* (Laden von Probenständern) auf die Patientenprobe(n) von Interesse doppelklicken.

Im Bildschirm *Probendetails* werden die aktuellen Testanforderungen für die ausgewählte Probe angezeigt.

3. Im Bereich *Test Orders* (Testanforderungen) die interessierende Testanforderung wählen.
4. „**Verdünnung anwenden**“ wählen.
5. Im Fenster *Verdünnungsfaktor* die Auswahl für **Vollblut-Umrechnungsfaktor** aufheben.
6. **OK** auswählen, um den Vollblut-Umrechnungsfaktor aus der Testanforderung zu löschen.

Verfahrenshinweise

A. Kalibrator und Kontrollen

1. Der qCMV-Positivkalibrator, die Röhrcchen mit der qCMV schwach positiven, der qCMV stark positiven und der negativen qCMV-Kontrolle können in jede Position im Probenständer und in jede Probenfach-Bahn im Panther System geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der beiden folgenden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Der Kalibrator und die Kontrollen werden derzeit vom System verarbeitet.
 - b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren und Kontrollen werden auf dem System registriert.
2. Sobald der Kalibrator und die Röhrcchen mit den Kontrollen pipettiert worden sind und mit dem Aptima CMV Quant Assay-Reagenzien-Kit verarbeitet werden, können bis zu 24 Stunden lang Patientenproben mit dem zugehörigen rekonstituierten Kit getestet werden, **es sei denn**:
 - a. Die Kalibrator- oder Kontrollenergebnisse sind ungültig.
 - b. Das zugehörige Assay-Reagenzien-Kit aus dem System genommen wird.
 - c. Das zugehörige Assay-Reagenzien-Kit die Stabilitätsgrenze überschritten hat.
3. Das Kalibrator- und alle Kontrollenröhrcchen können einmal verwendet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrcchen zu pipettieren, kann es zu Verarbeitungsfehlern kommen.

B. Handschuhpuder

Wie bei jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrcchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

Qualitätskontrolle

Ein Lauf- oder Patientenprobenergebnis kann von einem Anwender für ungültig erklärt werden, wenn während der Durchführung des Assays technische, anwender- oder gerätebezogene Probleme aufgetreten sind und dokumentiert wurden. In diesem Fall müssen die Proben erneut getestet werden.

Patientenproben mit ungültigen Ergebnissen müssen erneut getestet werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Bei ungültigem Ergebnis aufgrund eines ML2-Fehlers darf die unverdünnte Plasmaprobe nicht erneut getestet werden. Anweisungen zur Verdünnung der Patientenprobe finden Sie unter *Testverfahren mit dem Panther System*, Schritt E.5 in dieser Packungsbeilage.

Hinweis: Angaben zum ML2-Fehler finden Sie im entsprechenden *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual for Mag Wash Clean Instructions [Bedienungsanleitung für Mag-Waschanweisungen für das Panther/Panther Fusion System]*.

Assay-Kalibrierung

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss eine Assay-Kalibrierung durchgeführt worden sein. Ein einzelner Positivkalibrator wird jedes Mal, wenn ein Reagenzien-Kit in das Panther System geladen wird, dreimal analysiert. Sobald festgelegt, ist die Kalibrierung bis zu 24 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Software des Panther Systems darauf aufmerksam gemacht, wenn eine Kalibration erforderlich ist. Der Anwender scannt einen Kalibrierungskoeffizienten, der auf jedem Reagenzien-Kit beiliegenden Master-Lot-Barcodeblatt angegeben ist.

Während der Verarbeitung werden Kriterien für die Annahme des Kalibrators von der Software des Panther Systems automatisch verifiziert. Wenn weniger als zwei Kalibratorreplikate gültig sind, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch vorbereiteten Kalibrator und frisch vorbereiteten Kontrollen erneut zu testen.

Negativ- und Positivkontrollen

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss ein Satz von Assay-Kontrollen getestet werden. Ein Replikat der Negativkontrolle, der schwach positiven Kontrolle und der stark positiven Kontrollen muss jedes Mal, wenn ein Reagenzien-Kit in das Panther System geladen wird, getestet werden. Sobald festgelegt, sind die Kontrollen bis zu 24 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Panther System-Software darauf aufmerksam gemacht, wenn Kontrollen erforderlich sind.

Während der Verarbeitung werden Kriterien für die Annahme der Kontrollen von der Panther System-Software automatisch verifiziert. Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss die Negativkontrolle ein Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ liefern und die Ergebnisse der Positivkontrollen müssen innerhalb vordefinierter Parameter liegen. Wenn das Ergebnis für eine der Kontrollen ungültig ist, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch vorbereiteten Kalibrator und frisch vorbereiteten Kontrollen erneut zu testen.

Interner Kalibrator/Interne Kontrolle

Jede Probe enthält einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (IC). Während der Verarbeitung werden IC-Akzeptanzkriterien von der Software des Panther Systems

automatisch verifiziert. Wenn ein IC-Ergebnis ungültig ist, wird das Probenergebnis für ungültig erklärt. Jede Probe mit ungültigem IC-Ergebnis muss erneut getestet werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten.

Die Software des Panther Systems dient zur genauen Verifizierung der Prozesse, wenn Verfahren gemäß den Anweisungen in der Packungsbeilage und im *Panther/PantherFusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther System)* durchgeführt werden.

Interpretation der Ergebnisse

Das Panther System bestimmt die Konzentration der CMV-DNA in Patientenproben und Kontrollen automatisch, indem es die Ergebnisse mit einer Kalibrationskurve abgleicht. CMV-DNA-Konzentrationen werden in IE/ml und \log_{10} IE/ml angegeben. Tabelle 1 und Tabelle 2 zeigen die Ergebnisauswertung. Bei Verwendung der Vollblut- bzw. Plasma-Verdünnungsoption auf dem Panther System berechnet die Software automatisch die CMV-DNA-Konzentration für die unverdünnte Patientenprobe, indem die verdünnte Konzentration mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert wird. Die Probenergebnisse werden gekennzeichnet.

Hinweis: Falls Patientenproben mit einer Konzentration über, aber nahe der LoD (Nachweisgrenze) bzw. der LLoQ (Lower Limit of Quantitation, untere Quantifizierungsgrenze) verdünnt werden, können die Ergebnisse „Nicht nachgewiesen“ oder „> 53 nachgewiesen“ vorliegen. Falls kein quantitatives Ergebnis erzielt wird, empfiehlt es sich, eine andere unverdünnte Patientenprobe zu entnehmen und zu analysieren.

Tabelle 1: Interpretation der Plasma-Ergebnisse

Angegebenes Aptima CMV Quant Assay-Ergebnis		Auswertung
IU/ml	\log_{10} -Wert	
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	CMV-DNA nicht nachgewiesen
< 53 nachgewiesen	< 1,72	Es wird CMV-DNA nachgewiesen, aber unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ).
53 bis 10.000.000	1,72 bis 7,00	Die CMV-DNA-Konzentration liegt im quantitativen Bereich von LLoQ bis ULoQ IU/ml
> 10.000.000	> 7,00	Die CMV-DNA-Konzentration liegt über der Quantifizierungsgrenze (ULoQ).
Ungültig ^a	Ungültig ^a	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Probe sollte noch einmal getestet werden.

^aUngültige Ergebnisse sind in blauer Schrift angezeigt.

Tabelle 2: Interpretation der Vollblut-Ergebnisse

Angegebenes Aptima CMV Quant Assay-Ergebnis		Auswertung
IU/ml	\log_{10} -Wert	
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	CMV-DNA nicht nachgewiesen
< 176 nachgewiesen	< 2,24	Es wird CMV-DNA nachgewiesen, aber unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ).
176 bis 10.000.000	2,24 bis 7,00	Die CMV-DNA-Konzentration liegt im quantitativen Bereich von LLoQ bis ULoQ IU/ml
> 10.000.000	> 7,00	Die CMV-DNA-Konzentration liegt über der Quantifizierungsgrenze (ULoQ).
Ungültig ^a	Ungültig ^a	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Probe sollte noch einmal getestet werden.

^aUngültige Ergebnisse sind in blauer Schrift angezeigt.

Hinweis: Sollte das Ergebnis der verdünnten Probe vor Anwendung des Verdünnungsfaktors innerhalb des Assay-Bereichs liegen, gibt das Panther System für verdünnte Plasmaproben Ergebnisse, die über der ULoQ (Obergrenze der Quantifizierung) liegen, in wissenschaftlicher Schreibweise an.

Die Annahmekriterien für jede der Aptima CMV Quant Assaykontrollen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Hinweis: Der unten aufgeführte Wiederfindungsbereich verschiebt sich je nach dem zugewiesenen Wert der jeweiligen Charge. Die zugewiesene Konzentration finden Sie auf dem Barcodeblatt der Kontrollen, das der jeweiligen Schachtel mit den Kontrollen beiliegt.

Tabelle 3: Annahmekriterien für den Wiederfindungsbereich des Aptima CMV Quant Assay

Komponente	Wiederfindungsbereich für gültige Läufe
Negativkontrolle	n. Z.
Niedrige Positivkontrolle	+/- 0,6 log ₁₀ Kopien/ml
Stark positive Kontrolle	+/- 0,5 log ₁₀ Kopien/ml

Einschränkungen

- A. Dieser Test darf nur von Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.
- C. Es besteht die seltene Möglichkeit, dass Mutationen in den hoch konservierten Regionen des Virusgenoms, an die die Primer und/oder Sonden im Aptima CMV Quant Assay binden, den Assay stören und so das Virus zu gering quantifiziert oder sogar überhaupt nicht nachgewiesen wird.

Analytische Leistung

Detektionsgrenze mit dem 1. internationalen WHO-Standard

Die Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Assays ist definiert als die CMV-DNA-Konzentration, die gemäß CLSI EP17-A2 mit einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 95 % festgestellt wird.¹⁴

Nachweisgrenze mit den 1. internationalen WHO-Standards in Plasma

Die LoD wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards (NIBSC-Code 09/162)²¹ für CMV, die in CMV-negativem Humanplasma verdünnt wurden. 60 Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 180 Replikate ergab. Zur Aufstellung der vorhergesagten Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Bei den in Tabelle 4 dargestellten LoD-Werten handelt es sich um die Ergebnisse der Reagenzchargen mit der höchsten vorhergesagten Nachweisgrenze. Die LoD für den Aptima CMV Quant Assay mit dem 1. internationalen WHO-Standard beträgt 40,7 IU/ml für Plasma.

Tabelle 4: Nachweisgrenze in Plasma mit dem 1. internationalen WHO-Standard für CMV

Vorhergesagte Nachweisgrenze	Konzentration (IU/ml)
10 %	1,9
20 %	2,9
30 %	4,0
40 %	5,3
50 %	6,9
60 %	9,1
70 %	12,2
80 %	17,1
90 %	27,5
95 %	40,7

Nachweisgrenze laut 1. internationalen WHO-Standard in Vollblut

Die LoD wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards für CMV, die in CMV-negativem Vollplasma verdünnt wurden. 60 Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 180 Replikate ergab. Zur Aufstellung der vorhergesagten Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Bei den in Tabelle 5 dargestellten LoD-Werten handelt es sich um die Ergebnisse der Reagenzchargen mit der höchsten vorhergesagten Nachweisgrenze. Die LoD für den Aptima CMV Quant Assay mit dem 1. internationalen WHO-Standard beträgt 131,0 IU/ml für Vollblut.

Tabelle 5: Nachweisgrenze für Vollblut mit dem 1. Internationalen WHO-Standard für CMV

Vorhergesagte Nachweisgrenze	Konzentration (IU/ml)
10 %	8,8
20 %	13,2
30 %	17,7
40 %	22,7
50 %	28,7
60 %	36,2
70 %	46,5
80 %	62,4
90 %	93,7
95 %	131,0

Nachweisgrenze für CMV-Genotypen und arzneimittelresistente Mutationen

Nachweisgrenze für CMV-Genotypen und arzneimittelresistente Mutationen in Plasma

Die LoD wurde für drei unterschiedliche Genotypen auf Grundlage der Glykoprotein-B-Sequenz⁷ (gB-2, gB-3 und gB-4) und für arzneimittelresistente Mutationen verifiziert, indem verschiedene CMV-Konzentrationen um die etablierte LoD für Plasma gemäß dem 1. internationalen CMV-Standard der WHO (Genotyp gB-1) getestet wurden. Die Testung erfolgte mittels zweier Chargen der Aptima CMV Quant-Reagenzien an 30 Replikaten je Panelprobe und Reagenziencharge. Bei beiden Reagenzienchargen lag die höchste verifizierte LoD für alle drei Genotypen und arzneimittelresistente Mutationen bei 40 IE/ml.

Hinweis: Die Leistung des Aptima CMV Quant Assays mit arzneimittelresistenten Mutationen des CMV wurde nur für Plasma-Patientenproben beurteilt.

Tabelle 6: Nachweisgrenze für CMV-Genotypen und arzneimittelresistente Mutationen in Plasma

Genotypen/Mutationen	Konzentration (IU/ml)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Arzneimittelresistente Mutation UL54 und UL97*	35
Arzneimittelresistente Mutation UL56**	35

*UL54-Genmutationen können zu Kreuzresistenzen mit verschiedenen antiviralen Wirkstoffen für die Behandlung einer CMV-Infektion führen, z. B. Ganciclovir (GVC), Cidofovir (CDV) und Foscarnet (PFA). UL97-Genmutationen führen außerdem zu einer Resistenz gegen Ganciclovir (GVC).

**UL56-Genmutationen führen zu einer Resistenz gegen Letemovir (LET).

Die Gesamt-LoD in Plasma beträgt 40,7 IU/ml.

Nachweisgrenze bei CMV-Genotypen in Vollblut

Die LoD wurde für drei unterschiedliche Glykoprotein-B-Genotypen (gB-2, gB-3 und gB-4) verifiziert, indem verschiedene CMV-Konzentrationen um die etablierte LoD für Vollblut gemäß dem 1. internationalen CMV-Standard der WHO (Genotyp gB-1) getestet wurden. Die Testung erfolgte mittels zweier Chargen der Aptima CMV Quant-Reagenzien an 30 Replikaten je Panelprobe und Reagenziencharge. Bei beiden Reagenzienchargen betrug die höchste verifizierte LoD für alle drei Genotypen 150 IE/ml.

Tabelle 7: Nachweisgrenze bei CMV-Genotypen in Vollblut

Genotyp	Konzentration (IU/ml)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

Die Gesamt-LoD in Vollblut beträgt 150 IU/ml.

Linearer Bereich

Linearer Bereich in Plasma

Der lineare Bereich wurde durch Testung von CMV-Panels etabliert, die gemäß CLSI EP06-A in CMV-negativem Humanplasma verdünnt wurden.¹⁵ Die Panels variierten zwischen Konzentrationen von 1,62 log₁₀ IU/ml und 7,30 log₁₀ IU/ml. Der Aptima CMV Quant Assay zeigte über den gesamten Testbereich Linearität. Die obere Quantifizierungsgrenze (ULoQ) des Assays beträgt 7,00 log₁₀ IU/ml, wie in Abbildung 7 dargestellt.

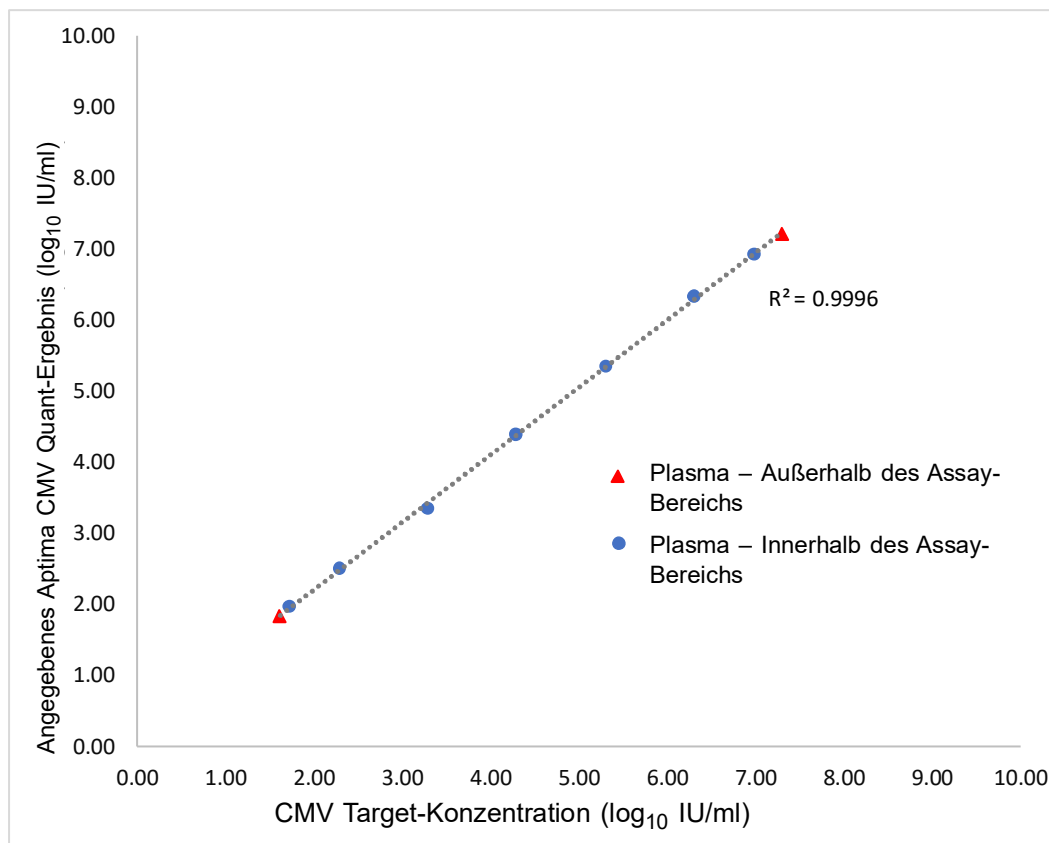


Abbildung 7. Linearität in Plasma

Linearer Bereich in Vollblut

Der lineare Bereich wurde durch Testung von CMV-Panels etabliert, die gemäß CLSI EP06-A in CMV-negativem menschlichem Vollblut verdünnt wurden.¹⁵ Die Panels variierten zwischen Konzentrationen von 2,15 log₁₀ IU/ml und 7,3 log₁₀ IU/ml für Vollblut. Der Aptima CMV Quant Assay zeigte über den gesamten Testbereich Linearität. Die obere Quantifizierungsgrenze (ULoQ) des Assays beträgt 7 log₁₀ IU/ml, wie in Abbildung 8 dargestellt.

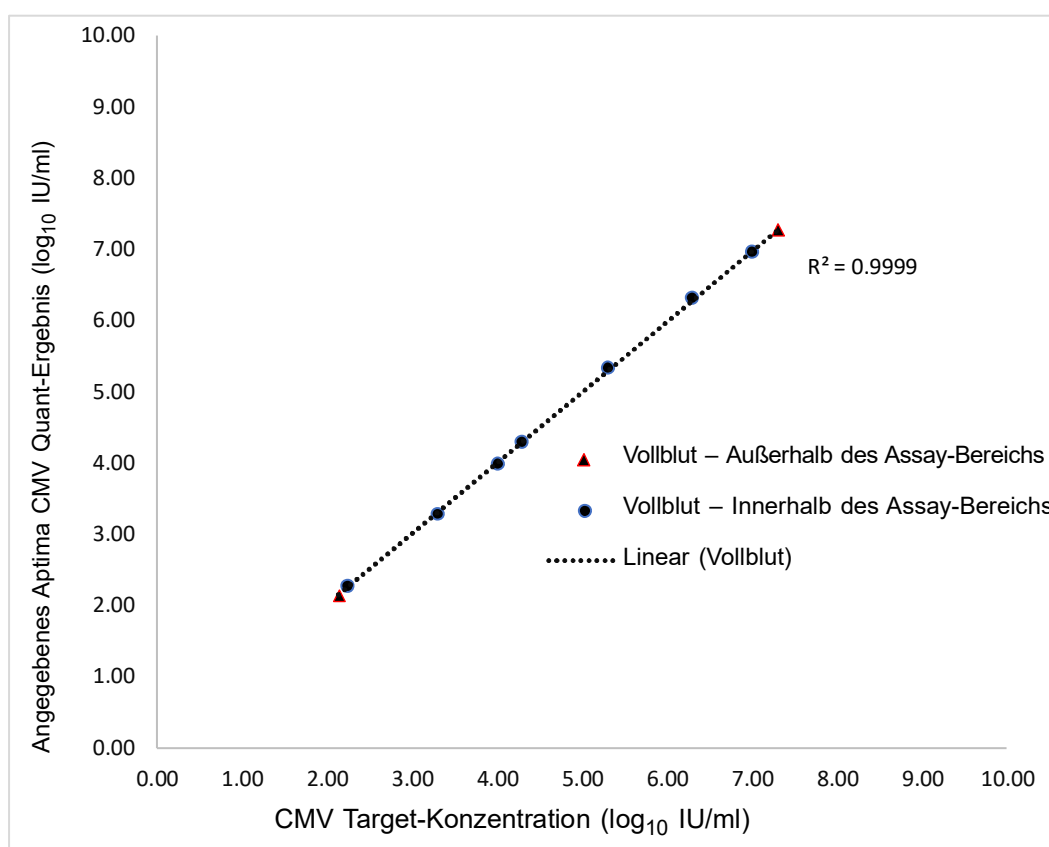


Abbildung 8. Linearität in Vollblut

Linearität bei CMV-Genotypen

Linearität bei CMV-Genotypen Plasma

Die Linearität für die Glykoprotein-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 wurde durch Testung von CMV-Panels verifiziert, die in CMV-negativem Plasma bei Konzentrationen zwischen 1,72 \log_{10} IU/ml und 7,00 \log_{10} IU/ml verdünnt wurden. Über den gesamten Bereich wurde Linearität für alle getesteten Genotypen aufgezeigt, wie in Abbildung 9 dargestellt.

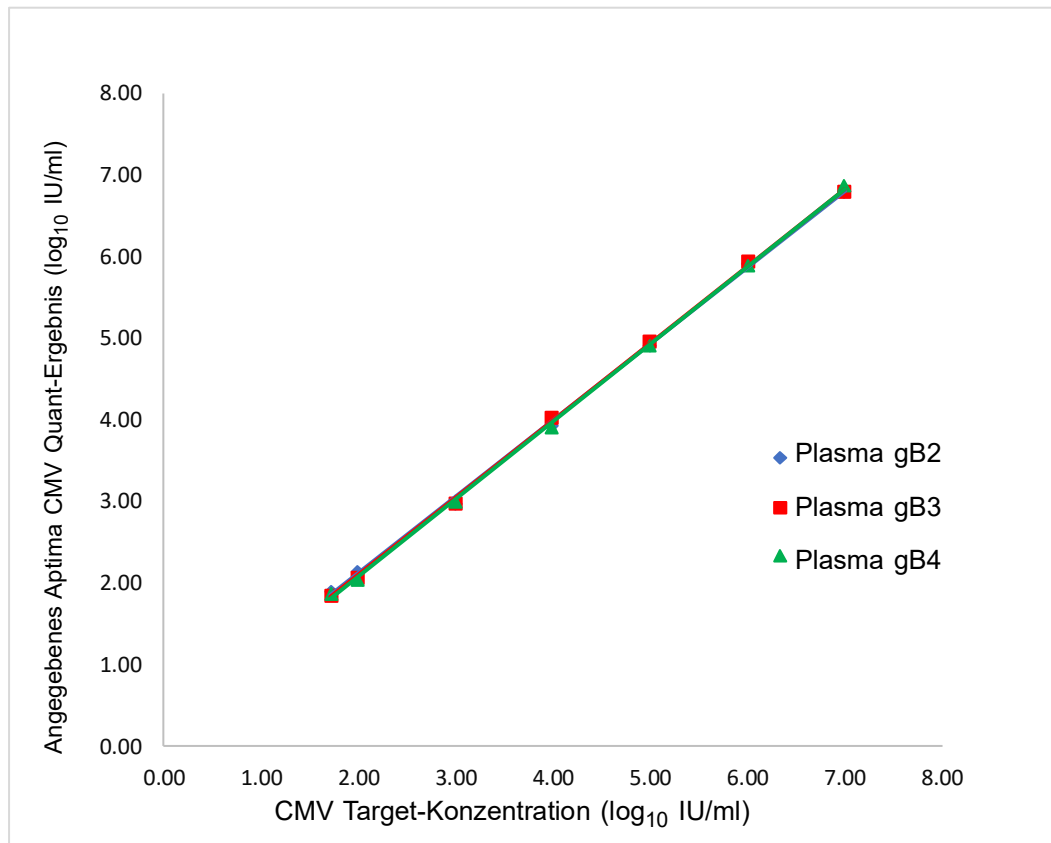


Abbildung 9. Linearität bei den CMV-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 in Plasma

Linearität bei CMV-Genotypen Vollblut

Das lineare Ansprechen für die Glykoprotein-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 wurde durch Testung von CMV-Panels verifiziert, die in CMV-negativem Vollblut bei Konzentrationen zwischen 2,25 log₁₀ IU/ml und 7,00 log₁₀ IU/ml verdünnt wurden. Über den gesamten Bereich wurde Linearität für alle drei getesteten Genotypen aufgezeigt, wie in Abbildung 10 dargestellt.

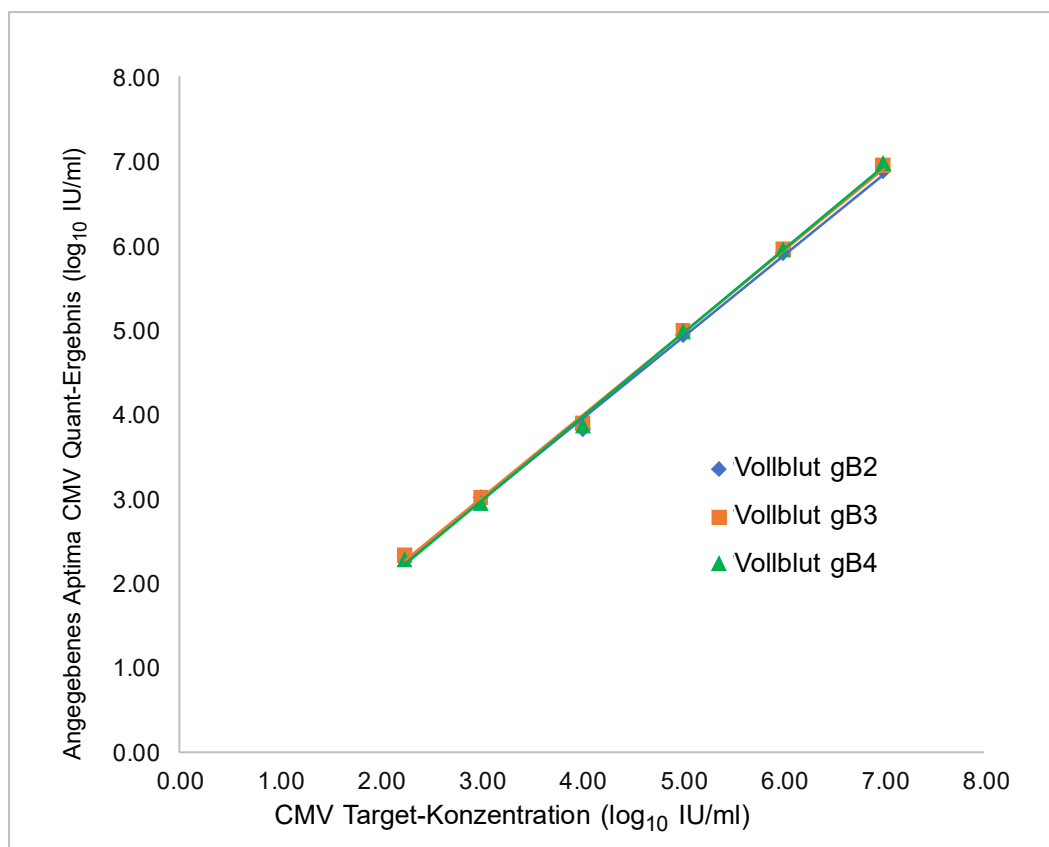


Abbildung 10. Linearität bei den CMV-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 in Vollblut

Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 1. Internationalen WHO-Standard

Die untere Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) ist definiert als die niedrigste Konzentration, bei der CMV-DNA innerhalb eines Gesamtfehlers (Total Error, TE) zuverlässig gemäß CLSI EP17-A2 quantifiziert werden kann.¹⁴ Der Gesamtfehler wurde unter Verwendung des Westgard-Modells geschätzt: Gesamtfehler (TE) = |Abweichung| + 2 SAT. Zur Gewährleistung der Genauigkeit der Messungen wurde für den Gesamtfehler des Aptima CMV Quant Assays $1 \log_{10}$ IU/ml festgelegt (d. h. bei der LLoQ ist eine Differenz von mehr als $1 \log_{10}$ IU/ml zwischen zwei Messungen statistisch signifikant).

Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 1. Internationalen WHO-Standard in Plasma

Die LLoQ wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards (NIBSC-Code 09/162, Genotyp gB-1)²¹ für CMV-DNA, die in CMV-negativem Humanplasma verdünnt wurde.⁶⁰ Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 180 Replikate ergab. Die LLoQ-Ergebnisse für die drei Reagenzchargen sind in Tabelle 8 dargestellt. Die Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration, die die TE-Anforderungen und ≥ 95 % Detektion erfüllen, sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Die mit dem 1. internationalen WHO-Standard generierte LLoQ für CMV in Plasma beträgt 53 IU/ml.

Tabelle 8: Bestimmung der LLoQ unter Verwendung des 1. internationalen WHO-Standards für CMV in verdünntem Plasma

Reagenzcharge	N	N nachgewiesen	Target-Konzentration	Aptima CMV Quant	SAT	[Abweichung]	Berechneter TE
			(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)
1	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
2	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
3	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

SAT = Standardabweichung

Panelproben, die das Genauigkeitsziel (TE ≤ 1) und ≥ 95 % Detektion für die Reagenzchargen 1, 2 und 3 erfüllen, sind grau unterlegt.

Tabelle 9: Zusammenfassung der LLoQ für Plasma unter Verwendung des 1. internationalen WHO-Standards für CMV

Reagenzcharge	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Untere Quantifizierungsgrenze mit dem 1. Internationalen WHO-Standard in Vollblut

Die LLoQ wurde bestimmt durch Testung von Panels des 1. internationalen WHO-Standards für CMV-DNA, die in CMV-negativem menschlichem Vollblut verdünnt wurden. 60 Replikate jeder Verdünnung wurden mit je drei Reagenzchargen getestet, was je Verdünnung insgesamt 180 Replikate ergab. Die Ergebnisse für die drei Reagenzchargen sind in Tabelle 10 dargestellt. Die Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration, die die TE-Anforderungen und $\geq 95\%$ Detektion erfüllen, sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Die mit dem 1. internationalen WHO-Standard generierte LLoQ für CMV in Vollblut beträgt 176 IU/ml.

Tabelle 10: Bestimmung der LLoQ unter Verwendung des 1. internationalen WHO-Standards für CMV in verdünntem Vollblut

Reagenzcharge	N	N nachgewiesen	Target-Konzentration	Aptima CMV Quant	SAT	[Abweichung]	Berechneter TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

SAT = Standardabweichung

Panelproben, die das Genauigkeitsziel (TE ≤ 1) und $\geq 95\%$ Detektion für die Reagenzchargen 1, 2 und 3 erfüllen, sind schattiert.

Tabelle 11: Zusammenfassung der LLoQ für Vollblut unter Verwendung des 1. internationalen WHO-Standards für CMV

Reagenzcharge	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
1	138	2,14
2	106	2,02
3	176	2,25

Bestimmung der unteren Qualifizierungsgrenze bei CMV-Genotypen und arzneimittelresistenten Mutationen

Untere Quantifizierungsgrenze für Genotypen und arzneimittelresistente Mutationen in Plasma

Die gemäß dem 1. internationalen WHO-Standard etablierte LLoQ wurde durch Testung der CMV-Genotypen gB-2, gB-3, gB-4 und arzneimittelresistenter Mutationen in CMV-negativem Humanplasma verifiziert. Es wurden 60 Replikate jeder Panelprobe mit einer Reagenziencharge getestet. Die Ergebnisse sind in Table 12 dargestellt. Die berechnete LLoQ für die Genotypen gB-2, gB-3, gB-4 und arzneimittelresistente Mutationen aus der Reagenziencharge mit der höchsten Konzentration, die die TE-Anforderungen und $\geq 95\%$ Detektion erfüllt, ist in Table 12 dargestellt. Die Gesamt-LLoQ für Plasma in diesem Assay beträgt 53 IE/ml.

Hinweis: Die Leistung des Aptima CMV Quant Assays mit arzneimittelresistenten Mutationen des CMV wurde nur für Plasma-Patientenproben beurteilt.

Tabelle 12: Bestimmung der LLoQ bei Genotypen und arzneimittelresistenten Mutationen in Plasma

Genotypen/ Mutationen	N	% Nachgewiesen	Target- Konzentration (log ₁₀ IU/ml)	Aptima CMV Quant (log ₁₀ IU/ml)	SAT (log ₁₀ IU/ml)	[Abweichung] (log ₁₀ IU/ml)	Berechneter TE (log ₁₀ IU/ml)
gB-2	60	93,3	1,48	1,38	0,41	0,10	0,92
	60	96,7	1,54	1,39	0,39	0,16	0,95
	60	93,3	1,60	1,49	0,38	0,11	0,87
	60	96,7	1,65	1,70	0,24	0,04	0,51
	60	95,0	1,70	1,54	0,32	0,16	0,80
gB-3	60	91,7	1,48	1,27	0,38	0,20	0,97
	60	91,7	1,54	1,27	0,40	0,27	1,07
	60	88,3	1,60	1,31	0,47	0,29	1,23
	60	93,3	1,65	1,46	0,34	0,20	0,88
	60	91,7	1,70	1,57	0,29	0,13	0,71
	60	98,3	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79

Tabelle 12: Bestimmung der LLoQ bei Genotypen und arzneimittelresistenten Mutationen in Plasma (Fortsetzung)

Genotypen/ Mutationen	N	% Nachgewiesen	Target- Konzentration	Aptima CMV Quant	SAT	[Abweichung]	Berechneter TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-4	60	96,7	1,48	1,38	0,39	0,09	0,88
	60	98,3	1,54	1,51	0,33	0,03	0,69
	60	95,0	1,60	1,66	0,36	0,06	0,79
	60	98,3	1,65	1,66	0,29	0,01	0,59
	60	100,0	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48
Arzneimittel- resistente Mutation (UL54 und UL97)	60	95,0	1,48	1,57	0,32	0,10	0,74
	60	98,3	1,54	1,58	0,32	0,04	0,68
	60	98,3	1,60	1,72	0,33	0,12	0,79
	60	100,0	1,65	1,74	0,22	0,08	0,51
	60	100,0	1,70	1,83	0,24	0,14	0,61
Arzneimittel- resistente Mutation (UL56)	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
	60	96,7	1,54	1,60	0,30	0,06	0,65
	60	100,0	1,60	1,69	0,26	0,08	0,60
	60	100,0	1,65	1,78	0,29	0,12	0,71
	60	100,0	1,70	1,74	0,27	0,05	0,58

SAT = Standardabweichung

Panelproben, die das Genauigkeitsziel (TE ≤ 1) und ≥ 95 % Detektion für die Reagenzchargen 1, 2 und 3 erfüllen, sind grau unterlegt.

Tabelle 13: Zusammenfassung der LLoQ bei Genotypen und arzneimittelresistenten Mutationen in Plasma

Genotypen/Mutationen	LLoQ	
	(IU/ml)	(Log ₁₀ IU/ml)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Arzneimittelresistente Mutation UL54 und UL97*	38	1,57
Arzneimittelresistente Mutation UL56**	35	1,54

*UL54-Genmutationen können zu Kreuzresistenzen mit verschiedenen antiviralen Wirkstoffen für die Behandlung einer CMV-Infektion führen, z. B. Ganciclovir (GVC), Cidofovir (CDV) und Foscarnet (PFA). UL97-Genmutationen führen außerdem zu einer Resistenz gegen Ganciclovir (GVC).

**UL56-Genmutationen führen zu einer Resistenz gegen Letemovir (LET).

Untere Quantifizierungsgrenze bei Genotypen in Vollblut

Die unter Verwendung des 1. Internationalen WHO-Standards etablierte LLoQ wurde durch Testung der CMV-Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 in CMV-negativem menschlichem Vollblut verifiziert. Es wurden 60 Replikate jeder Panelprobe mit einer Reagenzcharge getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 14 dargestellt. Die LLoQ für die Genotypen gB-2, gB-3 und gB-4 aus der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration, die die TE-Anforderungen und ≥ 95 % Detektion erfüllt, ist in Tabelle 15 dargestellt. Die Gesamt-LLoQ für Vollblut in diesem Assay beträgt 176 IU/ml.

Tabelle 14: Bestimmung der LLoQ bei Genotypen in Vollblut

Genotyp	N	N nachgewiesen	Target- Konzentration	Aptima CMV Quant	SAT	[Abweichung]	Berechneter TE
			(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ ml)	(log ₁₀ IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	60	56	2,08	1,77	0,43	0,30	1,16
	60	56	2,15	1,87	0,39	0,27	1,06
	60	56	2,20	1,80	0,59	0,40	1,58
	60	58	2,26	1,97	0,41	0,28	1,11
	60	59	2,30	2,06	0,50	0,24	1,24
	60	57	2,34	2,01	0,52	0,33	1,38
	60	59	2,38	2,11	0,36	0,27	1,00
	60	60	2,41	2,19	0,30	0,23	0,84
gB-3	60	46	2,08	1,73	0,59	0,35	1,53
	60	54	2,15	1,78	0,50	0,36	1,37
	60	54	2,20	1,87	0,50	0,33	1,34
	60	58	2,26	2,02	0,52	0,23	1,27
	60	58	2,30	2,02	0,32	0,28	0,92
gB-4	60	55	2,08	1,78	0,53	0,30	1,37
	60	57	2,15	1,97	0,40	0,18	0,97
	60	58	2,20	2,09	0,39	0,12	0,89

SAT = Standardabweichung

Tabelle 15: Zusammenfassung der LLoQ bei Genotypen in Vollblut

Genotyp	LLoQ	
	(IU/ml)	(log ₁₀ IU/ml)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Rückführbarkeit auf den 1. internationalen WHO-Standard

Während der gesamten Produktentwicklung und -herstellung wurde eine Reihe von Sekundärstandards mit bekannten Konzentrationen verwendet, um die Rückverfolgbarkeit auf den 1. internationalen CMV-Standard der WHO zu gewährleisten. Der 1. internationale CMV-Standard der WHO wurde verdünnt und zusammen mit den Sekundärstandards, den Assay-Kontrollen und den im Aptima CMV Quant Assay verwendeten Kalibratoren getestet, um die Rückverfolgbarkeit gemäß CLSI EP32-R zu evaluieren.¹⁶ Die Konzentration der Sekundärstandards reichte von 1,80 bis 6,60 log₁₀ IE/ml.

Rückverfolgbarkeit auf den 1. internationalen WHO-Standard bei Plasma

Die für den 1. internationalen CMV-Standard der WHO getesteten Konzentrationen lagen zwischen 2,18 und 4,70 log₁₀ IE/ml. Die Wiedergewinnung der WHO-Plasmapanels, sekundären Standards, Assaykontrollen und Assaykalibratoren lag wie erwartet und aus Abbildung 11 ersichtlich im linearen Bereich des Assays.

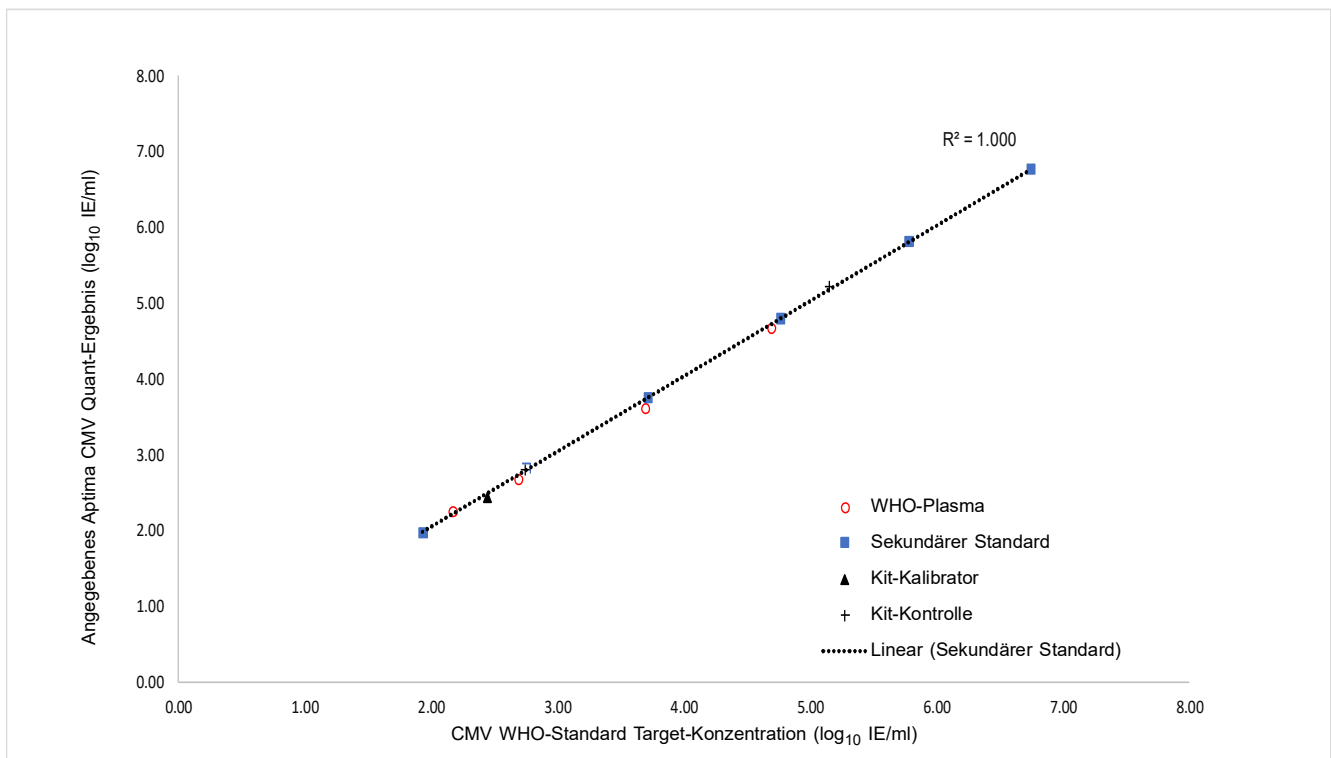


Abbildung 11. Rückverfolgbarkeit zwischen den Zielkonzentrationen und gemessenen Konzentrationen des 1. internationalen CMV-Standards der WHO im Aptima CMV Quant Assay (in Plasma verdünnter WHO-Standard)

Rückverfolgbarkeit auf den 1. internationalen WHO-Standard bei Vollblut

Die für den 1. internationalen CMV-Standard der WHO getesteten Konzentrationen bei Vollblut lagen zwischen 2,70 und 4,70 \log_{10} IE/ml. Die Wiedergewinnung der WHO-Vollblutpanels, sekundären Standards, Assaykontrollen und Assaykalibratoren lag wie erwartet und aus Abbildung 12 ersichtlich im linearen Bereich des Assays.

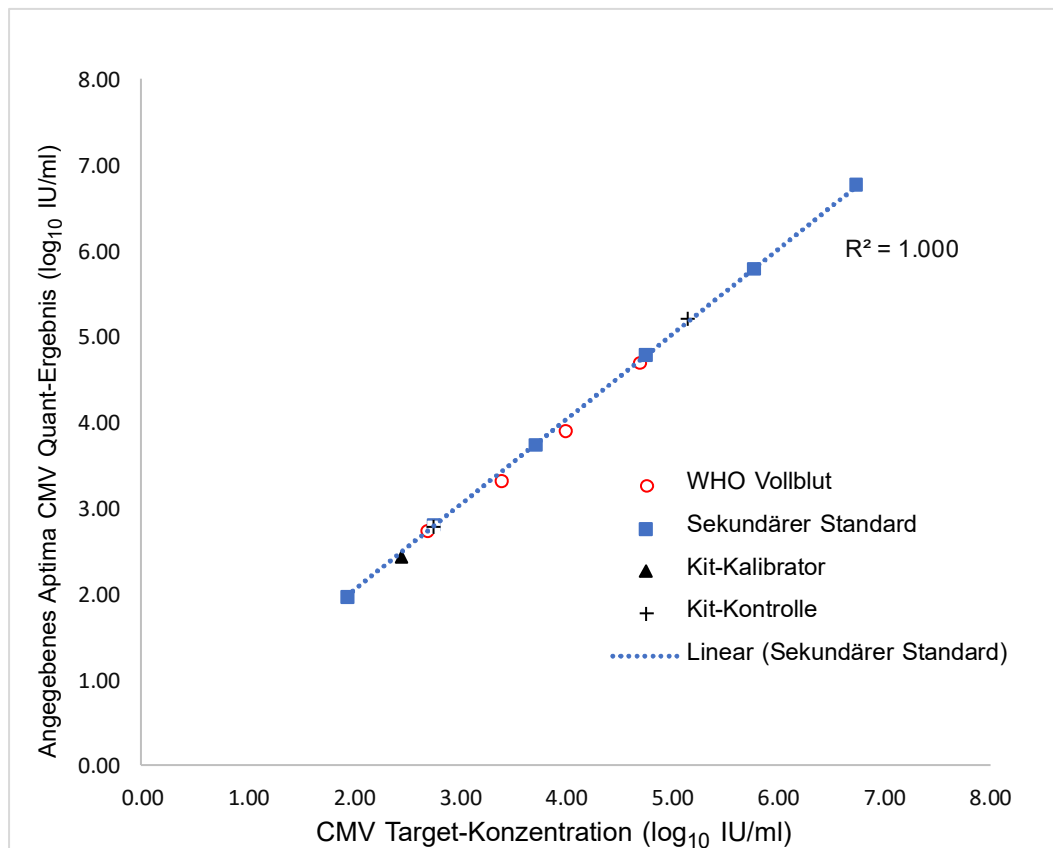


Abbildung 12. Rückverfolgbarkeit zwischen den Zielkonzentrationen und gemessenen Konzentrationen des 1. internationalen CMV-Standards der WHO im Aptima CMV Quant Assay (in Vollblut verdünnter WHO-Standard)

Präzision

Plasma

Zur Beurteilung der Präzision wurde ein Panel mit 6 Proben durch Verdünnen CMV-positiver klinischer Patientenproben oder von kultiviertem CMV in CMV-negativem Plasma erstellt. Das Panel wurde von drei Anwendern mit drei Reagenzchargen auf drei Panther Systemen in einem Zeitraum von mindestens 20 Tagen getestet. Jeder Anwender führte zwei Durchläufe pro Tag durch und jede Panelprobe wurde in jedem Durchlauf doppelt getestet. Die Studie wurde gemäß den Empfehlungen des CLSI EP-05-A3 entworfen und analysiert.¹⁷

Table 16 zeigt die Präzision der Assay-Ergebnisse (in \log_{10} IE/ml) zwischen Geräten, Anwendern, Reagenzienchargen, Durchläufen, Tagen, innerhalb von Durchläufen und gesamt. Die Gesamtvariabilität war hauptsächlich durch die Variabilität innerhalb der Durchläufe bestimmt (d. h. durch Zufallsfehler).

Tabelle 16: Präzision des Aptima CMV Quant Assays in Plasma

N	Mittlere Konzentration	Zwischen Chargen	Zwischen Geräten	Vergleich Anwender	Zwischen Tagen	Zwischen Durchläufen	Innerhalb von Durchläufen	Gesamt
	(\log_{10} IU/ml)	SAT	SAT	SAT	SAT	SAT	SAT	SAT
108	2,28	0,02	0,04	0,00	0,00	0,06	0,16	0,18
108	2,82	0,06	0,00	0,00	0,04	0,07	0,11	0,14
108	3,49	0,07	0,00	0,01	0,06	0,06	0,11	0,15
108	4,53	0,04	0,02	0,04	0,00	0,07	0,07	0,11
108	5,57	0,06	0,00	<0,001	0,04	0,02	0,09	0,12
108	6,67	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,10	0,12

SAT = Standardabweichung

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall wird SAT als 0 angezeigt.

Vollblut

Zur Beurteilung der Präzision wurde ein Panel mit 6 Proben durch Verdünnen CMV-positiver klinischer Patientenproben oder Versetzen mit kultiviertem CMV in CMV-negativem Vollblut erstellt. Das Panel wurde von drei Anwendern mit drei Reagenzchargen auf drei Panther Systemen in einem Zeitraum von mindestens 20 Tagen getestet. Jeder Anwender führte zwei Durchläufe pro Tag durch und jede Panelprobe wurde in jedem Durchlauf doppelt getestet.

Tabelle 17 zeigt die Präzision der Assay-Ergebnisse (in \log_{10} IU/ml) zwischen Geräten, Anwendern, Chargen, Durchläufen, Tagen, innerhalb von Durchläufen und gesamt. Die Gesamtvariabilität war hauptsächlich durch die Variabilität zwischen den Durchläufen bestimmt (d. h. durch Zufallsfehler).

Tabelle 17: Präzision des Aptima CMV Quant Assays in Vollblut

N	Mittlere Konzentration (log ₁₀ IU/ml)	Zwischen Lot (Charge) SAT	Zwischen Geräten SAT	Vergleich Anwender SAT	Zwischen Tagen SAT	Zwischen Durchläufen SAT	Innerhalb von Durchläufen SAT	Gesamt SAT
108	2,78	0,00	0,01	0,05	0,00	0,08	0,14	0,17
108	3,38	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,13	0,14
108	3,95	0,06	0,00	0,07	0,05	0,05	0,13	0,18
108	4,76	0,03	0,01	0,08	0,00	0,07	0,12	0,16
108	5,64	0,01	0,00	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13
108	6,74	0,03	0,00	0,05	0,00	0,04	0,09	0,12

SAT = Standardabweichung

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall wird SAT als 0 angezeigt.

Mögliche Störsubstanzen

Es wurde die Anfälligkeit des Aptima CMV Quant Assays für Störungen durch erhöhte Spiegel endogener Stoffe, Antikoagulanzen und Wirkstoffen, die Transplantationspatienten üblicherweise verordnet werden, evaluiert. Die Testkonzentrationen für jede der interferierenden Substanzen ergab sich aus den verfügbaren Literaturhinweisen und der Orientierungshilfe durch CLSI EP07¹⁸ und EP37.¹⁹ Es wurden CMV-negative Plasmaproben und mit CMV versetzte Proben mit Konzentrationen von 2,22 log₁₀ IE/ml und 3,30 log₁₀ IE/ml getestet. CMV-negative Vollblutproben und mit CMV versetzte Proben mit CMV-DNA-Konzentrationen von 2,72 und 4,00 log₁₀ IE/ml wurden auf Hämoglobin getestet.

Bei Vorliegen von Albumin (60 mg/ml), Hämoglobin (10 mg/ml), Triglyzeriden (15 mg/ml), unkonjugiertem Bilirubin (0,4 mg/ml) oder humangenomischer DNA (2 µg/ml) fand sich keine Interferenz der Assay-Leistung. Bei Vorliegen von 100 mg/ml Hämoglobin, das mit Vollblutproben versetzt wurde, fand sich keine Interferenz der Assay-Leistung in Vollblutproben.

Klinische Plasmaproben von Patienten mit erhöhten Konzentrationen definierter Stoffe oder von Patienten mit den in Tabelle 18 gelisteten Krankheiten wurden mit dem Aptima CMV Quant Assay getestet. Es wurde keine Interferenz der Assay-Leistung beobachtet.

Tabelle 18: Getestete Typen klinischer Patientenproben

Typen klinischer Patientenproben	Anzahl der getesteten klinischen Patientenproben
1 Antinukleäre Antikörper (ANA)	10
2 Systemischer Lupus erythematoses (SLE)	10
3 Rheumatoide Arthritis (RA)	10

Bei Vorhandensein der in Tabelle 19 gelisteten exogenen Stoffe in Konzentrationen vom mindestens Dreifachen der C_{\max} von Medikamenten in Humanplasma fand sich keine Interferenz der Assay-Leistung.

Tabelle 19: Exogene Stoffe

Pool von exogenen Stoffen	Getestete exogene Stoffe
1	Cefotetan, clavulanate Kalium, Ticarcillin disodium, Vancomycin
2	Piperacillin
3	Sulfamethoxazol
4	Tazobactam-Natrium, Trimethoprim, Fluconazol
5	Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir, Foscarnet, Valacyclovir, Acyclovir, Letermovir
6	Azathioprin, Cyclosporin, Mycophenolat-Mofetil, Mycophenolsäure
7	Sirolimus, Tacrolimus, Prednison, Everolimus
8	Natriumcitrat, EDTA, Heparin

Spezifität

Die Spezifität wurde durch Testung von 780 gefrorenen, CMV-negativen klinischen Patientenproben ermittelt. Die Spezifität wurde als Prozentsatz von CMV-negativen Proben berechnet, wobei die Ergebnisse „Nicht nachgewiesen“ der Gesamtzahl der für jeden Probenotyp getesteten Proben gegenübergestellt wurde.

CMV-DNA wurde nicht nachgewiesen in 389 Proben für Plasma sowie in 390 Proben für Vollblut. Die Spezifität lag bei 99,7 % (389/390, 95 % KI: 98,6 -100 %) für Plasma und 100 % (390/390, 95 % KI: 99,3 - 100 %). Die kombinierte Spezifität des Aptima CMV Quant Assays für Plasma und Vollblut betrug 99,9 % (779/780, 95 % KI: 99,3-100%).

Tabelle 20: Spezifität in Plasma- und Vollblutproben

	Plasma	Vollblut	Plasma und Vollblut
Gültige Replikate (n)	390	390	780
Nicht nachgewiesen	389	390	779
Spezifität	99,7 %	100 %	99,9%
(95 % KI)	(98,6-100)	(99,3-100)	(99,3-100)

KI=Konfidenzintervall

Analytische Spezifität

Die potenzielle Kreuzreaktivität auf die in Tabelle 21 gelisteten Pathogene wurde in CMV-negativen Humanplasma-Proben bei Vorliegen oder Abwesenheit von CMV mit $2,2 \log_{10}$ IU/mL und $3,3 \log_{10}$ IU/mL beurteilt. Außerdem wurden drei in Vollblutproben gefundene Blutparasiten in CMV-negativem Vollblut bei Vorliegen oder Abwesenheit von CMV mit $2,7 \log_{10}$ IU/mL und $4,0 \log_{10}$ IU/mL beurteilt. Die Pathogene wurden mit der höchsten verfügbaren Konzentration getestet. Es wurde keine Kreuzreaktivität oder Interferenz beobachtet.

Tabelle 21: Zur Ermittlung der Analysespezifität getestete Erreger

Mikroorganismus/Pathogen	Konzentration		Mikroorganismus/Pathogen	Konzentration	
Adenovirus Typ 4	1.886	TCID50/ml ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	1.000.000	KBE/ml
BK Polyomavirus	1.000.000	cp/ml ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i>	1.000.000	KBE/ml
Epstein-Barr-Virus	1.000.000	cp/ml	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1.000.000	KBE/ml
Hepatitis-B-Virus	1.000.000	IU/ml ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	KBE/ml
Hepatitis-C-Virus	1.000.000	cp/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	KBE/ml
Herpes-Simplex-Virus Typ 1	1.428.571	TCID50/ml	<i>Salmonella enterica</i> Serovar Typhimurium	1.000.000	KBE/ml
Herpes-Simplex-Virus Typ 2	147.143	TCID50/ml	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	KBE/ml
HIV-1-Subtyp B	1.000.000	cp/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	KBE/ml
Humanes Herpesvirus 6A	1.000.000	cp/ml	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1.000.000	KBE/ml
Humanes Herpesvirus 7	1.428.571	TCID50/ml	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	KBE/ml
Humanes Herpesvirus 8	1.000.000	cp/ml	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.000.000	KBE/ml
Humanes Metapneumovirus	192.857	TCID50/ml	<i>Aspergillus niger</i>	485.000	KBE/ml
Humanes Papillomvirus Typ 18	1.000.000	cp/ml	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	KBE/ml
Humanes Parainfluenzavirus	944	TCID50/ml	<i>Cryptococcus neoformans</i>	1.000.000	KBE/ml
Influenzavirus	3.857	TCID50/ml	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	Zellen/ml
Rhinovirus	7.257	TCID50/ml	<i>Leishmania major</i>	1.000.000	Zellen/ml
Varicella-Zoster-Virus	1.000.000	cp/ml	<i>Babesia microti</i> *	1.000.000	Zellen/ml
Zika-Virus	29.286	TCID50/ml	<i>Plasmodium falciparum</i>	1.000.000	Zellen/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	KBE/ml ^d			
<i>Clostridium perfringens</i>	1.000.000	KBE/ml			
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	KBE/ml			
<i>Enterococcus faecalis</i>	1.000.000	KBE/ml			
<i>Escherichia coli</i>	1.000.000	KBE/ml			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1.000.000	KBE/ml			
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.000.000	KBE/ml			

^aTCID50/ml = Gewebekultur-Infektionsdosis - Einheiten pro ml

^bcp/ml = Viruskopien pro ml

^cIE/ml = Internationale Einheiten pro ml

^dKBE/ml = Kolonie-bildende Einheiten pro ml

*mit Vollblutproben getestet

Plasma-Probenverdünnung mit Aptima CMV Negativkontrolle (1:3)

Um die Genauigkeit der CMV-DNA-Quantifizierung in Plasmaproben, die mit Aptima CMV Negativkontrolle verdünnt wurden, zu beurteilen, wurden die Proben mit über den linearen Bereich verteilten Konzentrationen im Verhältnis 1:3 mit Aptima CMV Negativkontrolle verdünnt (240 µl Probe mit 480 µl Aptima CMV Negativkontrolle). Es wurden jeweils drei Exemplare der unverdünnten und verdünnten Patientenproben getestet. Die Tests wurden mit einer Charge Reagenzien und zwei Chargen der Aptima CMV Negativkontrolle auf einem Panther System durchgeführt. Der Unterschied zwischen den Testergebnissen für die unverdünnten und verdünnten Proben wurde für jeden Probensatz berechnet (siehe Abbildung Tabelle 22). Unter Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors wurden die Probenkonzentrationen in den verdünnten Proben genau wiedergefunden.

Tabelle 22: Wiederholbarkeit von in Negativkontrolle verdünnten klinischen Plasmaproben

Unverdünnte Plasmaproben Mittlere ausgewiesene Konzentration (log ₁₀ IE/ml) N = 3	Verdünnte Plasmaprobe Mittlere ausgewiesene Konzentration (log ₁₀ IE/ml) N = 6	Differenz (log ₁₀ IE/ml)
2,30	2,42 ^a	0,12
2,50	2,60	0,11
3,03	3,02	-0,01
3,46	3,45	-0,01
3,29	3,29	0,00
4,64	4,43	-0,21
5,32	5,31	-0,01
6,43	6,44	0,01
6,91 ^b	6,95	0,05
> ULoQ ^c	7,41 ^d	n. z.

^aErgebnis aus zwei Replikaten. Vier Ergebnisse wurden „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert.

^bErgebnis aus zwei Replikaten. Ein Ergebnis wurde „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert, da es > ULoQ war.

^cDrei Ergebnisse wurden „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert, da sie > ULoQ waren.

^dErgebnis aus vier Replikaten. Zwei Ergebnisse wurden „Nachgewiesen“, aber nicht quantifiziert, da sie > ULoQ waren.

Bestätigung der LoD und LLoQ mittels des in Aptima CMV Negativkontrolle verdünnten 1. internationalen CMV-Standards der WHO

Die LoD und LLoQ des Aptima CMV Quant Assay wurde mit dem 1. internationalen CMV-Standard der WHO (NIBSC Code 09/162) in Plasma, das mit Aptima CMV Negativkontrolle im Verhältnis 1:3 verdünnt wurde, bestätigt. Die Proben wurden in CMV-negativem Humanplasma mit CMV-Konzentrationen von 90, 105, 120, 135, 150 und 165 IE/ml angesetzt. Jedes Panel wurde direkt vor dem Test im Verhältnis 1:3 mit Aptima CMV Negativkontrolle verdünnt, um Endkonzentrationen von etwa 30, 35, 40, 45, 50 und 55 IE/ml zu erhalten. Insgesamt wurden an drei Tagen 60 Replikate jeder Panelprobe mit einer Reagenziencharge getestet. Der Gesamtfehler wurde mit Hilfe des Westgard-Modells geschätzt: Gesamtfehler (TE) = |Bias| + 2 SD. Alle Proben mit einer Konzentration ≥ 45 IE/ml wiesen eine Detektion ≥ 95 % und einen Gesamtfehler (TE) von $\leq 1 \log_{10}$ IE/ml auf (siehe Tabelle 23). Dies bestätigt die LLoQ für CMV mit Proben, die mit Negativkontrolle verdünnt wurden.

Tabelle 23: LoD und LLoQ von mit Negativkontrolle im Verhältnis 1:3 verdünnten Plasmaproben

N	% Nachgewiesen	Zielkonzentration nach 1:3 Verdünnung (IE/ml)	Zielkonzentration nach 1:3 Verdünnung (\log_{10} IE/ml)	Aptima CMV Quant für verdünnte Proben (\log_{10} IE/ml)	SD (\log_{10} IE/ml)	[Bias] (\log_{10} IE/ml)	Berechneter TE (\log_{10} IE/ml)
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

Verschleppung

Die Verschleppungskontamination wurde mit Plasma als einem Probentyp unter Verwendung anderer Viruslast-Assays (Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, Aptima HCV Quant Assay, Aptima HBV Quant Assay) für das Panther System beurteilt. In früheren Testungen wurde keine Verschleppungskontamination beobachtet. Um nachzuweisen, dass das Panther System das Risiko falsch positiver Ergebnisse infolge einer Verschleppungskontamination beim Vollblutprobentyp auf ein Mindestmaß beschränkt, wurde eine Studie mit gespikten Panels auf drei Panther Systemen durchgeführt. Die Beurteilung der Verschleppung erfolgte anhand von hochtitrigen, mit CMV-DNA versetzten Vollblutproben ($6 \log_{10}$ IU/ml), die im Schachbrettmuster zwischen CMV-negativen Proben verteilt waren. Zur Testung wurden 12 Durchläufe durchgeführt. Die Gesamtverschleppungsrate betrug 0,24 % (1/423).

Methodenkorrelation

Diese Studie wurde gemäß CLSI EP09c entworfen.¹⁹

Plasma-Methodenkorrelation

Die Leistung des Aptima CMV Quant Assays wurde im Vergleich zum CMV-Vergleichsassay beurteilt durch Testung von unverdünnten klinischen Patientenproben von CMV-positiven Patienten sowie von künstlichen, aus verschiedenen Stämmen des kultivierten Virus hergestellten Patientenproben, die zu allen vier Genotypen gehören und mit negativem EDTA-Plasma von Einzelspendern versetzt wurden. Für die in Abbildung 13 dargestellte Deming-Regression wurden insgesamt 160 klinische Patientenproben und 115 künstliche Proben innerhalb des linearen Bereichs verwendet, der beiden Assays gemeinsam war.

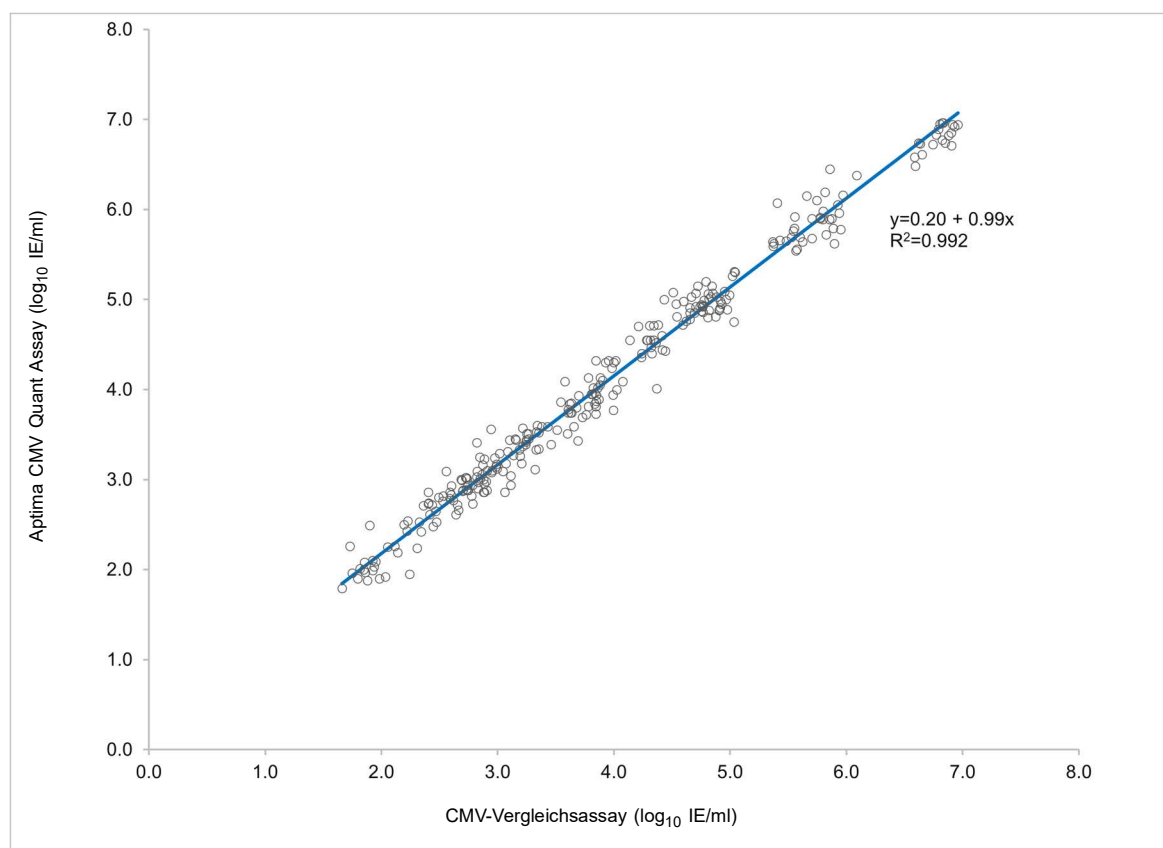


Abbildung 13. Korrelation zwischen der CMV-Viruslast im Aptima CMV Quant Assay und im CMV-Vergleichsassay für die Testung von Plasmaproben

Vollblut-Methodenkorrelation

Die Leistung des Aptima CMV Quant Assays wurde im Vergleich zum CMV-Vergleichsassay durch Testung von unverdünnten klinischen Patientenproben von CMV-positiven Patienten sowie von künstlichen, aus kultiviertem Virus hergestellten Patientenproben beurteilt, die mit negativem EDTA-Vollblut von Einzelspendern versetzt wurden. Für die in Abbildung 14 dargestellte Deming-Regression wurden insgesamt 159 klinische Patientenproben und 83 künstliche Proben innerhalb des linearen Bereichs verwendet, der beiden Assays gemeinsam war.

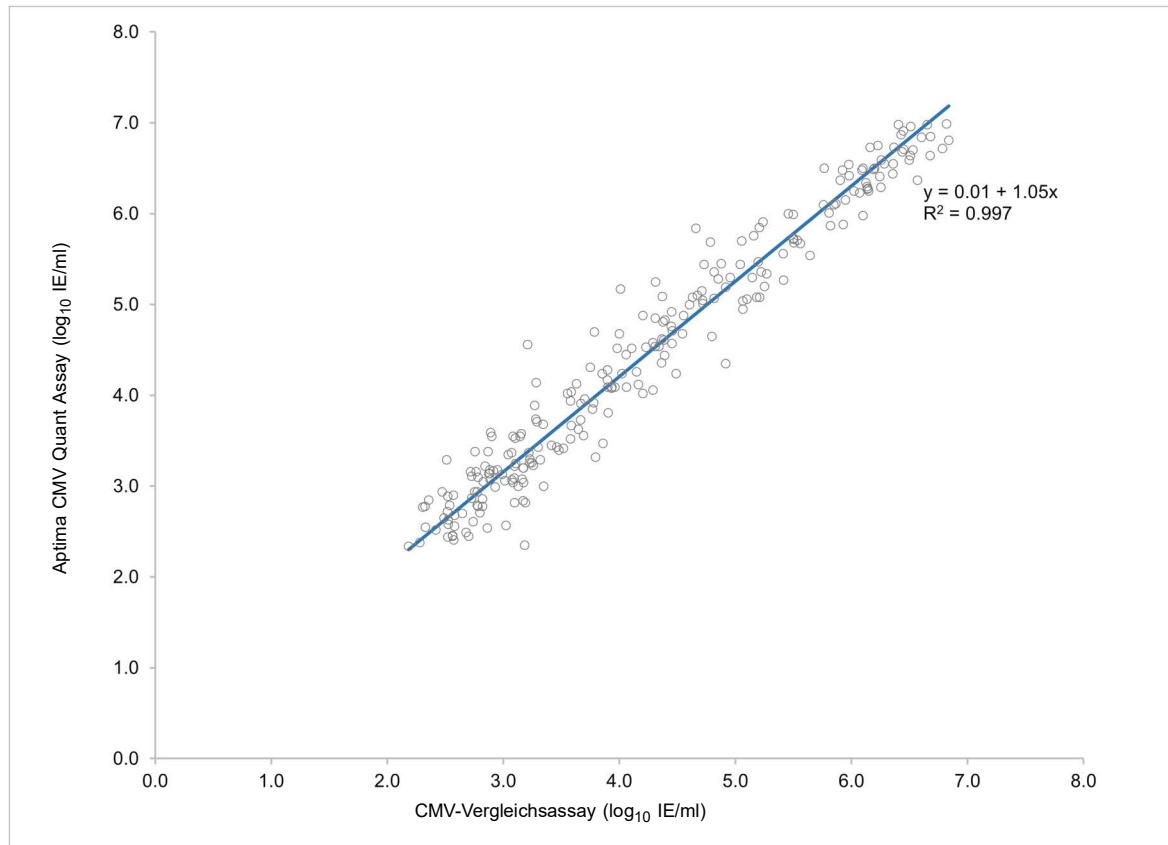


Abbildung 14. Korrelation zwischen der CMV-Viruslast im Aptima CMV Quant Assay und im CMV-Vergleichsassay für die Testung von Vollblutproben

Reproduzierbarkeit

Reproduzierbarkeit in Plasmaproben

Die Reproduzierbarkeit des Aptima CMV Quant Assays in Plasma wurde an drei externen Standorten beurteilt. Zwei Anwender führten den Test an jedem Standort durch. Jeder Anwender führte im Rahmen des Tests 5 Tage lang einen Lauf pro Tag mit einer Reagenzcharge durch. Für jeden Durchlauf gab es drei Replikate jeder Panelprobe.

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Panelproben getestet, die durch das Verdünnen CMV-positiver klinischer Patientenproben oder von kultiviertem CMV in CMV-negatives EDTA-Plasma vorbereitet wurden. Die CMV-DNA-Konzentrationen erstreckten sich über den linearen Bereich des Assays.

Tabelle 24 zeigt die Reproduzierbarkeit und Präzision der Assayergebnisse für jede positive Panelprobe zwischen Standorten, zwischen Anwendern, zwischen Tagen, zwischen Durchläufen, innerhalb von Durchläufen und insgesamt. Der Variationskoeffizient wurde mithilfe der folgenden Gleichung berechnet, bei der σ^2 die Probenvarianz der Daten nach der \log_{10} -Transformation ist.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1}$$

Tabelle 24: Reproduzierbarkeit der CMV-DNA-Ebene des Aptima CMV Quant Assays auf dem Panther System bei positiven Panelproben in Plasma

N	Beobachteter Mittelwert		Beitrag zur Gesamtabweichung SAT (%VK ²)					Gesamtabweichung SAT
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Zwischen Standorten	Zwischen Anwender	Zwischen Tage	Zwischen Läufen	Innerhalb des Läufen	
90	198,33	2,26	0,05 (11,19)	0,00 (0)	0,06 (12,94)	0,00 (0)	0,17 (39,59)	0,18 (43,68)
90	603,27	2,76	0,02 (3,99)	<0,01 (2,22)	0,07 (15,68)	0,04 (10,25)	0,12 (27,04)	0,14 (33,67)
90	2428,54	3,36	0,06 (12,83)	0,00 (0)	0,09 (21,42)	0,06 (12,83)	0,11 (24,69)	0,16 (38,27)
90	27623,02	4,42	0,07 (15,98)	0,00 (0)	0,04 (9,29)	0,06 (13,85)	0,08 (19,38)	0,13 (30,63)
90	284107,74	5,44	0,07 (15,58)	0,00 (0)	0,04 (10,22)	0,00 (0)	0,09 (21,66)	0,12 (28,90)
90	3821364,62	6,57	0,08 (19,12)	0,00 (0)	0,06 (14,22)	0,02 (4,02)	0,08 (17,45)	0,13 (30,25)

%VK=log-normaler Variationskoeffizient, SAT=Standardabweichung (log₁₀ IU/ml)

Hinweis: Variabilität von einigen Faktoren kann möglicherweise zahlenmäßig negativ sein. Dies kann auftreten, wenn die Variabilität aufgrund solcher Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen gelten SAT und %VK gleich 0.

Reproduzierbarkeit bei Vollblutproben

Die Reproduzierbarkeit des Aptima CMV Quant Assays in Vollblut wurde an drei externen Standorten beurteilt. Zwei Anwender führten den Test an jedem Standort durch. Jeder Anwender führte im Rahmen des Tests 5 Tage lang einen Lauf pro Tag mit einer Reagenzcharge durch. Für jeden Durchlauf gab es drei Replikate jeder Panelprobe.

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Panelproben getestet, die durch das Verdünnen CMV-positiver klinischer Patientenproben oder von kultiviertem CMV in CMV-negatives EDTA-Vollblut vorbereitet wurden. Die CMV-DNA-Konzentrationen erstreckten sich über den linearen Bereich des Assays.

Tabelle 25 zeigt die Reproduzierbarkeit und Präzision der Assayergebnisse für jede positive Panelprobe zwischen Standorten, zwischen Anwendern, zwischen Tagen, zwischen Durchläufen, innerhalb von Durchläufen und insgesamt. Davon ausgeschlossen ist eine Abweichung (0,2 %, 1/533). Der Variationskoeffizient wurde mithilfe der folgenden Gleichung berechnet, bei der σ^2 die Probenvarianz der Daten nach der Log_{10} -Transformation ist.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{10^{\sigma^2 \times \ln(10)} - 1}$$

Die Übereinstimmungswerte betragen für alle CMV-positiven und CMV-negativen Panelproben 100 %.

Tabelle 25: Reproduzierbarkeit der CMV-DNA-Ebene des Aptima CMV Quant Assays auf dem Panther System bei positiven Panelproben in Plasma

N	Beobachteter Mittelwert		Beitrag zur Gesamtabweichung SAT (%VK ²)					Gesamtabweichung SAT (%VK)
	IU/ml	Log ₁₀ IU/ml	Zwischen Standorten	Zwischen Anwender	Zwischen Tage	Zwischen Läufen	Innerhalb des Läufen	
89	604,32	2,73	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,11 (25,39)	0,18 (43,23)	0,21 (51,32)
89	2188,59	3,32	<0,01 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,07 (15,25)	0,11 (25,34)	0,13 (29,83) ^a
89	7830,84	3,87	0,04 (8,75)	0,04 (8,16)	0,00 (0)	0,08 (17,71)	0,13 (30,28)	0,16 (37,70)
88	48897,12	4,66	0,03 (7,11)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,10 (22,47)	0,11 (24,99)	0,15 (34,89)
88	375626,91	5,56	0,04 (9,59)	0,04 (9,96)	0,00 (0)	0,05 (12,04)	0,09 (21,18)	0,12 (28,34)
89	4609046,44	6,64	0,08 (18,15)	0,00 (0)	0,05 (11,42)	0,03 (6,32)	0,10 (22,74)	0,14 (32,39)

%VK=log-normaler Variationskoeffizient, SAT=Standardabweichung (log₁₀ IU/ml)

Hinweis: Variabilität von einigen Faktoren kann möglicherweise zahlenmäßig negativ sein. Dies kann auftreten, wenn die Variabilität aufgrund solcher Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen gelten SAT und %VK gleich 0.

^aErgebnis der Gesamtabweichung ohne die Abweichung, die das potenzielle Ergebnis eines Problems bei der Probenvorbereitung sein könnte,

Klinische Leistungsdaten

Klinische Übereinstimmung

Die klinische Leistungsstudie wurde entworfen, um die klinische Übereinstimmung zwischen dem Aptima CMV Quant Assay und einem zugelassenen Vergleichstest zu beurteilen. Während der prospektiven multizentrischen Studie an acht klinischen Prüfstellen wurden Plasma-Patientenproben von Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen (Solid Organ Transplant Recipients, SOTRs) und Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation (Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients, HSCTRs) entnommen, die im Rahmen der routinemäßigen klinischen Praxis einer CMV-Überwachung unterzogen wurden. Zusätzlich wurden gefrorene Restproben von SOTRs und HSCTRs von Lieferanten klinischer Proben bezogen.

Von den 88 in die prospektive Studie aufgenommenen Probanden waren sechs Probanden aufgrund von Ausscheiden (n = 5) oder fehlenden gültigen Ergebnissen mit dem Aptima CMV Quant Assay und dem zugelassenen Test (n = 1) nicht beurteilbar. Tabelle 26 zeigt die klinischen Merkmale der 82 beurteilbaren Probanden hinsichtlich Demografie und bei Baseline.

Tabelle 26: Klinische Merkmale der beurteilbaren Probanden hinsichtlich Demografie und bei Baseline allgemein und nach Transplantat-Typ

Charakteristika		SOTRs	HSCTRs	Alle
Gesamt, N		62	20	82
Geschlecht, n (%)	Männlich	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Weiblich	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Alter (Jahre)	Mittelwert ± (SAT)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Median	53,0	54,5	54,0
	Minimum	20	22	20
	Maximum	81	69	81
Ethnie, n (%)	Hispanisch oder lateinamerikanisch	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	Nicht hispanisch oder lateinamerikanisch	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Unbekannt	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Ethnische Herkunft, n (%)	Amerikanische Ureinwohner/Indigene Völker Alaskas	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiatisch	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Schwarz oder afroamerikanisch	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Hawaiianische Ureinwohner/Pazifische Insulaner	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Weiß	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Sonstige	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Unbekannt	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Organtyp, n (%)	Niere	25 (40,3)	--	--
	Leber	15 (24,2)	--	--
	Lunge	10 (16,1)	--	--
	Herz	12 (19,4)	--	--

Tabelle 26: Klinische Merkmale der beurteilbaren Probanden hinsichtlich Demografie und bei Baseline allgemein und nach Transplantat-Typ (*Fortsetzung*)

Charakteristika		SOTRs	HSCTRs	Alle
Stammzellentyp, n (%)	Allogen	--	18 (90,0)	--
	Autolog	--	2 (10,0)	--
CMV-Serologiestatus, n (%)	Spender positiv/Empfänger negativ	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Spender negativ/Empfänger positiv	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Spender positiv/Empfänger positiv	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
Behandlung mit antiviraler		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Tage der Behandlung mit				
	n	41	12	53
	Mean (Mittelwert)	13,6	13,3	13,5
	Median	11	9,5	11
	Minimum	1	1	1
	Maximum	47	45	47

HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, SAT= Standardabweichung, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

In der prospektiven Studie wurden den 82 beurteilbaren Probanden 365 Plasmaproben entnommen. Zusätzlich wurden 261 gefrorene Restproben von Lieferanten klinischer Proben bezogen. Von den 626 klinischen Plasmaproben (d. h. in der prospektiven Studie entnommene Proben und gefrorene Restproben kombiniert), wurden 597 gepaarte (d. h. mit einem gültigen Ergebnis mit dem Aptima CMV Quant Assay und dem zugelassenen Test) klinische Plasmaproben in die Übereinstimmungsanalysen einbezogen. Von den 597 gepaarten klinischen Proben wurden 339 Proben in der prospektiven Studie entnommen und 258 waren gefrorene Restproben. Es wurden gesonderte Übereinstimmungsanalysen mit 181 gepaarten Proben durchgeführt, die Probanden entnommen wurden, nachdem sie ihre antivirale CMV-Therapie als Teil ihrer routinemäßigen Versorgung während der prospektiven Studie begonnen hatten.

Tabelle 27 zeigt die Übereinstimmungsanalyse und die prozentuale Übereinstimmung zwischen dem Aptima CMV Quant Assay und dem zugelassenen Test bei verschiedenen Schwellenwerten (insgesamt und nach Transplantatgruppe). Die Übereinstimmungsanalyse bei verschiedenen Viruslastintervallen (insgesamt und nach Transplantatgruppe) ist in Tabelle 28 dargestellt. Vier von 597 Gesamtergebnissen wurden in mehr als der unmittelbar angrenzenden Kategorie als abweichend eingestuft. Von diesen stammten 3 von HSCTRs.

Tabelle 27: Übereinstimmungsanalyse und prozentuale Übereinstimmung bei verschiedenen Schwellenwerten (insgesamt und nach Transplantatgruppe)

Transplantation Gruppenschwellenwert	N ^a	Ergebnisse des Vergleichstests ^b und Aptima CMV Quant				PPA (%) % (n/N) [95 % KI] ^c	NPA % (n/N) [95 % KI] ^c
		Vergl. ≥ ACMV ≥	Vergl. < ACMV ≥	Vergl. < ACMV <	Vergl. ≥ ACMV <		
Gesamt							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml (137 IE/ml) ^d	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2, 99,8]	86,0 (295/343) [81,9, 89,3]
2,7 log ₁₀ IE/ml (500 IE/ml)	597	158	37	397	5	96,9 (158/163) [93,0, 98,7]	91,5 (397/434) [88,5, 93,8]
3,3 log ₁₀ IE/ml (1800 IE/ml)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2, 99,8]	96,0 (483/503) [93,9, 97,4]
3,9 log ₁₀ IE/ml (7943,3 IE/ml)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTRs							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml (137 IE/ml) ^d	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4, 99,7]	87,3 (178/204) [82,0, 91,2]
2,7 log ₁₀ IE/ml (500 IE/ml)	403	129	25	245	4	97,0 (129/133) [92,5, 98,8]	90,7 (245/270) [86,7, 93,6]
3,3 log ₁₀ IE/ml (1800 IE/ml)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2, 99,8]	95,1 (308/324) [92,1, 96,9]
3,9 log ₁₀ IE/ml (7943,3 IE/ml)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTRs							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml (137 IE/ml) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5, 100]	84,2 (117/139) [77,2, 89,3]
2,7 log ₁₀ IE/ml (500 IE/ml)	194	29	12	152	1	96,7 (29/30) [83,3, 99,4]	92,7 (152/164) [87,6, 95,8]
3,3 log ₁₀ IE/ml (1800 IE/ml)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ IE/ml (7943,3 IE/ml)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV = Aptima CMV Quant Assay, KI = Konfidenzintervall, Vergl. = Vergleichsassay, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, NPA = negative prozentuale Übereinstimmung, PPA = positive prozentuale Übereinstimmung, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen, TND = Target nicht nachgewiesen

Anmerkungen:

≥: Ergebnis ist größer oder gleich dem gegebenen Schwellenwert

<: Ergebnis ist niedriger als der gegebene Schwellenwert

Die PPA fasst Ergebnisse zusammen, die größer oder gleich dem gegebenen Schwellenwert sind; Die NPA fasst Ergebnisse zusammen, die niedriger sind als der gegebene Schwellenwert.

^a Anzahl der gepaarten klinischen Proben (Proben, die in der prospektiven Studie entnommen wurden, und gefrorene Restproben, die von Lieferanten klinischer Proben bezogen wurden, kombiniert).

^b Zugelassener Test

^c Score-KI

^d LLoQ eines alternativen zugelassenen Tests

Tabelle 28: Übereinstimmungsanalyse bei verschiedenen Viruslastintervallen (insgesamt und nach Transplantatgruppe)

Transplantatgruppe Ergebnis mit dem Aptima CMV Assay	Vergleichstest ^b Ergebnis (log ₁₀ IE/ml)						
	Gesamt ^a , N	TND	Nachgewiesen, <2,1	≥2,1 bis <2,7	≥2,7 bis <3,3	≥3,3 bis <3,9	≥ 3,9
Gesamt							
Gesamtanzahl der gepaarten Proben, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥2,1 bis <2,7 log ₁₀ IE/ml	105	0	46	54	5	0	0
≥2,7 bis <3,3 log ₁₀ IE/ml	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥3,3 bis <3,9 log ₁₀ IE/ml	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥3,9 log ₁₀ IE/ml	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTRs							
Gesamtanzahl der gepaarten Proben, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥2,1 bis <2,7 log ₁₀ IE/ml	69	0	26	39	4	0	0
≥2,7 bis <3,3 log ₁₀ IE/ml	60	0	0	25	34	1	0
≥3,3 bis <3,9 log ₁₀ IE/ml	43	0	0	0	15	28	0
≥3,9 log ₁₀ IE/ml	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTRs							
Gesamtanzahl der gepaarten Proben, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥2,1 bis <2,7 log ₁₀ IE/ml	36	0	20	15	1	0	0
≥2,7 bis <3,3 log ₁₀ IE/ml	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥3,3 bis <3,9 log ₁₀ IE/ml	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥3,9 log ₁₀ IE/ml	6	0	0	0	0	2	4

HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen, TND = Target nicht nachgewiesen

^a Anzahl der gepaarten klinischen Proben (Proben, die in der prospektiven Studie entnommen wurden, und gefrorene Restproben, die von Lieferanten klinischer Proben bezogen wurden, kombiniert).

^b Zugelassener Test

^c LLoQ eines alternativen zugelassenen Tests

^d 4 von 597 Gesamtergebnissen wurden in mehr als der unmittelbar angrenzenden Kategorie als abweichend eingestuft; 1 von 4 stammte von einem SOTR und 3 der 4 stammten von HSCTRs. Von den 2 HSCTRs, die Untersuchungen mit einem alternativen NAAT unterzogen wurden, stimmte 1 mit den Ergebnissen des Aptima CMV Quant Assays überein.

Tabelle 29 zeigt die Übereinstimmungsanalyse und prozentuale Übereinstimmung bei verschiedenen Schwellenwerten (insgesamt und nach Transplantatgruppe) für Proben, die von Probanden entnommen wurden, nachdem diese ihre antivirale CMV-Therapie als Teil ihrer routinemäßigen Versorgung in der prospektiven Studie begonnen hatten. Die Übereinstimmungsanalyse bei verschiedenen Viruslastintervallen unter Verwendung aller Zeitpunkte nach Beginn der Behandlung kombiniert (insgesamt und nach Transplantatgruppe) sind in Tabelle 30 dargestellt. Eins von den 181 Gesamtergebnissen wurde in mehr als der unmittelbar angrenzenden Kategorie als abweichend eingestuft. Dieses wurde bei einem SOTR festgestellt.

Tabelle 29: Übereinstimmungsanalyse und prozentuale Übereinstimmung bei verschiedenen Schwellenwerten unter Verwendung aller Zeitpunkte nach Beginn der Behandlung kombiniert (insgesamt und nach Transplantatgruppe)

Transplantation Gruppenschwellenwert	N ^a	Ergebnisse des Vergleichstests ^b und Aptima CMV Quant				PPA (%) % (n/N) [95 % KI] ^c	NPA % (n/N) [95 % KI] ^c
		Vergl. ≥ ACMV ≥	Vergl. < ACMV ≥	Vergl. < ACMV <	Vergl. ≥ ACMV <		
Gesamt							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml (137 IE/ml) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
2,7 log ₁₀ IE/ml (500 IE/ml)	181	42	9	129	1	97,7 (42/43) [87,9, 99,6]	93,5 (129/138) [88,1, 96,5]
3,3 log ₁₀ IE/ml (1800 IE/ml)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ IE/ml (7943,3 IE/ml)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTRs							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml (137 IE/ml) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
2,7 log ₁₀ IE/ml (500 IE/ml)	136	34	8	93	1	97,1 (34/35) [85,5, 99,5]	92,1 (93/101) [85,1, 95,9]
3,3 log ₁₀ IE/ml (1800 IE/ml)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ IE/ml (7943,3 IE/ml)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTRs							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml (137 IE/ml) ^d	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log ₁₀ IE/ml (500 IE/ml)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
3,3 log ₁₀ IE/ml (1800 IE/ml)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
3,9 log ₁₀ IE/ml (7943,3 IE/ml)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

ACMV = Aptima CMV Quant Assay, KI = Konfidenzintervall, Vergl. = Vergleichsassay, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, NPA = negative prozentuale Übereinstimmung, PPA = positive prozentuale Übereinstimmung, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen, TND = Target nicht nachgewiesen

Anmerkungen:

- ≥: Ergebnis ist größer oder gleich dem gegebenen Schwellenwert
- <: Ergebnis ist niedriger als der gegebene Schwellenwert
- Die PPA fasst Ergebnisse zusammen, die größer oder gleich dem gegebenen Schwellenwert sind; Die NPA fasst Ergebnisse zusammen, die niedriger sind als der gegebene Schwellenwert.

^a Anzahl der gepaarten Proben, die von Probanden entnommen wurden, die bei der Aufnahme eine antivirale CMV-Therapie erhielten oder während der prospektiven Studie eine antivirale CMV-Therapie begonnen hatten.

^b Zugelassener Test

^c Score-KI

^d LLoQ eines alternativen zugelassenen Tests

Tabelle 30: Die Übereinstimmungsanalyse bei verschiedenen Viruslastintervallen unter Verwendung aller Zeitpunkte nach Beginn der Behandlung kombiniert (insgesamt und nach Transplantatgruppe)

Transplantatgruppe Ergebnis mit dem Aptima CMV	Vergleichstest ^b Ergebnis (log ₁₀ IE/ml)						
	Gesamt ^a , N	TND	Nachgewiesen, <2,1	≥2,1 bis <2,7	≥2,7 bis <3,3	≥3,3 bis <3,9	≥ 3,9
Gesamt							
Gesamtanzahl der gepaarten Proben, N	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥2,1 bis <2,7 log ₁₀ IE/ml	33	0	15	17	1	0	0
≥2,7 bis <3,3 log ₁₀ IE/ml	23	0	0	9	14	0	0
≥3,3 bis <3,9 log ₁₀ IE/ml	13	0	0	0	4	9	0
≥3,9 log ₁₀ IE/ml	15	0	0	0	1 ^d	2	12
SOTRs							
Gesamtanzahl der gepaarten Proben, N	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥2,1 bis <2,7 log ₁₀ IE/ml	30	0	15	14	1	0	0
≥2,7 bis <3,3 log ₁₀ IE/ml	19	0	0	8	11	0	0
≥3,3 bis <3,9 log ₁₀ IE/ml	10	0	0	0	4	6	0
≥3,9 log ₁₀ IE/ml	13	0	0	0	1 ^d	2	10
HSCTRs							
Gesamtanzahl der gepaarten Proben, N	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Nachgewiesen, <2,1 log ₁₀ IE/ml ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥2,1 bis <2,7 log ₁₀ IE/ml	3	0	0	3	0	0	0
≥2,7 bis <3,3 log ₁₀ IE/ml	4	0	0	1	3	0	0
≥3,3 bis <3,9 log ₁₀ IE/ml	3	0	0	0	0	3	0
≥3,9 log ₁₀ IE/ml	2	0	0	0	0	0	2

HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen, TND = Target nicht nachgewiesen

^a Anzahl der gepaarten Proben, die von Probanden entnommen wurden, die bei der Aufnahme eine antivirale CMV-Therapie erhielten oder während der prospektiven Studie eine antivirale CMV-Therapie begonnen hatten.

^b Zugelassener Test

^c LLoQ eines alternativen zugelassenen Tests

^d 1 von 181 Gesamtergebnissen wurde in mehr als der unmittelbar angrenzenden Kategorie als abweichend eingestuft.

Methodenvergleich

Die Methodenvergleichsstudie wurde durchgeführt, um die Leistung des Aptima CMV Quant Assays im Vergleich zu einem zugelassenen Test zu beurteilen. Es wurden insgesamt 309 gepaarte CMV-positive klinische Proben bestehend aus 165 in der prospektiven Studie entnommenen Proben und 144 gefrorenen Restproben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays in die Methodenvergleichsanalysen einbezogen. Zusätzlich wurden insgesamt 105 künstliche Proben durch Versetzen von CMV-negativem EDTA-Plasma mit kultiviertem CMV-Virus vorbereitet, von denen 103 im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays lagen. Künstliche Proben wurden gesondert analysiert.

Tabelle 31 zeigt die Parameter-Schätzwerte der Deming-Regression (\log_{10} IE/ml). Abbildung 15 bis Abbildung 18 zeigen die Deming-Regression der Viruslast-Ergebnisse (\log_{10} IE/ml) des Aptima CMV Quant Assays und des zugelassenen Tests.

Tabelle 31: Parameter-Schätzwerte der Deming-Regression nach Probentyp und Transplantatgruppe

Probentyp	Transplanta- tgruppe	Viruslasteinheit	Parameter	N ^a	Schätzung	Jackknife-Methode ^b		Bootstrap-Methode ^c		r
						SE	95%-KI	SE	95%-KI	
Klinisch	Gesamt	\log_{10} IE/ml	Achsenabschnitt	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Steigung		1,00	0,011	(0,98, 1,03)	0,007	(0,99, 1,02)	
	SOTRs	\log_{10} IE/ml	Achsenabschnitt	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Steigung		1,01	0,012	(0,98, 1,03)	0,008	(0,99, 1,02)	
	HSCTRs	\log_{10} IE/ml	Achsenabschnitt	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Steigung		1,03	0,037	(0,96, 1,11)	0,017	(1,00, 1,07)	
Künstlich	N. zutr.	\log_{10} IE/ml	Achsenabschnitt	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Steigung		1,01	0,011	(0,98, 1,03)	0,012	(0,98, 1,03)	

KI = Konfidenzintervall, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, r = Korrelationskoeffizient, SE = Standardfehler, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

^aAnzahl der gepaarten Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays.

^bEs wird eine Unabhängigkeit zwischen allen Proben angenommen; zum Schätzen von SE und KI wurde die Jackknife-Methode angewendet.

^cKlinische Proben wurden mit der Bootstrap-Resampling-Methode mit 500 Wiederholungen um die Korrelation innerhalb der Probanden bereinigt; diese Methode wurde außerdem für künstliche Proben verwendet, jedoch ohne Stratifizierung nach Proband.

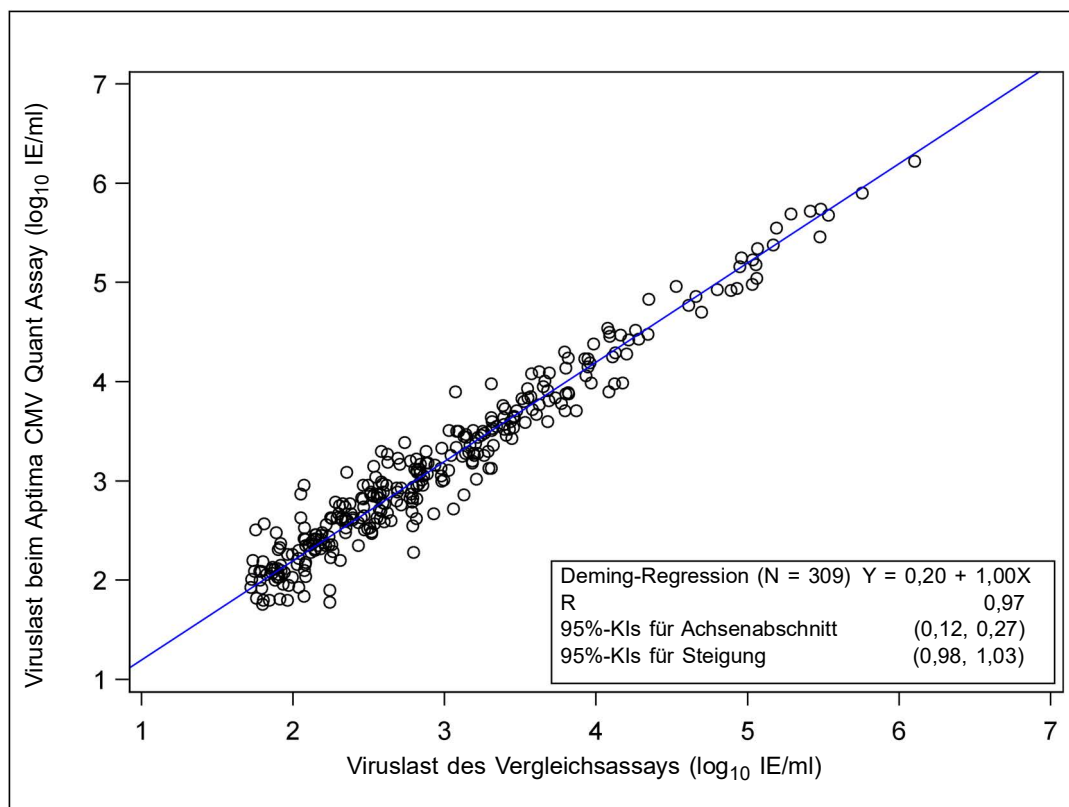


Abbildung 15. Linearer Deming-Regressionsplot (klinische Proben: SOTRs und HSCTRs kombiniert)

KI = Konfidenzintervall, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, R = Korrelationskoeffizient, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

Anmerkungen:

- Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.
- Das Deming-Regressionsmodell geht von einer Unabhängigkeit zwischen allen Proben aus; zur Schätzung der KIs wurde die Jackknife-Methode angewandt.

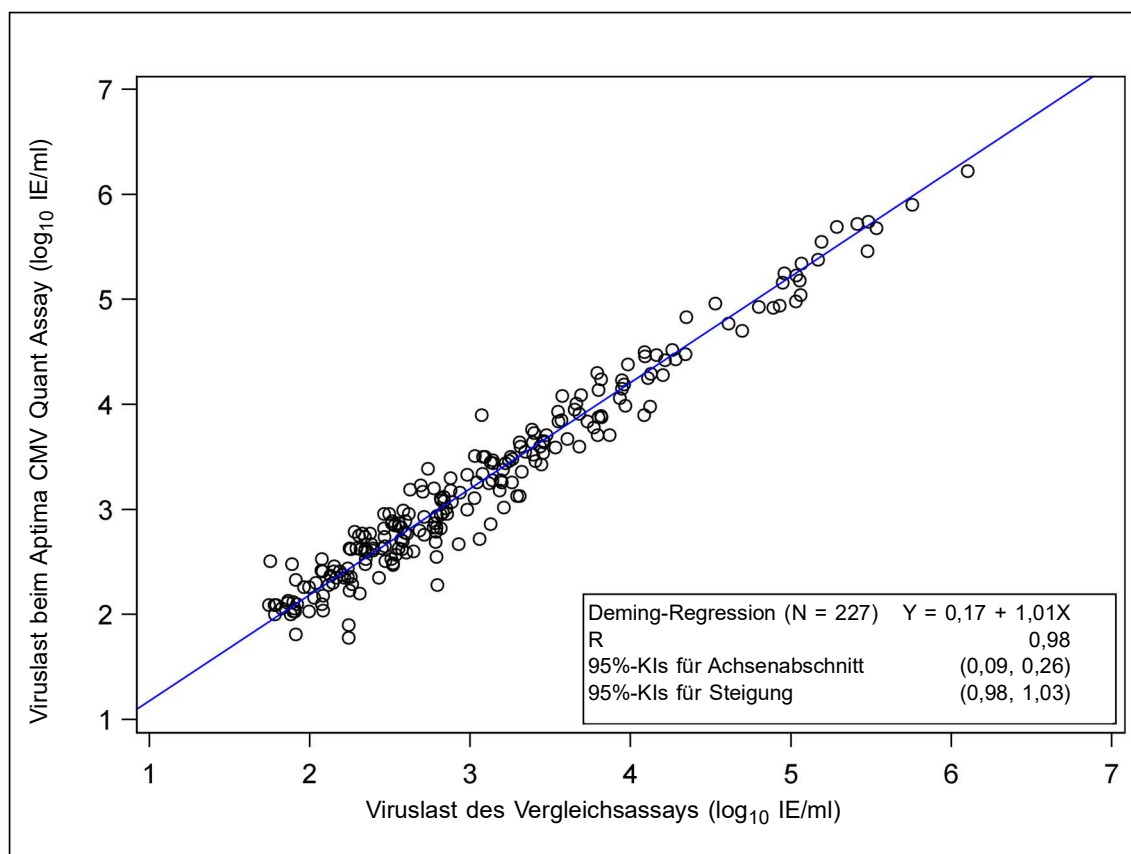


Abbildung 16. Linearer Deming-Regressionsplot für Viruslasten (klinische Proben: nur SOTRs)

KI = Konfidenzintervall, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen, R = Korrelationskoeffizient

Anmerkungen:

- Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.
- Das Deming-Regressionsmodell geht von einer Unabhängigkeit zwischen allen Proben aus; zur Schätzung der KIs wurde die Jackknife-Methode angewandt.

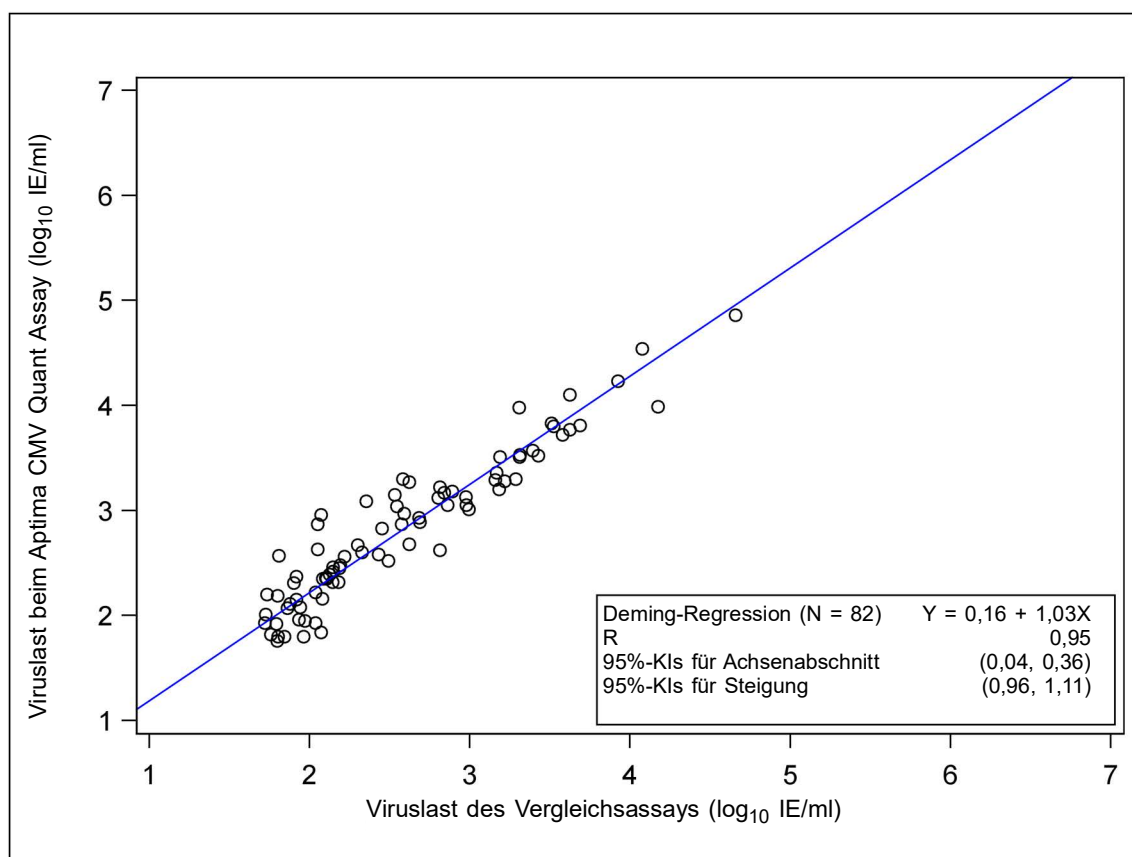


Abbildung 17. Linearer Deming-Regressionsplot für Viruslasten (klinische Proben: nur HSCTRs)

KI = Konfidenzintervall, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, R = Korrelationskoeffizient

Anmerkungen:

- Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.
- Das Deming-Regressionsmodell geht von einer Unabhängigkeit zwischen allen Proben aus; zur Schätzung der KIs wurde die Jackknife-Methode angewandt.

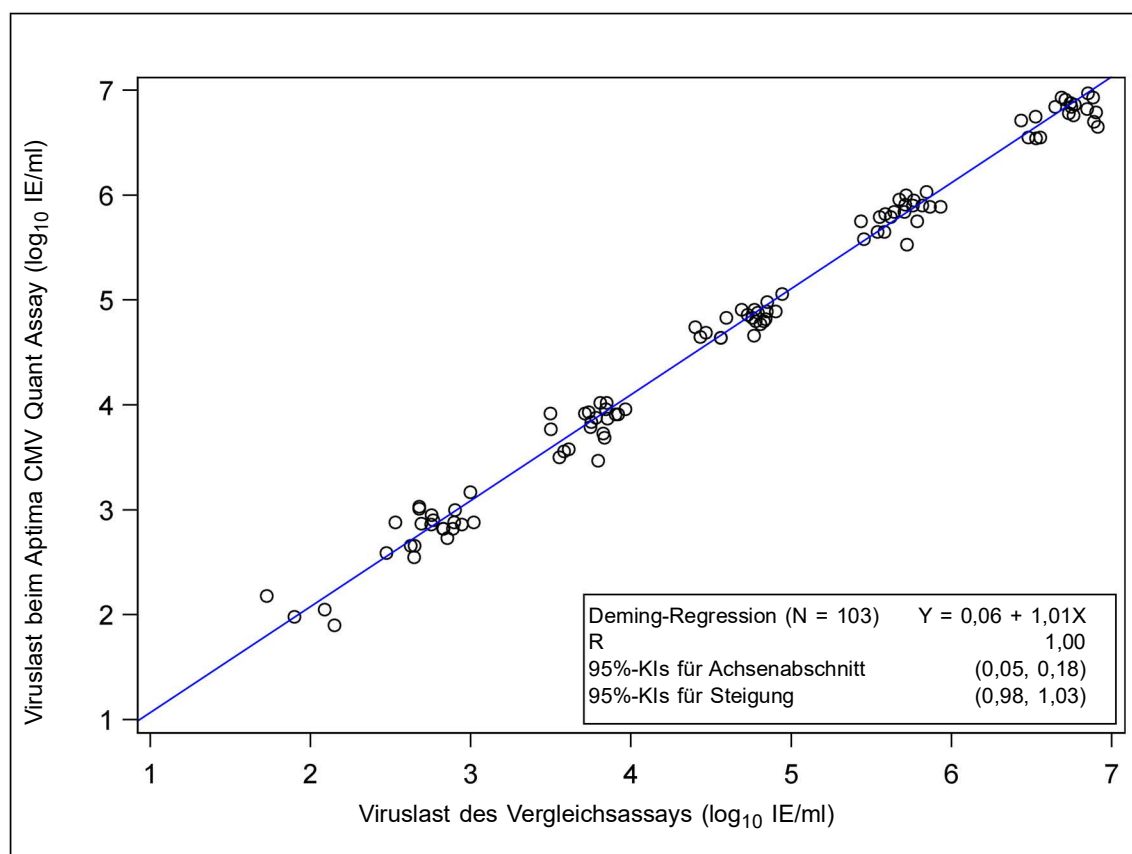


Abbildung 18. Linearer Deming-Regressionsplot für Viruslasten (Künstliche Proben)

KI = Konfidenzintervall, R = Korrelationskoeffizient

Anmerkungen:

- Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.
- Das Deming-Regressionsmodell geht von einer Unabhängigkeit zwischen allen Proben aus; zur Schätzung der KIs wurde die Jackknife-Methode angewandt.

Gepaarte Mittelwertdifferenz

Tabelle 32 unten zeigt die gepaarte Mittelwertdifferenz zwischen dem Aptima CMV Quant Assay und dem zugelassenen Test bei repräsentativen Entscheidungsintervallen.

Tabelle 32: Mittelwert der gepaarten Viruslastdifferenz bei repräsentativen Entscheidungsintervallen nach Probentyp und Transplantatgruppe

Probentyp	Transplantatgruppe	Repräsentative Entscheidungsintervalle ^a (log ₁₀ IE/ml)	Gesamtanzahl der gepaarten Proben ^b (N)	Mittelwert (SE)	95%-KI
Klinisch	Gesamt	Alle	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		≥2,1 bis <3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		≥3,0 bis <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		≥4,0 bis <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	SOTRs	Alle	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		≥2,1 bis <3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		≥3,0 bis <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		≥4,0 bis <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥ 5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	HSCTRs	Alle	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		≥2,1 bis <3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		≥3,0 bis <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		≥4,0 bis <5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥ 5,0	0	NC (NC)	NC
Künstlich	N. zutr.	Alle	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		≥2,1 bis <3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		≥3,0 bis <4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		≥4,0 bis <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥ 5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

KI = Konfidenzintervall, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, NC = nicht berechenbar (not calculable), SE = Standardfehler, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

^a Gepaarte Proben werden basierend auf dem Ergebnis des zugelassenen Tests Entscheidungsintervallen zugeteilt.

^b Anzahl der gepaarten Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays.

Abweichung bei ausgewählten Viruslastwerten

Tabelle 33 zeigt die Abweichung zwischen dem Aptima CMV Quant Assay und dem zugelassenen Test bei fünf ausgewählten Viruslastwerten von 2,1 log₁₀ IE/ml bis 7,0 log₁₀ IE/ml mit zugehörigen nicht umgewandelten Äquivalenten.

Tabelle 33: Abweichung/systematische Differenz bei ausgewählten Viruslastwerten nach Probentyp und Transplantatgruppe

Probentyp	Transplantatgruppe	Ausgewählte Viruslastwerte log ₁₀ IE/ml (IE/ml)	Systematische Differenz ^a log ₁₀ IE/ml (IE/ml)
Klinisch	Gesamt	2,1 (137)	0,20 (1797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1948,2)
		3,3 (1800)	0,21 (2489,1)
		3,9 (7943,3)	0,21 (5045,3)
		7,0 (10000000)	0,22 (4162789,2)
	SOTRs	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2402,4)
		3,3 (1800)	0,19 (2941,7)
		3,9 (7943,3)	0,19 (5490,5)
		7,0 (10000000)	0,21 (4151107,2)
	HSCTRs	2,1 (137)	0,23 (180,1)
		2,7 (500)	0,25 (430,5)
		3,3 (1800)	0,27 (1327,2)
		3,9 (7943,3)	0,29 (5564,7)
		7,0 (10000000)	0,40 (6897935,4)
Künstlich	N. zutr.	2,1 (137)	0,07 (33420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33467,9)
		3,3 (1800)	0,08 (33638,0)
		3,9 (7943,3)	0,08 (34442,0)
		7,0 (10000000)	0,10 (1342167,4)

HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

^aDie systematische Differenz ist die Differenz zwischen der Ergebnisvariable (Y) und der Viruslast (X), abgeleitet bei jedem der ausgewählten Viruslastintervalle unter Verwenden der Schätzwerte der Deming-Regression für Steigung und Achsenabschnitt.

Zulässige Gesamtdifferenz (Allowable Total Difference, ATD)

Tabelle 34 zusammen mit Abbildung 19 bis Abbildung 22 unten zeigt die ATD-Ergebnisse unter Verwendung der gepaarten Differenzen zwischen dem Aptima CMV Quant Assay und dem zugelassenen Test ggü. ihrem Durchschnitt bei repräsentativen Schwellenwerten und dem Prozentsatz der gepaarten Ergebnisse im ATD-Bereich.

Tabelle 34: Prozentsatz der gepaarten Probendifferenzen innerhalb des Bereichs der zulässigen Gesamtdifferenz (ATD) bei verschiedenen Viruslastintervallen nach Probentyp und Transplantatgruppe

Probentyp	Transplantatgruppe	Viruslastintervalle ^a (log ₁₀ IE/ml)	N ^b	Gepaarte Probendifferenzen innerhalb des ATD-Bereichs					
				n (%)	Perzentile				
					2,5 %	5 %	95 %	97,5 %	
Klinisch	Gesamt	Alle	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42	
		Niedrig (≥2,1 bis <3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44	
		Mittel (≥3,3 bis <3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38	
		Hoch (≥3,9 bis <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40	
	SOTRs	Alle	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42	
		Niedrig (≥2,1 bis <3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44	
		Mittel (≥3,3 bis <3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40	
		Hoch (≥3,9 bis <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40	
	HSCTRs	Alle	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41	
		Niedrig (≥2,1 bis <3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45	
		Mittel (≥3,3 bis <3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32	
		Hoch (≥3,9 bis <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31	
	Künstlich	N. zutr.	Alle	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
			Niedrig (≥2,1 bis <3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
			Mittel (≥3,3 bis <3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
			Hoch (≥3,9 bis <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

^a Gepaarte Proben werden basierend auf dem Ergebnis des zugelassenen Tests Entscheidungsintervallen zugeteilt.

^b Anzahl der gepaarten Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays.

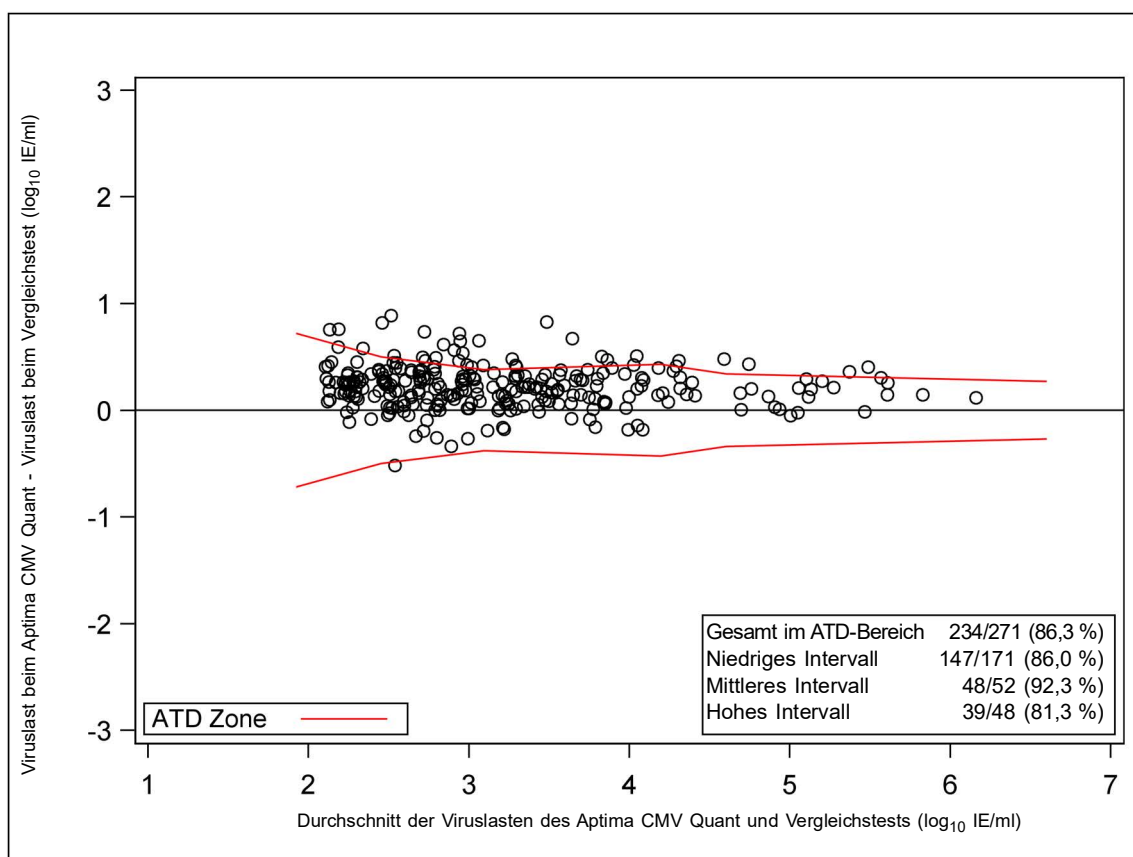


Abbildung 19. Differenzplot der gepaarten Proben und des ATD-Bereichs (Klinische Proben: SOTRs und HSCTRs kombiniert)

ATD = Zulässige Gesamtdifferenz, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

Hinweis: Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.

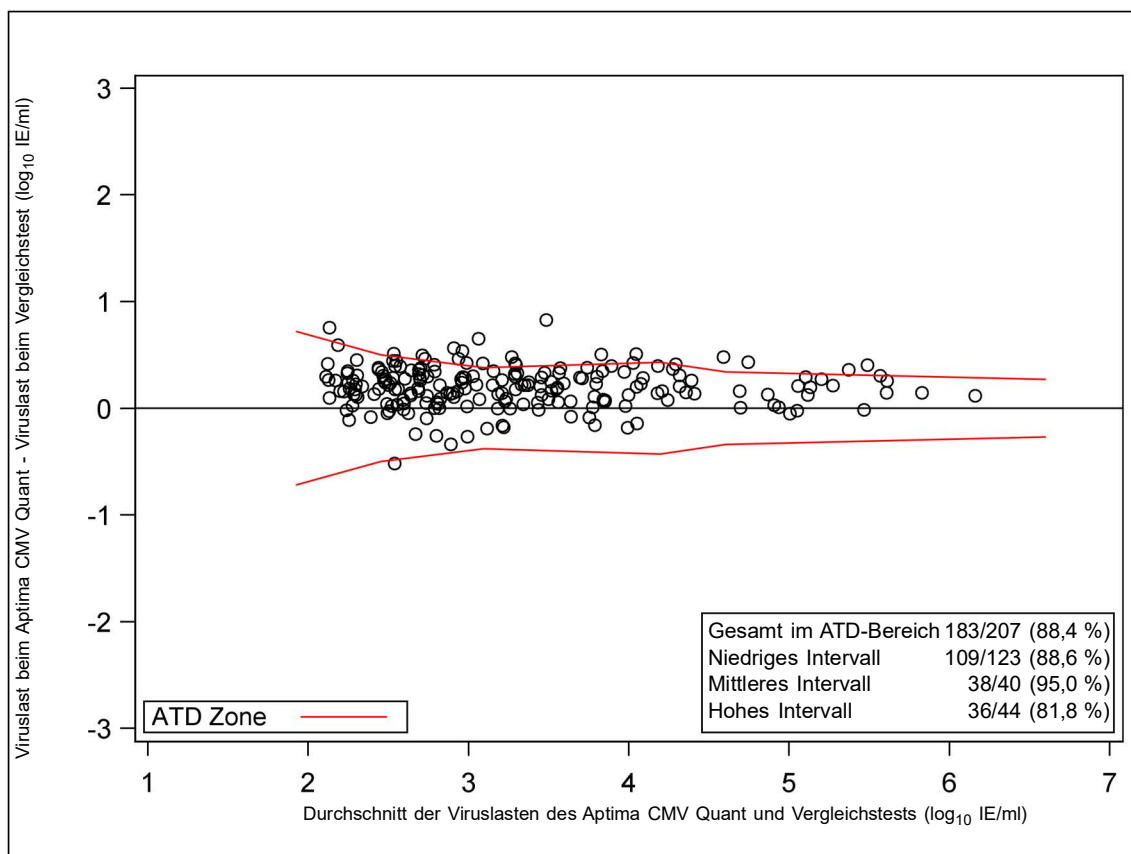


Abbildung 20. Differenzplot der gepaarten Proben und des ATD-Bereichs (Klinische Proben: nur SOTRs)

ATD = Zulässige Gesamtdifferenz, SOTRs = Patienten mit einer Transplantation von soliden Organen

Hinweis: Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.

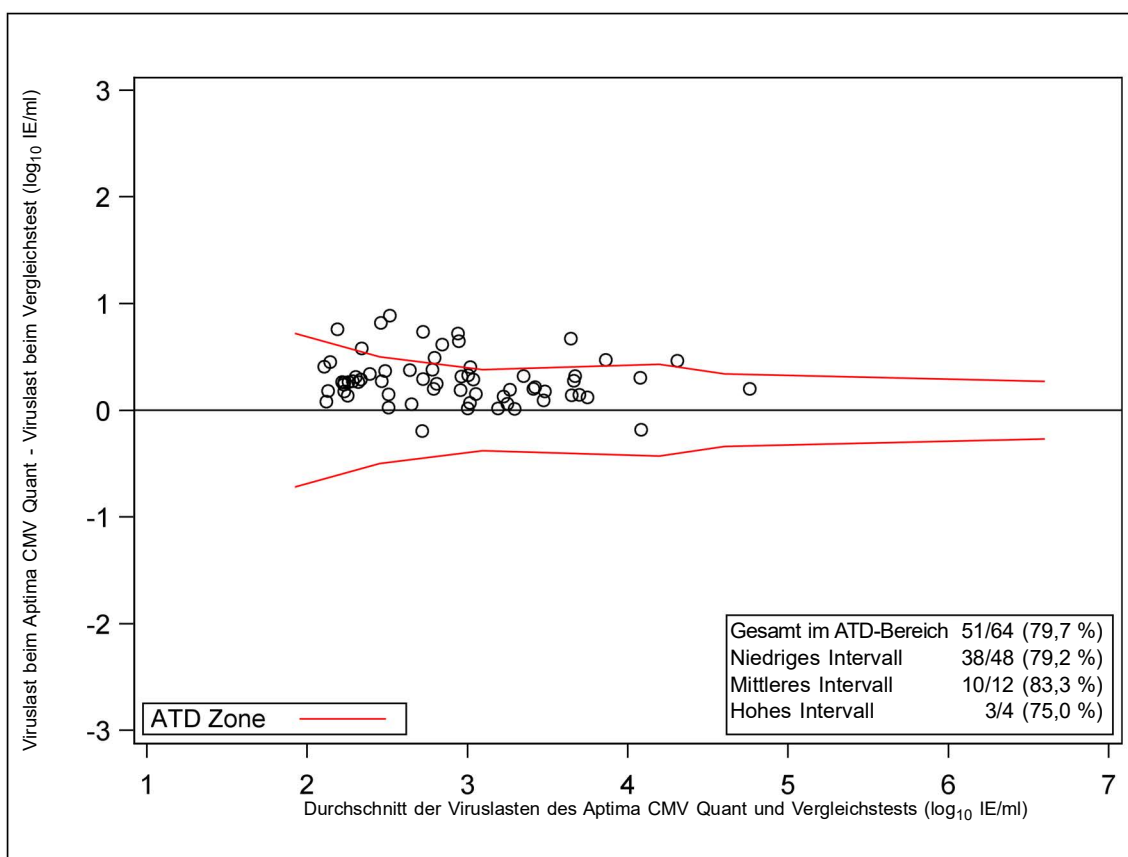


Abbildung 21. Differenzplot der gepaarten Proben und des ATD-Bereichs (Klinische Proben: nur HSCTRs)

ATD = Zulässige Gesamtdifferenz, HSCTRs = Patienten mit einer hämatopoetischen Stammzelltransplantation

Hinweis: Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.

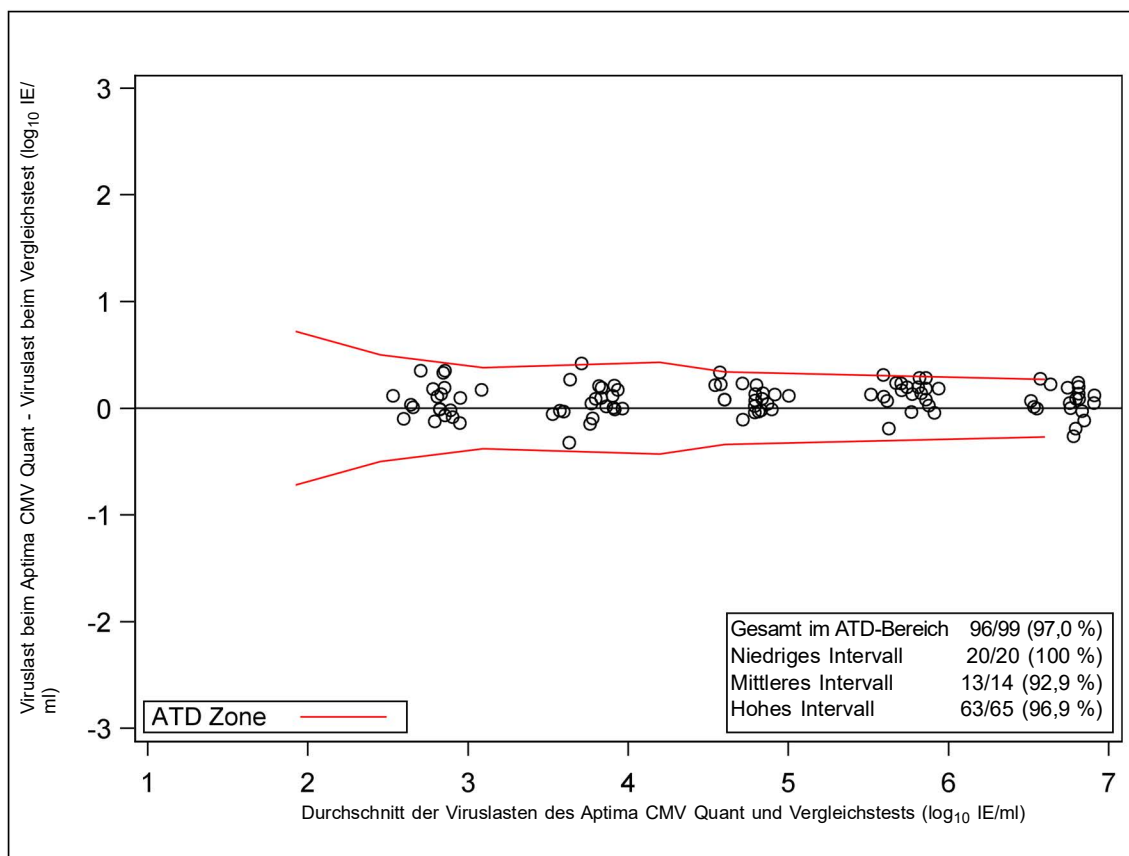


Abbildung 22. Differenzplot der gepaarten Proben und des ATD-Bereichs (Künstliche Proben)

ATD = Zulässige Gesamtdifferenz

Hinweis: Es wurden gepaarte Proben mit Ergebnissen im gemeinsamen linearen Bereich für beide Assays einbezogen.

Bibliographie

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **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(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EP05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Interference testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA
21. **1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/162),** Merlin strain

Kontaktdaten und Änderungsprotokoll



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 USA



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Die länderspezifische E-Mail-Adresse und Telefonnummer für technischen Kundendienst und Kundendienst finden Sie auf www.hologic.com/support.

Schwerwiegende Vorkommnisse im Zusammenhang mit dem Produkt in der Europäischen Union sollten dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Hologic, Aptima und Panther Fusion sind Marken und/oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten von Amerika und/oder anderen Ländern.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt ist möglicherweise durch ein oder mehrere US-amerikanische Patente geschützt (siehe www.hologic.com/patents).

© 2021-2024 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-27747-801 Rev. 002

2024-06

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-27747-Rev. 001	Juni 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Erstellt: Aptima CMV Quant Assay IFU AW-27747 Rev. 001 basierend auf AW-25509 Rev. 003 zur Einhaltung gesetzlicher Bestimmungen für IVDR. • Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung hinzugefügt. • Allgemeine Informationen aktualisiert. • Gefahreninformationen aktualisiert. • Abschnitte zur analytischen Leistung und im Lieferumfang enthaltenen Materialien aktualisiert. Tabelle, • Klinische Leistungsdaten, hinzugefügt: Klinische Übereinstimmung, Methodenvergleich, gepaarte Mittelwertdifferenz, Abweichung bei ausgewählten Viruslastwerten und zulässige Gesamtdifferenz (ATD). • Kontaktinformationen einschließlich der folgenden aktualisiert: Bevollmächtigter für die Europäische Gemeinschaft, CE-Zeichen, Details zum australischen Sponsor und Informationen zum technischen Kundendienst. • Verschiedene Aktualisierungen von Stil und Formatierung.

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-27747 Rev. 002	Juni 2024	<ul style="list-style-type: none"> • Zur Berücksichtigung des Workflows der Plasmaprobenverdünnung überarbeitet • Folgende Abschnitte wurden aktualisiert: <ul style="list-style-type: none"> • Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen • Probenentnahme und -lagerung • Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien • Testverfahren mit dem Panther System • Interpretation der Ergebnisse • Analytische Spezifität