Rx Only

cobas® CMV

Prueba cuantitativa de ácidos nucleicos para uso en los cobas® 5800/6800/8800 Systems

Para diagnóstico *in vitro*

cobas® CMV	P/N: 09040897190
Para uso en el sistema cobas® 5800	
cobas® CMV Control Kit	P/N: 09040919190
cobas® NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
Para uso en sistemas cobas® 6800/8800	
cobas® CMV Control Kit	P/N: 07001037190 o P/N: 09040919190
cobas® NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190 o P/N: 09051554190

Tabla de contenido

Uso previsto 5

Resumen y explicación de la prueba 5

Reactivos y materiales 8

Reactivos y controles de **cobas**® CMV 8

Reactivos **cobas**® **omni** para la preparación de muestras 11

Requisitos de almacenamiento y manipulación 12

Requisitos para la manipulación de reactivos en el **cobas**® 5800 System 12

Requisitos para la manipulación de reactivos en los **cobas**® 6800/8800 Systems 13

Material adicional necesario para el **cobas**® 5800 System 13

Material adicional necesario para los **cobas**® 6800/8800 Systems 14

Instrumentos y software necesarios 14

Precauciones y requisitos de manipulación 15

Advertencias y precauciones 15

Manipulación de reactivos 15

Buenas prácticas de laboratorio 16

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras 16

Muestras 16

Instrucciones de uso 18

Notas sobre el procedimiento 18

Ejecución de la prueba **cobas**® CMV en el **cobas**® 5800 System 18

Ejecución de la prueba **cobas**® CMV en los **cobas**® 6800/8800 Systems 19

Resultados 20

Control de calidad y validez de los resultados en el **cobas**® 5800 System 20

Resultados del control en el **cobas**® 5800 System 20

Control de calidad y validez de los resultados en los **cobas**® 6800/8800 Systems 20

Interpretación de los resultados 21

Interpretación de los resultados en el **cobas**® 5800 System 22

Interpretación de los resultados en los **cobas**® 6800/8800 Systems 22

Limitaciones del procedimiento 22

Evaluación no clínica del rendimiento 23

Características clave de rendimiento de los **cobas**® 6800/8800 Systems 23

Límite de detección (LoD) 23

Intervalo lineal 24

Precisión (intralaboratorio) 25

Verificación del genotipo 25

Verificación de las muestras de CMV resistentes a fármacos 26

Especificidad 27

Especificidad analítica 28

Especificidad analítica: sustancias interferentes 28

Comparación del rendimiento con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV 29

Fallo de todo el sistema 30

Contaminación por arrastre 30

Evaluación clínica del rendimiento realizada en los cobas® 6800/8800 Systems 31

Reproducibilidad clínica 31

Evaluación clínica del rendimiento: población de trasplantados con órganos sólidos (TOS) 33

Concordancia clínica de la población con trasplante órganos sólidos (TOS) 34

Concordancia en la fase inicial 34

Análisis de resolución por día 36

Concordancias globales entre diferentes niveles de carga viral 39

Comparación de métodos en la población con trasplante órganos sólidos (TOS) 43

Sesgo en los niveles de carga viral seleccionados 47

Media de la diferencia de los pares 48

Diferencia total permitida (DTP) 49

Concordancia con muestras negativas 52

Evaluación clínica del rendimiento: población de trasplantados con células madre hematopoyéticas (CMH) 53

Concordancia clínica en la población CMH 54

Comparación de métodos en la población con trasplante de células madre hematopoyéticas (CMH) 62

Conclusión 72

Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas 72

Información adicional 73

Características principales de la prueba 73

Símbolos 74

Asistencia técnica 75

Fabricante e importador 75

Marcas registradas y patentes 75

Copyright 75

Bibliografía 76

Revisión del documento 78

Uso previsto

cobas® CMV es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ADN del citomegalovirus (CMV) en plasma humano conservado en EDTA.

cobas® CMV se ha diseñado como ayuda para el diagnóstico y la gestión del CMV en pacientes trasplantados de órganos sólidos y en pacientes que han recibido trasplantes de células madre hematopoyéticas. La prueba se puede utilizar con estas poblaciones para valorar la necesidad de iniciar un tratamiento antiviral. En aquellos pacientes sometidos a terapia anti-CMV, pueden utilizarse las mediciones en serie del ADN para valorar la respuesta viral al tratamiento.

Los resultados de la prueba **cobas**® CMV deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio relevantes.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

El citomegalovirus humano (CMV) es un patógeno viral perteneciente a la familia de los virus del herpes que se encuentra de manera universal en todas las comunidades del mundo.[1, 2] En sujetos inmunocompetentes, las infecciones por el CMV suelen ser asintomáticas pero las infecciones primarias pueden presentarse como mononucleosis aguda. Una vez adquirido, el CMV persiste como infección latente de por vida que puede reactivarse de forma intermitente. Los sitios principales de infección por CMV parecen ser las células mononucleares de sangre periférica del linaje mieloide (excepto los linfocitos) y las células endoteliales.[3] El CMV permanece en fase latente en monocitos/macrófagos en humanos.[2] Los sujetos con infección latente pueden alojar el virus de forma asintomática en sus fluidos corporales (p. ej., orina, saliva) y, por lo tanto, infectar a otras personas. Los sujetos inmunocomprometidos, como los recién nacidos, los sujetos sometidos a un trasplante y los pacientes con SIDA, presentan un riesgo elevado de desarrollar infecciones primarias por CMV graves o reactivaciones del CMV latente que pueden derivar en una tasa elevada de morbilidad y mortalidad.[4] Entre las manifestaciones graves de la enfermedad producida por el CMV se incluyen la retinitis, la polirradiculopatía, la gastroenteritis, la hepatitis, la encefalitis, la esofagitis, la enterocolitis, la pancreatitis, la nefritis, el rechazo al órgano donado, la neumonitis y el síndrome vírico por el CMV.[5-7]

Los conocimientos actuales sobre los umbrales clínicamente relevantes para el desarrollo de la enfermedad por CMV provienen de una gran variedad de estudios realizados con tecnologías, poblaciones de estudio y puntos finales diferentes.[8-13] Por lo general, una carga viral superior se relaciona estrechamente con el riesgo de desarrollar la enfermedad por CMV. La relación entre la viremia y la enfermedad es sigmoidal; es decir, el riesgo de padecer la enfermedad por CMV aumenta significativamente cuando la carga viral del CMV alcanza un "umbral crítico". Por ejemplo, para un ensayo desarrollado por el laboratorio para la detección de ADN del CMV en sangre total utilizado para realizar pruebas en los pacientes trasplantados de hígado, el umbral crítico se ha establecido en ≥ 5 $\log_{10}$ copias/ml de ADN de CMV.[11] En pacientes con HIV/SIDA, los niveles de ADN de CMV están relacionados con el riesgo de enfermedad por CMV y la mortalidad global.[14-17]

Sin embargo, los métodos actuales desarrollados por los laboratorios para la cuantificación del ADN de CMV están limitados por la falta de resultados estandarizados, lo que genera un alto nivel de variabilidad entre laboratorios y ensayos.[18] Por ello, resulta fundamental validar la reproducibilidad de la carga viral del ADN de CMV para garantizar la coherencia de los resultados a fin de gestionar los pacientes con enfermedad por CMV. Las directrices actuales basadas en

la precisión de las pruebas de PCR sugieren que los cambios en las mediciones en serie de la carga viral deberían triplicarse como mínimo (0,5 $\log_{10}$) para ser considerados un cambio biológicamente importante. Dado que la variabilidad es máxima en concentraciones bajas, los cambios en la carga viral tienen que ser 5 veces mayores (0,7 $\log_{10}$) cuando los valores de título están próximos al límite de cuantificación inferior del ensayo para que sean considerados de importancia.[10]

A pesar de que el umbral viral exacto todavía sea objeto de debate debido a la variabilidad entre ensayos, el concepto de umbral crítico parece válido y se ha utilizado en estudios de historia natural para demostrar que unos valores elevados de carga viral están asociados a un mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad por el CMV.[8-12] Un estudio realizado con la prueba COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR estableció un punto de corte para la predicción de la enfermedad comprendido entre 2.000 y 5.000 copias/ml para sujetos con trasplante de hígado seropositivos para CMV.[10]

Motivos para el uso de las pruebas NAT

Los métodos de laboratorio existentes para el diagnóstico de la infección diseminada y la enfermedad visceral activa características del CMV humano son el aislamiento del virus por cultivo a partir de leucocitos de sangre periférica (LSP), la histología de biopsias, métodos serológicos, la medición de la antigenemia pp65 y la detección de ADN del CMV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).[19] La serología es el único valor que se utiliza para determinar si un paciente ha estado infectado previamente con el CMV y presenta riesgo de reactivación. Los métodos de cultivo tienen un valor predictivo escaso, requieren un tiempo de ejecución superior a 48 horas y tienen un uso limitado en pacientes inmunocomprometidos. El ensayo de la antigenemia pp65 requiere un trabajo intensivo y, para realizarlo, es necesario que la sangre se procese en el plazo de 6 horas desde la extracción, debido al descenso de antigenemia que se produce durante el almacenamiento.[20] El ensayo pp65 también resulta difícil de llevar a cabo en pacientes neutropénicos. La detección directa de ADN del CMV con métodos de PCR a tiempo real ofrece potencialmente un amplio rango dinámico y una elevada precisión y sensibilidad.

Explicación de la prueba

La prueba **cobas**® CMV es una prueba cuantitativa que se ejecuta en el **cobas**® 5800 System, el **cobas**® 6800 System y el **cobas**® 8800 System. **cobas**® CMV permite la detección y cuantificación de ADN de CMV en plasma conservado en EDTA de pacientes infectados. La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un estándar de cuantificación de ADN diferente del CMV (DNA-QS) que se añade a cada una de las muestras durante el procesamiento de las muestras. El DNA-QS también permite monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza tres controles externos: uno positivo de título alto, uno positivo de título bajo y uno negativo. Los controles externos positivo alto y positivo bajo se han preparado diluyendo material en stock con un título trazable al estándar internacional de la OMS para el CMV. Cada lote del kit de amplificación/detección se puede trazar según el estándar internacional de la OMS para el CMV.

Principios del procedimiento

La prueba **cobas**® CMV se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación y detección mediante PCR. El **cobas**® 5800 System se ha diseñado como un único instrumento integrado. Los **cobas**® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión de datos automática se realiza mediante el software **cobas**® 5800 o **cobas**® 6800/8800, que asigna los resultados de la prueba a todas las pruebas como diana no detectada, ADN del CMV detectado < LLoQ (límite de cuantificación inferior), ADN de CMV detectado > ULoQ (límite

de cuantificación superior) o un valor del intervalo lineal LLoQ < x < ULoQ. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente y de moléculas de DNA-QS de lambda añadidas se realiza simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos víricos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y potenciales inhibidores de la PCR se eliminan en los siguientes pasos con el reactivo de lavado y los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para la diana que se seleccionan de regiones altamente conservadas del gen (UL54) ADN polimerasa del CMV. La amplificación selectiva de DNA-QS se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del CMV. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias diana y de DNA-QS se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR con unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).[21-23] La enzima AmpErase, que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, destruye los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, los amplicones nuevos no se eliminan porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de **cobas**® CMV contiene una sonda de detección específica para las secuencias diana del CMV y una para DNA-QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes específicos para la diana para permitir la detección simultánea de fragmentos diana de CMV y DNA-QS en dos canales diana distintos.[24, 25] La señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación de la PCR, la hibridación de la sonda con las plantillas específicas de ADN monocatenario provoca la escisión de la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisores y silenciadores y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia generada por los marcadores emisores liberados para las dianas víricas y el DNA-QS.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® CMV

Los materiales suministrados para el ensayo **cobas**® CMV se detallan en la Tabla 1. Los materiales necesarios no proporcionados se indican de la Tabla 2 a la Tabla 4, Tabla 8 y en la Tabla 9.

Consulte los apartados **Reactivos y materiales** y **Precauciones y requisitos de manipulación** para obtener información sobre los peligros del producto.

Tabla 1 cobas® CMV
(CMV)

Almacenar a 2-8 °C
Casete para 192 pruebas (P/N 09040897190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit 192 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % de proteinasa, glicerol EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina. Puede provocar una reacción alérgica.	22,3 ml
Estándar de cuantificación de ADN (DNA-QS)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,001 % de constructo de ADN diferente de CMV con una región de unión a cebador diferente de CMV y una región exclusiva de unión a sonda (ADN no infeccioso), < 0,002 % de ARN Poli rA (sintético), < 0,1 % de azida sódica	21,2 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para CMV (CMV MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, < 18 % de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para CMV, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el estándar de cuantificación, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para CMV y el estándar de cuantificación del CMV, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido, < 0,01 % de ADN polimerasa Z05D, < 0,10 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1 % de azida sódica	9,7 ml

Tabla 2 **cobas**® CMV Control Kit

(CMV CTL)

Almacenar a 2-8 °C
Para uso en el sistema **cobas**® 5800 (P/N 09040919190)
Para uso en sistemas **cobas**® 6800/8800 (P/N 07001037001 o P/N 09040919190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control positivo bajo para CMV (CMV L(+)C)	< 0,001% de ADN de CMV sintético (plásmido) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN de CMV no detectable mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 Masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1).
Control positivo alto para CMV (CMV H(+)C)	< 0,001% de ADN de CMV sintético (plásmido) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN de CMV no detectable mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 Masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1).

* Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

** Mezcla o sustancia peligrosa.

Tabla 3 **cobas**® NHP Negative Control Kit

(NHP-NC)

Almacenar a 2-8 °C

Para uso en el sistema **cobas**® 5800 (P/N 09051554190)

Para uso en sistemas **cobas**® 6800/8800 (P/N 07002220190 y P/N 09051554190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control negativo para plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, no reactivo según pruebas autorizadas para anticuerpos del HCV, anticuerpos del HIV-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de HIV-1, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR < 0,1 % de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 Masa de reacción de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1).

* Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

** Mezcla o sustancia peligrosa.

Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos **cobas**® **omni** para la preparación de muestras

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® **omni MGP Reagent (MGP)** Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxi-benzoato, < 0,1 % de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas® **omni Specimen Diluent (SPEC DIL)** Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxi-benzoato, < 0,1 % de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
cobas® **omni Lysis Reagent (LYS)** Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	43 % (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5 % (p/v) de polidocanol**, 2 % (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.	4 × 875 ml	 **PELIGRO** H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol
cobas® **omni Wash Reagent (WASH)** Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

** Mezcla o sustancia peligrosa.

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 5, la Tabla 6 y la Tabla 7.

Cuando los reactivos no están cargados en el **cobas**® 5800 o los **cobas**® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

Tabla 5 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® CMV	2-8 °C
cobas® CMV Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas® **omni** Lysis Reagent	2-8 °C
cobas® **omni** MGP Reagent	2-8 °C
cobas® **omni** Specimen Diluent	2-8 °C
cobas® **omni** Wash Reagent	15-30 °C

Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System

Los reactivos cargados en el **cobas**® 5800 System se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. El sistema solamente permite utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 6. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. Tabla 6 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos del **cobas**® 5800 System.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos del **cobas**® 5800 System

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad
cobas® CMV	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 36 días**
cobas® CMV Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 36 días**
cobas® NHP Negative Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 36 días**
cobas® **omni** Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® **omni** MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® **omni** Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® **omni** Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable

* Reactivo de un solo uso.

** El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en el **cobas**® 5800 System.

Requisitos para la manipulación de reactivos en los cobas® 6800/8800 Systems

Los reactivos cargados en los **cobas**® 6800/8800 Systems se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. Los **cobas**® 6800/8800 Systems solamente permiten utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 7. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. Tabla 7 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos de los **cobas**® 6800/8800 Systems.

Tabla 7 Condiciones de caducidad de los reactivos de los **cobas**® 6800/8800 Systems

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® CMV	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 40 horas
cobas® CMV Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 8 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas® **omni** Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® **omni** MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® **omni** Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® **omni** Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable

* Reactivo de un solo uso.

** El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en los **cobas**® 6800/8800 Systems.

Material adicional necesario para el cobas® 5800 System

Tabla 8 Material y fungibles para el uso en el **cobas**® 5800 System

Material	P/N
cobas® **omni** Processing Plate 24	08413975001
cobas® **omni** Amplification Plate 24	08499853001
cobas® **omni** Liquid Waste Plate 24	08413983001
Punta CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Punta CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
cobas® **omni** Liquid Waste Container	07094388001
cobas® **omni** Lysis Reagent	06997538190
cobas® **omni** MGP Reagent	06997546190
cobas® **omni** Specimen Diluent	06997511190
cobas® **omni** Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos o Bolsa para residuos sólidos con complemento	07435967001 o 08030073001

Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems

Tabla 9 Materiales y fungibles para el uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas® **omni** Processing Plate	05534917001
cobas® **omni** Amplification Plate	05534941001
cobas® **omni** Pipette Tips	05534925001
cobas® **omni** Liquid Waste Container	07094388001
cobas® **omni** Lysis Reagent	06997538190
cobas® **omni** MGP Reagent	06997546190
cobas® **omni** Specimen Diluent	06997511190
cobas® **omni** Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos y recipiente de residuos sólidos o Bolsa para residuos sólidos con complemento y actualización del kit del cajón de residuos sólidos	07435967001 y 07094361001 o 08030073001 y 08387281001

Instrumentos y software necesarios

El software **cobas**® 5800 y el paquete de análisis **cobas**® CMV para el **cobas**® 5800 System deben instalarse en el instrumento **cobas**® 5800. El software Data Manager y el PC para el **cobas**® 5800 System se suministran con el sistema.

Es necesario instalar el software **cobas**® 6800/8800 y el paquete de análisis **cobas**® CMV en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

Tabla 10 Instrumentos

Equipo	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opción móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas® 6800 System (fijo)	05524245001 y 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001

Consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario del **cobas**® 5800 System o los **cobas**® 6800/8800 Systems para obtener información adicional.

Nota: póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para tubos primarios y tubos secundarios, racks de muestras, racks para puntas obstruidas y bandejas de racks compatibles con cada instrumento.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial seguir las buenas prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- No se ha evaluado el uso de la prueba **cobas**® CMV para el cribado de la presencia de CMV en sangre o productos sanguíneos.
- Todas las muestras de paciente deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados tal como se describe en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.[26, 27] Solamente el personal competente en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba **cobas**® CMV y los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems deberían llevar a cabo este procedimiento.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio o potasio al 0,6 % en agua destilada o desionizada o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- El **cobas**® CMV Control Kit y el **cobas**® NHP Negative Control Kit contienen plasma procedente de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante métodos de PCR y no muestra niveles detectables de ADN de CMV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- **No congele la sangre total ni las muestras almacenadas en tubos primarios.**
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Informe a la autoridad competente local y al fabricante de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.

- El **cobas**® **omni** Lysis Reagent contiene tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- Los kits de la prueba **cobas**® CMV, el **cobas**® **omni** MGP Reagent y el **cobas**® **omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas**® **omni** Lysis Reagent, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y de los kits **cobas**® CMV y los reactivos **cobas**® **omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio o potasio al 0,6 % en agua destilada o desionizada. A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.
- Si el derrame se produce sobre un instrumento **cobas**® 5800/6800/8800, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario o la Guía del usuario de los **cobas**® 5800 o **cobas**® 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

NOTA: manipule todas las muestras y los controles como si pudieran transmitir agentes infecciosos.

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

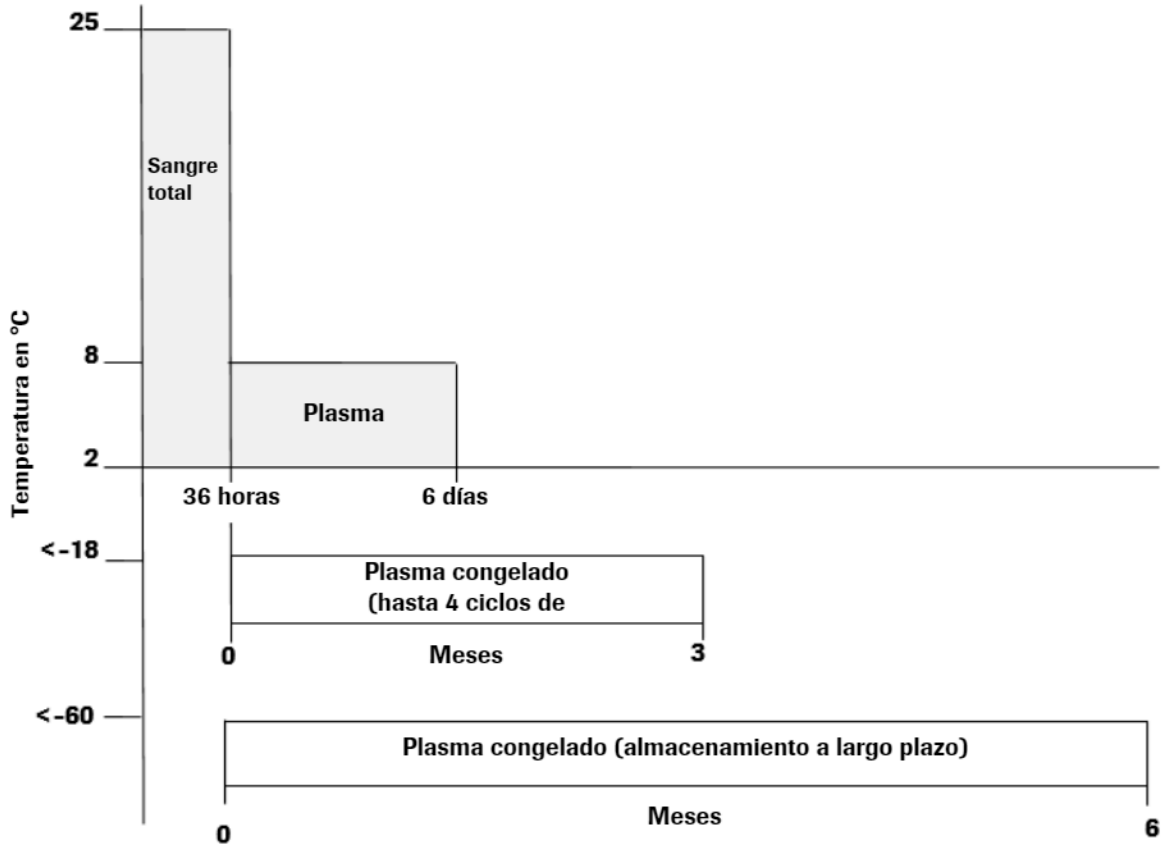
Si se utilizan muestras congeladas en tubos secundarios, deje que se descongelen a temperatura ambiente (15-30 °C) por completo y, a continuación, agítelas unos instantes (entre 3 y 5 segundos) y centrifúguelas para que todo el volumen de la muestra se deposite en la parte inferior del tubo.

Muestras

- La sangre total debería recogerse en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o en tubos estériles y utilizar EDTA como anticoagulante. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos de recogida de muestras. Consulte la Ilustración 1.

- La sangre total recogida en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o en tubos estériles con EDTA como anticoagulante pueden almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 36 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C antes de la preparación del plasma. La centrifugación debe realizarse conforme a las instrucciones del fabricante.
- Las muestras de plasma separadas de la sangre total durante las 24 horas posteriores a la obtención pueden almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 6 días a una temperatura comprendida entre 2 °C y 8 °C o un máximo de 12 semanas a −20 °C ± 2 °C. Para un almacenamiento superior a 6 meses se recomiendan temperaturas comprendidas entre −75 °C ± 15 °C.
- Las muestras de plasma se mantienen estables hasta un máximo de cuatro ciclos de congelación/descongelación si se congelan a ≤ −18 °C.
- Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

Ilustración 1 Condiciones de almacenamiento de muestras



Nota: la sangre total recogida en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o tubos estériles con EDTA como anticoagulante puede almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 36 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C antes de la preparación del plasma, pero luego el plasma separado no puede almacenarse por más tiempo sino que tiene que analizarse directamente.

Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos **cobas**® CMV, el **cobas**® CMV Control Kit, el **cobas**® NHP Negative Control Kit ni ningún reactivo **cobas**® **omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- Consulte la Asistencia al usuario o la Guía del usuario del **cobas**® 5800 System o los **cobas**® 6800/8800 Systems para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Ejecución de la prueba cobas® CMV en el cobas® 5800 System

La prueba **cobas**® CMV puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 500 µl, de los cuales se procesan 350 µl con un tubo secundario **cobas**® **omni**. El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario o la Guía del usuario del **cobas**® 5800 System. En la Ilustración 2 se resume el procedimiento.

Ilustración 2 **cobas**® Procedimiento de la prueba CMV en el **cobas**® 5800 System

1	Inicie una sesión en el sistema.
2	Cargue las muestras en el sistema. • Cargue los racks de muestras en el sistema. • El sistema se prepara automáticamente. • Solicite las pruebas.
3	Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema. • Cargue el casete de reactivo específico de la prueba. • Cargue los miniracks de control. • Cargue las puntas de procesamiento. • Cargue las puntas de elución. • Cargue las placas de procesamiento. • Cargue las placas de residuos líquidos. • Cargue las placas de amplificación. • Cargue el casete de MGP. • Cargue el diluyente de muestras. • Cargue el reactivo de lisis. • Cargue el reactivo de lavado.
4	Seleccione el botón de inicio de procesamiento en la interfaz de usuario para iniciar la serie analítica. Las series siguientes se iniciarán de forma automática si no se posponen manualmente.
5	Revise y exporte los resultados.
6	Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario. Limpie el instrumento. • Descargue los miniracks de control vacíos. • Descargue el casete de reactivo específico de la prueba vacío. • Vacíe el cajón de placas de amplificación. • Vacíe los residuos líquidos. • Vacíe los residuos sólidos.

Ejecución de la prueba cobas® CMV en los cobas® 6800/8800 Systems

La prueba **cobas**® CMV puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 500 µl, de los cuales se procesan 350 µl con un tubo secundario **cobas**® **omni**. El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario o la Guía del usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems. En la Ilustración 3 se resume el procedimiento.

Ilustración 3 Procedimiento de la prueba **cobas**® CMV en los **cobas**® 6800/8800 Systems

1	Inicie una sesión en el sistema. Pulse el botón “Iniciar” para preparar el sistema. Solicite las pruebas.
2	Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema. • Cargue el casete de reactivo específico de la prueba. • Cargue los casetes de control. • Cargue las puntas de pipeta. • Cargue las placas de procesamiento. • Cargue el reactivo MGP. • Cargue las placas de amplificación. • Cargue el diluyente de muestras. • Cargue el reactivo de lisis. • Cargue el reactivo de lavado.
3	Cargue las muestras en el sistema. • Cargue los racks de muestras y los racks para puntas obstruidas en el módulo de suministro de muestras. • Confirme que las muestras han sido aceptadas en el módulo de transferencia.
4	Inicie la serie analítica mediante el botón “Iniciar manualmente” de la interfaz de usuario o ejecute un inicio automático después de 120 minutos o cuando la serie esté llena.
5	Revise y exporte los resultados.
6	Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario. Limpie el instrumento. • Descargue los casetes de control vacíos. • Vacíe el cajón de placas de amplificación. • Vacíe los residuos líquidos. • Vacíe los residuos sólidos.

Resultados

El **cobas**® 5800 System y los **cobas**® 6800/8800 Systems determinan automáticamente la concentración de ADN del CMV en muestras y controles. La concentración de ADN del CMV se expresa en unidades internacionales por mililitro (UI/ml).

Control de calidad y validez de los resultados en el cobas® 5800 System

- Con cada serie se procesan un control negativo [(–) C] y dos controles positivos, un control positivo bajo [CMV L(+)C] y un control positivo alto [CMV H(+)C] al menos cada 72 horas o con cada lote de kit nuevo. Los controles positivos y/o negativos pueden programarse con mayor frecuencia en función de los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local.
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software del **cobas**® 5800 System como en el informe para garantizar la validez de los resultados.

El software **cobas**® 5800 invalida automáticamente los resultados cuando los controles positivos o negativos fallan.

NOTA: el **cobas**® 5800 System se suministra con la configuración estándar para el análisis de un conjunto de controles (positivo y negativo) con cada serie, pero se puede modificar por un programa menos frecuente de hasta cada 72 horas según los procedimientos de laboratorio y la reglamentación local. Póngase en contacto con su ingeniero técnico de Roche y/o con el represente del servicio técnico de Roche para obtener más información.

Resultados del control en el cobas® 5800 System

Los resultados de los controles se muestran en el software del **cobas**® 5800, en la aplicación de controles.

- Los controles se marcan como “Válido” en la columna “Resultados de control” cuando todas las dianas del control se han notificado como válidas. Los controles se marcan como “No válido” en la columna “Resultados de control” cuando todas o alguna de las dianas del control se han notificado como no válidas.
- Los controles marcados como “No válido” muestran un aviso en la columna “Aviso”. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que el control se ha notificado como no válido, además de información sobre el aviso.
- Si uno de los controles positivos no válido, repita el análisis de todos los controles positivos y de todas las muestras asociadas. Si el control negativo no es válido, repita el análisis de todos los controles y de todas las muestras asociadas.

Control de calidad y validez de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems

- Con cada serie se procesan un control negativo [(–) C] y dos controles positivos, un control positivo bajo [CMV L(+)C] y un control positivo alto [CMV H(+)C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software **cobas**® 6800/8800 como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- La serie se considera válida siempre y cuando no haya avisos para ninguno de los tres controles, es decir, el control negativo y los dos controles positivos: CMV L(+)C, CMV H(+)C. El resultado del control negativo se muestra como (–) C, mientras que los controles positivos bajo y alto se presentan como CMV L(+)C y CMV H(+)C.

El software **cobas**® 6800/8800 invalida automáticamente los resultados cuando los controles positivos y negativos fallan.

Avisos de controles en los cobas® 6800/8800 Systems

Tabla 11 Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	Aviso	Resultado	Interpretación
(–) C	Q02 (Serie de control errónea)	No válido	Un resultado inválido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	**Aviso**	**Resultado**	**Interpretación**
CMV L (+) C	Q02 (Serie de control errónea)	No válido	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.
CMV H (+) C	Q02 (Serie de control errónea)	No válido	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie, incluyendo muestras y controles.

Interpretación de los resultados

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software y/o los informes del **cobas**® 5800 System y de los **cobas**® 6800/8800 Systems. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.

Tabla 12 Resultados de la diana para la interpretación de los resultados de la diana individuales

Resultados	Interpretación
Target Not Detected	ADN del CMV no detectado. Los resultados se indican como “CMV no detectado”.
< Titer Min	El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLoQ) del ensayo. Los resultados se indican como “CMV detectado, inferior a (título mínimo)”. Título mínimo = 34,5 UI/ml
Título	El título calculado está comprendido en el intervalo lineal del ensayo: mayor o igual que el título mínimo y menor o igual que el título máximo. Los resultados se indican como “(Título) de CMV detectado”.
> Titer Max[a]	El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULoQ) del ensayo. Los resultados se indican como “CMV detectado, superior a (título máximo)”. Título máximo = 1,0E+07 UI/ml

[a] Un resultado de muestra “> Titer Max” hace referencia a las muestras positivas para CMV detectadas con títulos superiores al límite de cuantificación superior (ULoQ). Si se desea obtener un resultado cuantitativo, debe diluirse la muestra original con plasma humano negativo para CMV conservado en EDTA y repetirse la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

Interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System

Los resultados de las muestras se muestran en el software del **cobas**® 5800, en la aplicación de resultados.

En las series de control válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas**® 5800 System y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Las muestras asociadas con las series de control válidas se muestran como "Válido" en la columna "Resultados de control" cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como válidos. Las muestras asociadas con las series de control erróneas se muestran como "No válido" en la columna "Resultados de control" cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como no válidos.
- Si los controles asociados al resultado de una muestra no son válidos, se añade un aviso específico al resultado de la muestra de la siguiente manera:
    - Q05D: fallo de validación del resultado por un control positivo no válido
    - Q06D: fallo de validación del resultado por un control negativo no válido
- Los valores en la columna "Resultados" para el resultado de la diana de la muestra individual deben interpretarse como se muestra en la Tabla 12 anterior.
- Si una o más dianas de la muestra están marcadas como "No válido", el software **cobas**® 5800 muestra un aviso en la columna de avisos. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que la(s) diana(s) de la muestra se ha notificado como no válidas, además de información sobre el aviso.

Interpretación de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas**® 6800/8800 Systems y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Las muestras presentan un "Yes" en la columna "Válida" si todos los resultados de las dianas solicitadas muestran resultados válidos.
  Las muestras que presentan un "No" en la columna "Válida" pueden requerir alguna interpretación o acción adicional.
- Los valores para el resultado de la diana de la muestra individual deben interpretarse como se muestra en la Tabla 12 anterior.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® CMV se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® CMV Control Kit, el **cobas**® NHP Negative Control Kit, el **cobas**® **omni** MGP Reagent, el **cobas**® **omni** Lysis Reagent, el **cobas**® **omni** Specimen Diluent y el **cobas**® **omni** Wash Reagent en los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con muestras de plasma conservado en EDTA. La realización de la prueba **cobas**® CMV con otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos. Las mediciones de la carga viral en plasma no se pueden comparar directamente con las de otros tipos de muestras.
- La cuantificación del ADN del CMV puede verse afectada por los métodos de obtención de la muestra, otros factores propios del paciente (tales como edad, presencia de síntomas) y/o el estadio de la infección.

- Las mutaciones en las regiones altamente conservadas del gen ADN polimerasa (UL54) del CMV cubiertas por la prueba **cobas**® CMV pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar una cuantificación a la baja del virus o incluso impedir su detección. La prueba **cobas**® CMV reduce este riesgo gracias a la utilización de cebadores de amplificación redundantes.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.
- La prueba **cobas**® CMV no se ha concebido para el cribado de la presencia del CMV en sangre o productos sanguíneos ni se ha evaluado como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por CMV.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento de los cobas® 6800/8800 Systems

Límite de detección (LoD)

Estándar internacional de la OMS

El límite de detección de la prueba **cobas**® CMV se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie del 1ʳ estándar internacional de la OMS para ADN del citomegalovirus humano en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (1ʳ estándar internacional de la OMS para CMVH) obtenido de NIBSC, en plasma humano conservado en EDTA negativo al CMV. Se analizaron paneles con ocho niveles de concentración más un blanco con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

Los resultados obtenidos con el plasma conservado en EDTA se muestran en la Tabla 13. El estudio demuestra que la prueba **cobas**® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV a partir de una concentración de 23 UI/ml con una tasa de positividad ≥ 95 %.

Tabla 13 Límite de detección en plasma conservado en EDTA

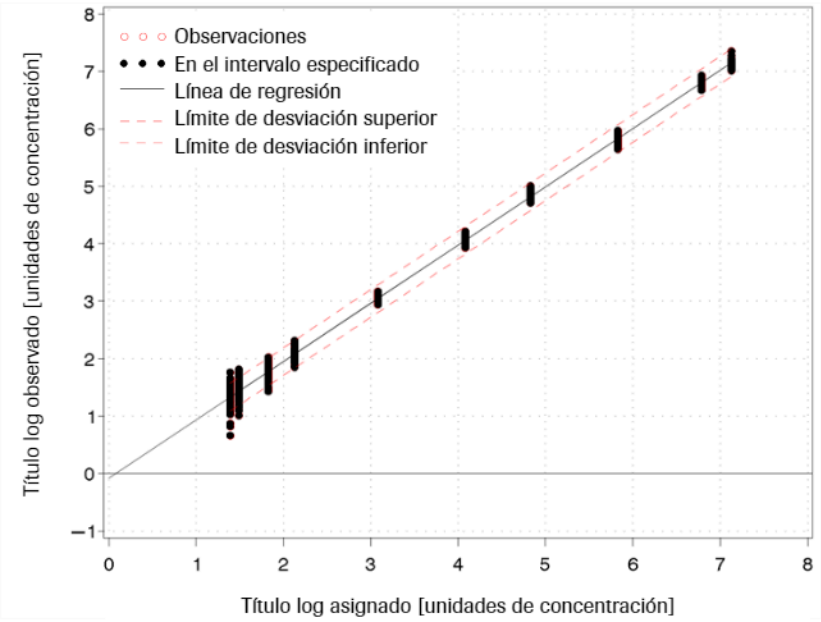
Concentración del título de entrada (ADN de CMV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	188	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95 %	20,6 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 17,9-24,3 UI/ml		

Intervalo lineal

La linealidad de la prueba **cobas**® CMV se evaluó con una serie de diluciones formadas por un panel de 10 muestras con concentraciones de ADN del genotipo gB-1 del CMV que cubren todo el intervalo lineal del ensayo (entre 2,45E+01 UI/ml y 1,34E+07 UI/ml). Se analizó cada miembro del panel en 48 réplicas con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV. Los resultados del estudio se muestran en la Ilustración 4.

La prueba **cobas**® CMV ofrece un rendimiento lineal en concentraciones comprendidas entre 2,45E+01 UI/ml y 1,34E+07 UI/ml.

Ilustración 4 Determinación del intervalo lineal para plasma conservado en EDTA



Precisión (intralaboratorio)

La precisión de la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de cultivos de virus con título alto (Merlin, genotipo gB-1) en plasma conservado en EDTA negativo para el CMV. Se analizaron diez niveles de dilución en 48 réplicas para cada nivel con los tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV en tres instrumentos diferentes y con tres operadores distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba **cobas**® CMV en los **cobas**® 6800/8800 Systems totalmente automatizados. Por lo tanto, la precisión a la que se hace referencia en este documento engloba todas las fases del procedimiento de la prueba. Los resultados se muestran en la Tabla 14.

La prueba **cobas**® CMV presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre 2,45E+01 UI/ml y 1,34+07 UI/ml.

Tabla 14 Precisión intralaboratorio de la prueba **cobas**® CMV

Concentración nominal (UI/ml)	Concentración asignada (UI/ml)	Plasma conservado en EDTA	Plasma conservado en EDTA	Plasma conservado en EDTA	Plasma conservado en EDTA
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
		SD	SD	SD	SD agrupada
2,00E+07	1,34E+07	0,03	0,06	0,02	0,04
9,11E+06	6,11E+06	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	6,71E+05	0,05	0,03	0,06	0,05
1,00E+05	6,71E+04	0,06	0,05	0,03	0,05
1,80E+04	1,21E+04	0,06	0,04	0,05	0,05
1,80E+03	1,21E+03	0,04	0,03	0,04	0,04
2,00E+02	1,34E+02	0,13	0,10	0,11	0,12
1,00E+02	6,71E+01	0,14	0,11	0,09	0,12
4,60E+01	3,09E+01	0,20	0,23	0,17	0,20
3,65E+01	2,45E+01	0,22	0,20	0,23	0,22

Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba **cobas**® CMV en los genotipos de glicoproteína B del CMV se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección para los genotipos de glicoproteína B del 2 al 4
- Verificación del intervalo lineal para los genotipos del 2 al 4

Verificación del límite de detección para los genotipos de glicoproteína B gB-2, gB-3 y gB-4

Se diluyeron sobrenadantes de cultivos celulares del CMV para tres genotipos de glicoproteína B diferentes (gB-2, gB-3 y gB-4) con tres niveles de concentración diferentes en plasma conservado en EDTA negativo para el CMV. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 63 réplicas para cada nivel. El análisis se realizó con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 15. Los resultados demuestran que la prueba **cobas**® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV para tres genotipos diferentes en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad ≥ 95 %.

Tabla 15 Verificación del límite de detección para el genotipo de ADN del CMV

Geno-tipo	17,25 UI/ml	17,25 UI/ml	17,25 UI/ml	34,5 UI/ml	34,5 UI/ml	34,5 UI/ml	51,75 UI/ml	51,75 UI/ml	51,75 UI/ml
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95 %*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95 %*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95 %*)
gB-2	63	61	96,8 (99,6 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-3	63	57	90,5 (96,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-4	63	55	87,3 (94,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Intervalo de confianza unilateral superior del 95 %

Verificación del intervalo lineal para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4

Las series de dilución utilizadas para la verificación del estudio de linealidad de los genotipos de la prueba **cobas**® CMV constaban de un panel de siete miembros con el que se cubre el intervalo lineal del ensayo. El análisis se realizó con dos lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV y se analizaron 16 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se comprobó el intervalo lineal de la prueba **cobas**® CMV para los tres genotipos (gB-2, gB-3 y gB-4).

Verificación de las muestras de CMV resistentes a fármacos

El rendimiento de la prueba **cobas**® CMV en las muestras resistentes a fármacos contra el CMV se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes frente a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir o Foscarnet)
- Verificación del intervalo lineal para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes frente a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir o Foscarnet)

Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir)

Se diluyeron sobrenadantes de cultivos celulares de dos muestras de CMV resistentes a distintos fármacos (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir) con tres niveles de concentración diferentes en plasma conservado en EDTA negativo para CMV. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 63 réplicas para cada nivel. El análisis se realizó con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 16. Los resultados demuestran que la prueba **cobas**® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV para dos muestras diferentes resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad del ≥ 95 %.

Tabla 16 Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos

		17,25 UI/ml	17,25 UI/ml	17,25 UI/ml	34,5 UI/ml	34,5 UI/ml	34,5 UI/ml	51,75 UI/ml	51,75 UI/ml	51,75 UI/ml
Resistencia a fármaco	**Región de mutación en UL54**	**Número de réplicas válidas**	**Número de positivos**	**Tasa de posit. en % (IC del 95 %*)**	**Número de réplicas válidas**	**Número de positivos**	**Tasa de posit. en % (IC del 95 %*)**	**Número de réplicas válidas**	**Número de positivos**	**Tasa de posit. en % (IC del 95 %*)**
Foscarnet	E756Q	63	58	92,1 (97,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	L545S	63	59	93,7 (98,2 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Intervalo de confianza unilateral superior del 95 %

Verificación del intervalo lineal para las muestras resistentes a fármacos contra el CMV (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir)

Las series de dilución utilizadas para la verificación del estudio de linealidad de las muestras resistentes a fármacos contra el CMV de la prueba **cobas**® CMV constaban de un panel de siete miembros con el que se cubre el intervalo lineal del ensayo. El análisis se realizó con dos lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV y se analizaron 16 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

El intervalo lineal de la prueba **cobas**® CMV se verificó para las dos muestras resistentes a los fármacos contra el CMV (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir).

Especificidad

La especificidad de la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de muestras de plasma conservadas en EDTA negativas para el CMV obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 608 muestras de plasma conservado en EDTA con dos lotes de reactivo de **cobas**® CMV. Todas las muestras dieron negativo para ADN del CMV. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba **cobas**® CMV fue del 100 % (límite de confianza unilateral inferior del 95 %: 99,5 %).

Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba **cobas**® CMV se evaluó mediante dilución de un panel de microorganismos en una concentración de 1,00E+06 partículas, copias, UI, equivalentes genómicos o UFC/ml en plasma conservado en EDTA positivo para ADN de CMV y negativo para ADN de CMV. En la Tabla 17 se indican los organismos específicos analizados. Se analizó cada miembro del panel con la prueba **cobas**® CMV. Ninguno de los patógenos distintos del CMV interfirió en el rendimiento de la prueba.

Tabla 17 Microorganismos analizados para reactividad cruzada

Virus	Bacterias	Levadura
Adenovirus tipo 5	*Propionibacterium acnes*	*Aspergillus niger*
Poliomavirus BK	*Staphylococcus aureus*	*Candida albicans*
Virus de Epstein-Barr	*Chlamydia trachomatis*	*Cryptococcus neoformans*
Virus de la hepatitis B	*Clostridium perfringens*	-
Virus de la hepatitis C	*Enterococcus faecalis*	-
Virus del herpes simple tipo 1	*Escherichia coli*	-
Virus del herpes simple tipo 2	*Klebsiella pneumoniae*	-
Virus del herpes humano tipo 6	*Listeria monocytogenes*	-
Virus del herpes humano tipo 7	*Mycobacterium avium*	-
Virus del herpes humano tipo 8	*Neisseria gonorrhoeae*	-
Virus de inmunodeficiencia humana 1	*Staphylococcus epidermidis*	-
Virus de inmunodeficiencia humana 2	*Streptococcus pyogenes*	-
Virus del papiloma humano	*Mycoplasma pneumoniae*	-
Virus JC	*Salmonella typhimurium*	-
Parvovirus B19	*Streptococcus pneumoniae*	-
Virus de la varicela zóster	-	-

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (34,5 g/l), bilirrubina conjugada (0,25 g/l), bilirrubina no conjugada (0,25 g/l), albúmina (58,7 g/l), hemoglobina (2,9 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras en presencia y ausencia de ADN del CMV. El análisis de las sustancias interferentes endógenas demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba **cobas**® CMV.

También se evaluó el impacto de la presencia de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y anticuerpos antinucleares en presencia y ausencia de ADN del CMV. Además, se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 18 con una concentración tres veces superior a la C_{max} tanto en presencia como en ausencia de ADN del CMV.

Se ha demostrado que ninguna de las posibles sustancias interferentes afecta al rendimiento de la prueba.

Tabla 18 Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia con la cuantificación de ADN del CMV con la prueba **cobas**® CMV

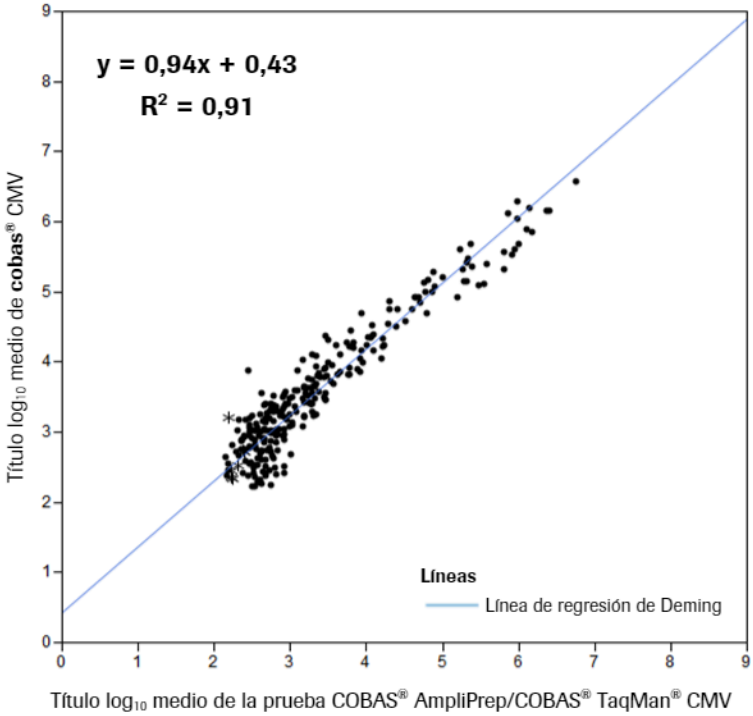
Clase de fármaco	Nombre genérico del fármaco	Nombre genérico del fármaco
Antibimicrobiano	Cefotetan	Sulfametoxazol
Antibimicrobiano	Clavulanato de potasio	Ticarcilina disódica
Antibimicrobiano	Fluconazol	Trimetoprima
Antibimicrobiano	Piperacilina	Vancomicina
Antibimicrobiano	Tazobactam sódico	-
Compuestos para el tratamiento de los virus del herpes	Ganciclovir	Cidofovir
Compuestos para el tratamiento de los virus del herpes	Valganciclovir	Foscarnet
Inmunosupresores	Azatioprina	Prednisona
Inmunosupresores	Ciclosporina	Sirolimus
Inmunosupresores	Everolimus	Tacrolimus
Inmunosupresores	Micofenolato mofetil	-
Inmunosupresores	Ácido micofenólico	-

Comparación del rendimiento con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV

Se comparó el rendimiento de las pruebas **cobas**® CMV y COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV mediante el análisis de muestras de plasma conservado en EDTA de pacientes infectados por el CMV. Un total de 275 muestras de plasma conservado en EDTA representativas de todos los genotipos del CMV, analizadas por duplicado, resultaron válidas y se mostraron dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizó el análisis de la regresión de Deming.

En la Ilustración 5 se muestran los resultados de la regresión de Deming.

Ilustración 5 Comparación del análisis de regresión entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba cuantitativa CAP/CTM CMV



Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió una muestra clínica positiva para CMV. Estas muestras se analizaron con una concentración aproximada de 3 × LoD.

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para la diana del CMV, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0 % (intervalo de confianza del 95 % comprendido entre 0 % y 3,6 %).

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de 240 réplicas de una muestra de plasma humano conservado en EDTA negativo al CMV y de 225 réplicas de una muestra de CMV con un título alto con una concentración de 1,00E+06 UI/ml. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

Las 240 réplicas de la muestra negativa resultaron negativas, por lo que la tasa de contaminación por arrastre fue del 0 % (intervalo de confianza del 95 % comprendido entre 0 % y 1,5 %).

Evaluación clínica del rendimiento realizada en los cobas® 6800/8800 Systems

Reproducibilidad clínica

La reproducibilidad de la prueba **cobas**® CMV se evaluó mediante plasma conservado en EDTA en el **cobas**® 6800 System. La reproducibilidad y la variabilidad entre lotes se analizó en 3 centros y con 3 lotes de reactivo. Dos operadores de cada centro analizaron cada lote de reactivo durante 6 días (3 días el operador 1 y 3 días el operador 2). Se llevaron a cabo dos series analíticas cada día y en cada serie se analizaron 3 réplicas de cada miembro del panel. Los datos se analizaron utilizando un modelo mixto para la estimación de la variación total. Los resultados de la evaluación se resumen de la Tabla 19 a la Tabla 21 que aparecen a continuación.

Tabla 19 muestra la reproducibilidad clínica del ensayo en diferentes puntos del intervalo lineal. También se indica la contribución de cada uno de los factores a la variación observada.

Tabla 19 Porcentaje atribuible de la variación total (%TV), la desviación estándar (SD) de la precisión total y el CV (%) lognormal de la concentración de ADN del CMV (log_{10} UI/ml) por miembro positivo del panel

Conc. de ADN del CMV esperada (log_{10} UI/ml)	Conc. media[a] observada de ADN del CMV (log_{10} UI/ml)	N.º de pruebas[b]	Lote %TV[c] (CV%)[e] SD[d]	Centro %TV[c] (CV%)[e] SD[d]	Operador/ Día %TV[c] (CV%)[e] SD[d]	Serie analítica %TV[c] (CV%)[e] SD[d]	Intra-ensayo %TV[c] (CV%)[e] SD[d]	Precisión total SD[f]	Precisión total (CV%)[g]
2,01	2,07	324	1 % (2,97) 0,0129	6 % (6,49) 0,0282	0 % (0,00) 0,0000	3 % (4,47) 0,0194	90 % (25,15) 0,1076	0,114	26,61
3,26	3,27	322	10 % (4,29) 0,0186	13 % (4,85) 0,0210	3 % (2,50) 0,0109	0 % (0,00) 0,0000	74 % (11,71) 0,0507	0,059	13,64
3,86	3,90	324	23 % (7,26) 0,0315	0 % (0,00) 0,0000	0 % (0,22) 0,0010	0 % (0,00) 0,0000	77 % (13,50) 0,0584	0,066	15,36
6,70	6,74	324	15 % (5,16) 0,0224	3 % (2,31) 0,0100	1 % (1,52) 0,0066	0 % (0,00) 0,0000	81 % (11,98) 0,0518	0,058	13,35

Nota: la tabla únicamente incluye resultados con carga viral detectable.

[a] Calculada mediante el procedimiento SAS MIXED.

[b] Número de pruebas válidas con carga viral detectable.

[c] %TV = Contribución porcentual a la variación total.

[d] Calculada utilizando el componente de variación del procedimiento SAS MIXED.

[e] CV% = Coeficiente porcentual lognormal de la variación = sqrt(10^[SD^2 × ln(10)] − 1) × 100.

[f] Calculada utilizando la variabilidad total del procedimiento SAS MIXED.

[g] Calculada utilizando la variabilidad total del procedimiento SAS MIXED.

ADN = ácido desoxirribonucleico; CMV = citomegalovirus; Conc. = concentración; SD = desviación estándar; sqrt = raíz cuadrada; N.º = número.

Tabla 20 muestra la diferencia de carga viral detectable estimada para cada miembro positivo del panel. La diferencia incrementada detectable puede utilizarse para valorar los cambios estadísticamente significativos de la carga viral de un paciente cuando se realizan mediciones en serie.

Tabla 20 Diferencia de carga viral detectable por miembro positivo del panel

Conc. de ADN del CMV esperada (log_{10} UI/ml)	Conc. media observada de ADN del CMV (log_{10} UI/ml)	N.º de pruebas[a]	Desviación estándar de la precisión total (log_{10} UI/ml)	Desviación estándar de la diferencia entre dos mediciones[b]	LC del 95 %[c] (±log_{10} UI/ml)	Diferencia incrementada detectable[d]
2,01	2,07	324	0,11	0,16	0,31	2,06
3,26	3,27	322	0,06	0,08	0,16	1,46
3,86	3,90	324	0,07	0,09	0,18	1,53
6,70	6,74	324	0,06	0,08	0,16	1,45

Nota: la tabla únicamente incluye resultados con carga viral detectable. El límite de cuantificación inferior (LLoQ) del ensayo es de 3,45E+01 UI/ml, y el límite de cuantificación superior (ULoQ), de 1,0E+07 UI/ml.

[a] Número de pruebas válidas con carga viral detectable.

[b] Desviación estándar de la diferencia entre dos mediciones = sqrt(2 × (desviación estándar de la precisión total)^2).

[c] LC del 95 % = Límite de confianza = 1,96 × desviación estándar de la diferencia entre dos mediciones.

[d] Diferencia incrementada detectable = 10^(1,96 × sqrt(2 × (desviación estándar total)^2)).

ADN = ácido desoxirribonucleico; CMV = citomegalovirus; N.º = número; sqrt = raíz cuadrada.

Tabla 21 que figura a continuación muestra la reproducibilidad para el miembro negativo del panel con el **cobas**® 6800 System.

Tabla 21 Resultados de reproducibilidad del miembro negativo del panel

Concentración de ADN del CMV esperada	Número de pruebas válidas	Resultados positivos	Resultados negativos	Porcentaje de concordancia de negativos[a]	IC exacto del 95 %[b]
Negativa	323	0	323	100,00	(98,86, 100,00)

[a] Porcentaje de concordancia de negativos = (número de resultados negativos ÷ total de pruebas válidas en el miembro negativo del panel) × 100 %.

[b] Calculado mediante el método de intervalo de confianza binomial exacto de Clopper-Pearson.

ADN = ácido desoxirribonucleico; CMV = citomegalovirus; IC = intervalo de confianza.

Evaluación clínica del rendimiento: población de trasplantados con órganos sólidos (TOS)

Este estudio se ha diseñado para evaluar la concordancia clínica entre las pruebas **cobas**® CMV y COBAS® AmpliPrep/ COBAS® TaqMan® CMV (a la que se hace referencia como TaqMan® CMV) en la población trasplantada con órganos sólidos. Se analizaron muestras residuales congeladas de plasma conservado en EDTA obtenidas prospectivamente de destinatarios de trasplantes de riñón que participaban en la segunda fase de un ensayo de doble ciego aleatorio controlado por placebo sobre el régimen profiláctico contra el CMV. Se secuenciaron las regiones diana del ensayo para las muestras con una desviación > 0,5 $\log_{10}$ UI/ml entre dos ensayos, así como un conjunto representativo de muestras sin una desviación de medición. Las secuencias asociadas con una desviación media > 0,9 $\log_{10}$ UI/ml se definieron como de "impacto significativo". Solamente se identificaron secuencias de impacto significativo sobre las dianas de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

Las características demográficas de la población de pacientes se resumen en la Tabla 22.

Tabla 22 Características demográficas y clínicas iniciales de los pacientes sometidos a TOS

Características	Grupos	Estadística
Número de mujeres	Total, n	107
Edad (años)	Media ± SD	49 ± 13,6
Edad (años)	Mediana	50
Edad (años)	Intervalo	18-76
Sexo, n (%)	Hombres	74 (69,2 %)
Sexo, n (%)	Mujeres	33 (30,8 %)
Etnia, n (%)	Hispanos/Latinos	10 (9,3 %)
Etnia, n (%)	No hispanos/No latinos	91 (85,0 %)
Etnia, n (%)	Desconocido	6 (5,6 %)
Raza, n (%)	Asiático	1 (0,9 %)
Raza, n (%)	Negro/Afroamericano	16 (15,0 %)
Raza, n (%)	Blanco	88 (82,2 %)
Raza, n (%)	Otros	2 (1,9 %)
Inmunosupresión de inducción, n (%)	Sí	26 (24,3 %)
Inmunosupresión de inducción, n (%)	No	81 (75,7 %)
Brazo de estudio, n (%)	Régimen profiláctico del CMV	53 (49,5 %)
Estado serológico del CMV, n (%)	Donante positivo, receptor negativo	107 (100,0 %)

Nota: la categoría desconocida se utiliza para sujetos cuya información no está disponible o no se ha comunicado.

CMV = citomegalovirus, SD = desviación estándar.

Concordancia clínica de la población con trasplante órganos sólidos (TOS)

Concordancia en la fase inicial

Tabla 23 a la Tabla 26 siguientes se muestran los resultados del análisis de concordancia entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV mediante umbrales: DND, < 1,37E+02 / ≥ 1,37E+02 UI/ml, < 5,00E+02 / ≥ 5,00E+02 UI/ml y < 1,8E+03 / ≥ 1,8E+03 UI/ml, respectivamente a partir de muestras evaluables obtenidas el día de inicio del tratamiento o inmediatamente antes.

Tabla 23 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV utilizando el umbral de diana no detectada (pares de muestras en la fase inicial del tratamiento anti CMV) en la población TOS

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	TaqMan® CMV Diana no detectada	TaqMan® CMV Detectada	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)[a]
Diana no detectada	9	0	9	100,0 % (66,4 %, 100,0 %)
Detectada	2	60	62	96,8 % (88,8 %, 99,6 %)
Total	11	60	71	-
Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)[a]	81,8 % (48,2 %, 97,7 %)	100,0 % (94,0 %, 100,0 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)[a]	97,2 % (90,2 %, 99,7 %)	-	-	-
Valor p[b]	0,5000	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial.

[a] Independencia asumida entre todas las muestras.

[b] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copias/ml.

Tabla 24 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV utilizando el umbral 1,37E+02 UI/ml (pares de muestras en la fase inicial del inicio de tratamiento contra el CMV) en la población TOS

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	TaqMan® CMV < 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log_{10} UI/ml)	TaqMan® CMV ≥ 1,37E+02 UI/ml (≥ 2,137 log_{10} UI/ml)	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)[a]
< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log_{10} UI/ml)	24	1	25	96,0 % (79,6 %, 99,9 %)
≥ 1,37E+02 UI/ml (≥ 2,137 log_{10} UI/ml)	5*	41	46	89,1 % (76,4 %, 96,4 %)
Total	29	42	71	
Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)[a]	82,8 % (64,2 %, 94,2 %)	97,6 % (87,4 %, 99,9 %)	--	
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)[a]	91,5 % (82,5 %, 96,8 %)	-	-	-
Valor p[b]	0,2188	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial. La muestra con un resultado "Diana no detectada" o una carga viral detectable inferior a 1,37E+02 UI/ml se categoriza como "< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log_{10} UI/ml)".

* 2 de los 5 sujetos con muestras discordantes presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Independencia asumida entre todas las muestras.

[b] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copias/ml.

Tabla 25 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV utilizando el umbral 5,00E+02 UI/ml (pares de muestras en la fase inicial del inicio de tratamiento contra el CMV) en la población TOS

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	TaqMan® CMV < 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log_{10} UI/ml)	TaqMan® CMV ≥ 5,00E+02 UI/ml (≥ 2,699 log_{10} UI/ml)	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)[a]
< 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log_{10} UI/ml)	33	2	35	94,3 % (80,8 %, 99,3 %)
≥ 5,00E+02 UI/ml (≥ 2,699 log_{10} UI/ml)	7*	29	36	80,6 % (64,0 %, 91,8 %)
Total	40	31	71	-
Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)[a]	82,5 % (67,2 %, 92,7 %)	93,5 % (78,6 %, 99,2 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)[a]	87,3 % (77,3 %, 94,0 %)	-	-	-
Valor p[b]	0,1797	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial. La muestra con un resultado "Diana no detectada" o una carga viral detectable inferior a 5,00E+02 UI/ml se categoriza como "< 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log_{10} UI/ml)".

* 3 de los 7 sujetos con muestras discordantes presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Independencia asumida entre todas las muestras.

[b] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copias/ml.

Tabla 26 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV utilizando el umbral 1,8E+03 UI/ml (pares de muestras en la fase inicial del inicio de tratamiento contra el CMV) en la población TOS

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	TaqMan® CMV < 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	TaqMan® CMV ≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)[a]
< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	48	0	48	100,0 % (92,6 %, 100,0 %)
≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	4*	19	23	82,6 % (61,2 %, 95,0 %)
Total	52	19	71	-
Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)[a]	92,3 % (81,5 %, 97,9 %)	100,0 % (82,4 %, 100,0 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)[a]	94,4 % (86,2 %, 98,4 %)	-	-	-
Valor p[b]	0,1250	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial.
La muestra con un resultado "Diana no detectada" o una carga viral detectable inferior a 1,8E+03 UI/ml se categoriza como "< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)".

* 1 de los 4 sujetos con muestras discordantes presentó un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Independencia asumida entre todas las muestras.

[b] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copias/ml.

Análisis de resolución por día

Tabla 27 presenta un análisis de concordancia de la resolución del episodio CMV para pacientes TOS en el día 14, día 21, día 28, día 35 y día 49 posterior al inicio del tratamiento contra el CMV.

Tabla 27 Análisis de concordancia de la resolución del episodio de CMV para sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV en la población TOS

Punto temporal posterior al inicio del tratamiento contra el CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV Resolución del episodio CMV[a]	TaqMan® CMV No resolución del episodio CMV	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)
Día 14	Resolución del episodio CMV[a]	0	0	0	NC
Día 14	No resolución del episodio CMV	0	40	40	100,0 % (91,2 %, 100,0 %)
Día 14	Total	0	40	40	
Día 14	Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)	NC	100,0 % (91,2 %, 100,0 %)	-	-
Día 14	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	100,0 % (91,2 %, 100,0 %)	-	-	-
Día 14	Valor p[b]	NC	-	-	-
Día 21	Resolución del episodio CMV[a]	0	0	0	NC
Día 21	No resolución del episodio CMV	1	50	51	98,0 % (89,6 %, 100,0 %)
Día 21	Total	1	50	51	

Punto temporal posterior al inicio del tratamiento contra el CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV Resolución del episodio CMV[a]	TaqMan® CMV No resolución del episodio CMV	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)
Día 21	Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)	0,0 % (0,0 %, 97,5 %)	100,0 % (92,9 %, 100,0 %)	-	-
Día 21	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	98,0 % (89,6 %, 100,0 %)	-	-	-
Día 21	Valor p[b]	NC	-	-	-
Día 28	Resolución del episodio CMV[a]	6	0	6	100,0 % (54,1 %, 100,0 %)
Día 28	No resolución del episodio CMV	4	46	50	92,0 % (80,8 %, 97,8 %)
Día 28	Total	10	46	56	-
Día 28	Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)	60,0 % (26,2 %, 87,8 %)	100,0 % (92,3 %, 100,0 %)	-	-
Día 28	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	92,9 % (82,7 %, 98,0 %)	-	-	-
Día 28	Valor p[b]	0,1250	-	-	-
Día 35	Resolución del episodio CMV[a]	16	1	17	94,1 % (71,3 %, 99,9 %)
Día 35	No resolución del episodio CMV	8	31	39	79,5 % (63,5 %, 90,7 %)
Día 35	Total	24	32	56	-
Día 35	Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)	66,7 % (44,7 %, 84,4 %)	96,9 % (83,8 %, 99,9 %)	-	-
Día 35	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	83,9 % (71,7 %, 92,4 %)	-	-	-
Día 35	Valor p[b]	0,0391	-	-	-
Día 49	Resolución del episodio CMV[a]	38	0	38	100,0 % (90,7 %, 100,0 %)
Día 49	No resolución del episodio CMV	7	12	19	63,2 % (38,4 %, 83,7 %)
Día 49	Total	45	12	57	-
Día 49	Concordancia de columna (IC exacto del 95 %)	84,4 % (70,5 %, 93,5 %)	100,0 % (73,5 %, 100,0 %)	-	-
Día 49	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	87,7 % (76,3 %, 94,9 %)	-	-	-
Día 49	Valor p[b]	0,0156	-	-	-

Entre los sujetos incluidos en la tabla del día 14, 2 presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

Entre los sujetos incluidos en la tabla del día 21, 2 presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

Entre los sujetos incluidos en la tabla del día 28, 3 presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

Entre los sujetos incluidos en la tabla del día 35, 3 presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

Entre los sujetos incluidos en la tabla del día 49, 4 presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Resolución del episodio CMV definida por 2 muestras consecutivas (preferiblemente muestras con una semana de diferencia) analizadas y que generaron un resultado por debajo del LLoQ de la prueba TaqMan® CMV (137 UI/ml), valor coherente con las recomendaciones de las directrices actuales; es decir, se recomiendan 2 muestras "negativas" consecutivas como punto final de carga viral para el tratamiento de episodios crónicos de CMV.

[b] Calculado mediante la prueba de McNemar.

IC = intervalo de confianza; NC = no calculable; TOS = trasplante de órganos sólidos.

Cuando se utilizó para ayudar a determinar la resolución de episodios virémicos el día 14, día 21, día 28, día 35 y día 49 (posterior al inicio del tratamiento contra el CMV), el PCG entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV osciló entre el 83,9 % y el 100 % (Tabla 28).

Tabla 28 Porcentaje de concordancia global por estado de resolución (no resuelto/resuelto) para sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV en la población TOS

Punto temporal	Concordancia No resueltos	Concordancia Resueltos	Porcentaje de concordancia global	IC exacto del 95 % Porcentaje de concordancia global
Día 14	100,0 % (40/40)	NC	100,0 % (40/40)	(91,2 %, 100,0 %)
Día 21	100,0 % (50/50)	0,0 % (0/1)	98,0 % (50/51)	(89,6 %, 100,0 %)
Día 28	100,0 % (46/46)	60,0 % (6/10)	92,9 % (52/56)	(82,7 %, 98,0 %)
Día 35	96,9 % (31/32)	66,7 % (16/24)	83,9 % (47/56)	(71,7 %, 92,4 %)
Día 49	100,0 % (12/12)	84,4 % (38/45)	87,7 % (50/57)	(76,3 %, 94,9 %)

Nota: Resolución del episodio CMV definida por 2 muestras consecutivas (preferiblemente muestras con una semana de diferencia) analizadas y que generaron un resultado por debajo del LLoQ de la prueba TaqMan® CMV (137 UI/ml), valor coherente con las recomendaciones de las directrices actuales; es decir, se recomiendan 2 muestras "negativas" consecutivas como punto final de carga viral para el tratamiento de episodios crónicos de CMV.

2 de las 40 muestras totales del día 14 pertenecían a sujetos que presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

2 de las 51 muestras totales del día 21 pertenecían a sujetos que presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

3 de las 56 muestras totales del día 28 pertenecían a sujetos que presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

3 de las 56 muestras totales del día 35 pertenecían a sujetos que presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

4 de las 57 muestras totales del día 49 pertenecían a sujetos que presentaron un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

CMV = citomegalovirus; LLoQ = límite de cuantificación inferior; NC = no calculable; SOT = trasplante de órganos sólidos.

Concordancias globales entre diferentes niveles de carga viral

Tabla 29 muestra la concordancia de los resultados de la carga viral entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV para los 1.898 pares de muestras evaluables en la población TOS del estudio de concordancia clínica.

Tabla 29 Resumen de los análisis de concordancia (todos los pares de muestras) en la población TOS

Todos los pares de muestras cobas® CMV (log_{10} UI/ml)	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) Diana no detectada	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) < 2,137	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 2,137 a < 2,699	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 2,699 a < 3,255	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 3,255 a < 3,899	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) Total
Diana no detectada	1022	8	0	0	0	0	1030
< 2,137	168	193	6	0	0	0	367
De 2,137 a < 2,699	3[a]	76	61	8	0	0	148
De 2,699 a < 3,255	0	12[c]	73	63	1	0	149
De 3,255 a < 3,899	1[b]	5[d]	8[e]	44	58	0	116
≥ 3,899	0	0	3[f]	1[b]	45	39	88
Total	1194	294	151	116	104	39	1898

Nota: en la tabla se incluyen los 1.898 pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica. El límite de cuantificación inferior (LLoQ) es de 3,45E+01 UI/ml para **cobas**® CMV y de 1,37E+02 UI/ml para la prueba TaqMan® CMV. log_{10} (1,37E+02) = 2,137; log_{10} (5,0E+02) = 2,699; log_{10} (1,8E+03) = 3,255; log_{10} (7,943E+03) = 3,899.

[a] Se secuenciaron las muestras discrepantes y 2 de 3 presentaron una mutación de impacto significativo.

[b] Se secuenció la muestra discrepante y se detectó una mutación de impacto significativo.

[c] 8 de las 12 muestras discrepantes obtenidas de los 5 sujetos y el total de las 8 muestras secuenciadas presentaron una mutación de impacto significativo.

[d] Se secuenciaron estas 5 muestras discrepantes procedentes de 3 sujetos y las 5 presentaron una mutación de impacto significativo.

[e] Se secuenciaron 7 de las 8 muestras discrepantes procedentes de 3 sujetos y las 7 muestras secuenciadas presentaron una mutación de impacto significativo.

[f] Se secuenciaron estas 3 muestras discrepantes procedentes de 2 sujetos y las 3 presentaron una mutación de impacto significativo.

Tabla 30 muestra un resumen de la concordancia de los resultados de la carga viral por umbrales distintos (Diana no detectada, 137 UI/ml, 500 UI/ml y 1.800 UI/ml) para todos los pares de muestras en la población TOS.

Tabla 30 Resumen de concordancia de los resultados de la carga viral por umbrales diferentes para todos los pares de muestras en la población TOS

Todos los pares de muestras cobas® CMV	**Porcentaje de concordancia < umbral** IC del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia ≥ umbral** IC del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia global** IC del 95 % (n/N)
Diana no detectada	**85,6 %** 83,5 %, 87,5 % (1022/1194)	**98,9 %** 97,8 %, 99,5 % (696/704)	**90,5 %** 89,1 %, 91,8 % (1718/1898)
137 UI/ml (2,1 log_{10} UI/ml*)	**93,5 %** 92,1 %, 94,7 % (1391/1488)	**98,5 %** 96,8 %, 99,5 % (404/410)	**94,6 %** 93,5 %, 95,5 % (1795/1898)
500 UI/ml (2,7 log_{10} UI/ml)**	**93,8 %** 92,5 %, 94,9 % (1537/1639)	**96,9 %** 94,0 %, 98,7 % (251/259)	**94,2 %** 93,1 %, 95,2 % (1788/1898)
1800 UI/ml (3,3 log_{10} UI/ml*)**	**96,5 %** 95,5 %, 97,3 % (1693/1755)	**99,3 %** 96,2 %, 100,0 % (142/143)	**96,7 %** 95,8 %, 97,4 % (1.835/1.898)

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica. Las muestras con resultados "Diana no detectada" se han categorizado como "< valor umbral en UI/ml".

* Log_{10} de 2,137 abreviado como 2,1 log_{10} UI/ml.

** Log_{10} de 2,699 abreviado como 2,7 log_{10} UI/ml.

*** Log_{10} de 3,255 abreviado como 3,3 log_{10} UI/ml.

Intervalo de confianza (IC) del 95 % calculado por el método exacto asumiendo independencia entre todas las muestras.

Tabla 31 muestra los resultados de concordancia de la carga viral entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV para los 272 pares de muestras evaluables en el día 14, día 21, día 28, día 35 o día 49 posteriores al inicio del tratamiento contra el CMV en la población TOS.

Tabla 31 Resumen de los análisis de concordancia (pares de muestras en los puntos temporales de interés posteriores al inicio del tratamiento contra el CMV) en la población TOS

Todos los puntos temporales de interés de cobas® CMV (log_{10} UI/ml)	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) Diana no detectada**	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) < 2,137**	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 2,137 a < 2,699**	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 2,699 a < 3,255**	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 3,255 a < 3,899**	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) ≥ 3,899**	**TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) Total**
Diana no detectada	24	3	0	0	0	0	27
< 2,137	36	42	1	0	0	0	79
De 2,137 a < 2,699	0	27	18	0	0	0	45
De 2,699 a < 3,255	0	4[a]	25	16	0	0	45
De 3,255 a < 3,899	0	2[b]	1[c]	21	12	0	36
≥ 3,899	0	0	2[b]	0	26	12	40
Total	60	78	47	37	38	12	272

Nota: en la tabla solo se incluyen los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en los puntos temporales de interés (día 14, día 21, día 28, día 35 o día 49 posterior al inicio del tratamiento contra el CMV). El límite de cuantificación inferior (LLoQ) es 3,45E+01 UI/ml para la prueba **cobas**® CMV y de 1,37E+02 UI/ml para la prueba TaqMan® CMV.

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

[a] Se secuenciaron estas 4 muestras discrepantes y 2 de las 4 presentaron una mutación de impacto significativo.

[b] Se secuenciaron estas 2 muestras discrepantes y ambas presentaron una mutación de impacto significativo.

[c] Se secuenció la muestra discrepante y se detectó una mutación de impacto significativo.

Tabla 32 muestra un resumen de la concordancia de los resultados de la carga viral por umbrales distintos (Diana no detectada, 137 UI/ml, 500 UI/ml y 1.800 UI/ml) para todos los pares de muestras evaluables el día 14, día 21, día 28, día 35 o día 49 posterior al inicio del tratamiento contra el CMV en la población TOS.

Tabla 32 Resumen de la concordancia de los resultados de la carga viral por umbrales distintos para pares de muestras el día 14, día 21, día 28, día 35 o día 49 posterior al inicio del tratamiento contra el CMV en la población TOS

Todos los puntos temporales de interés de cobas® CMV	**Porcentaje de concordancia < umbral** IC del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia ≥ umbral** IC del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia global** IC del 95 % (n/N)
Diana no detectada	**40,0 %** 27,6 %, 53,5 % (24/60)	**98,6 %** 95,9 %, 99,7 % (209/212)	**85,7 %** 80,9 %, 89,6 % (233/272)
137 UI/ml (2,1 $\log_{10}$ UI/ml*)	**76,1 %** 68,1 %, 82,9 % (105/138)	**99,3 %** 95,9 %, 100,0 % (133/134)	**87,5 %** 83,0 %, 91,2 % (238/272)
500 UI/ml (2,7 $\log_{10}$ UI/ml**)	**81,6 %** 75,3 %, 86,9 % (151/185)	**100,0 %** 95,8 %, 100,0 % (87/87)	**87,5 %** 83,0 %, 91,2 % (238/272)
1800 UI/ml (3,3 $\log_{10}$ UI/ml***)	**88,3 %** 83,3 %, 92,2 % (196/222)	**100,0 %** 92,9 %, 100,0 % (50/50)	**90,4 %** 86,3 %, 93,7 % (246/272)

Nota: en la tabla solo se incluyen los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica el día 14, día 21, día 28, día 35 y el día 49 posterior al inicio del tratamiento contra el CMV.

Las muestras con resultados "Diana no detectada" se han categorizado como "< valor umbral en UI/ml".

* Log_{10} de 2,137 abreviado como 2,1 $\log_{10}$ UI/ml.

** Log_{10} de 2,699 abreviado como 2,7 $\log_{10}$ UI/ml.

*** Log_{10} de 3,255 abreviado como 3,3 $\log_{10}$ UI/ml.

Intervalo de confianza (IC) del 95 % calculado por el método exacto asumiendo independencia entre todas las muestras.

Comparación de métodos en la población con trasplante órganos sólidos (TOS)

Se realizó un estudio de comparación de métodos para evaluar el rendimiento de la prueba **cobas**® CMV en comparación con otra prueba de carga viral del CMV aprobada por la FDA, la prueba TaqMan® CMV. El estudio utilizó 543 pares de muestras que incluían 381 muestras positivas para CMV de la fase 2a del ensayo de doble ciego aleatorio controlado por placebo sobre el régimen profiláctico del CMV mencionado anteriormente, a las que se añadieron 64 muestras residuales de pacientes trasplantados y 98 muestras artificiales creadas añadiendo cultivo de CMV (cepa Merlin) al plasma conservado en EDTA negativo para el CMV.

La Tabla 33 junto con la Ilustración 6 y la Ilustración 8 presentan los resultados de la regresión de Deming de la carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV para todos los centros combinados para la población con trasplante de órganos sólidos.

Tabla 33 Estimaciones de parámetros de la regresión de Deming entre cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población TOS (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV)

Muestras	Número de pares de muestras	Parámetro	Estimación de parámetro	Error estándar	IC del 95 %[a] IC del 95 %[b]	r
Clínicas y adicionadas	543	Punto de intersección	0,348 0,407*	0,033	(0,283, 0,413) (0,356, 0,462)	0,98
Clínicas y adicionadas	543	Pendiente	0,961 0,945*	0,009	(0,944, 0,979) (0,933, 0,957)	0,98
Clínicas	445	Punto de intersección	0,193 0,229*	0,037	(0,120, 0,266) (0,160, 0,301)	0,97
Clínicas	445	Pendiente	1,023 1,010*	0,010	(1,002, 1,044) (0,992, 1,030)	0,97
Adicionadas	98	Punto de intersección	0,012 N/A	0,063	(–0,114, 0,138) N/A	0,99
Adicionadas	98	Pendiente	0,985 N/A	0,013	(0,960, 1,010) N/A	0,99

Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La tabla únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos.

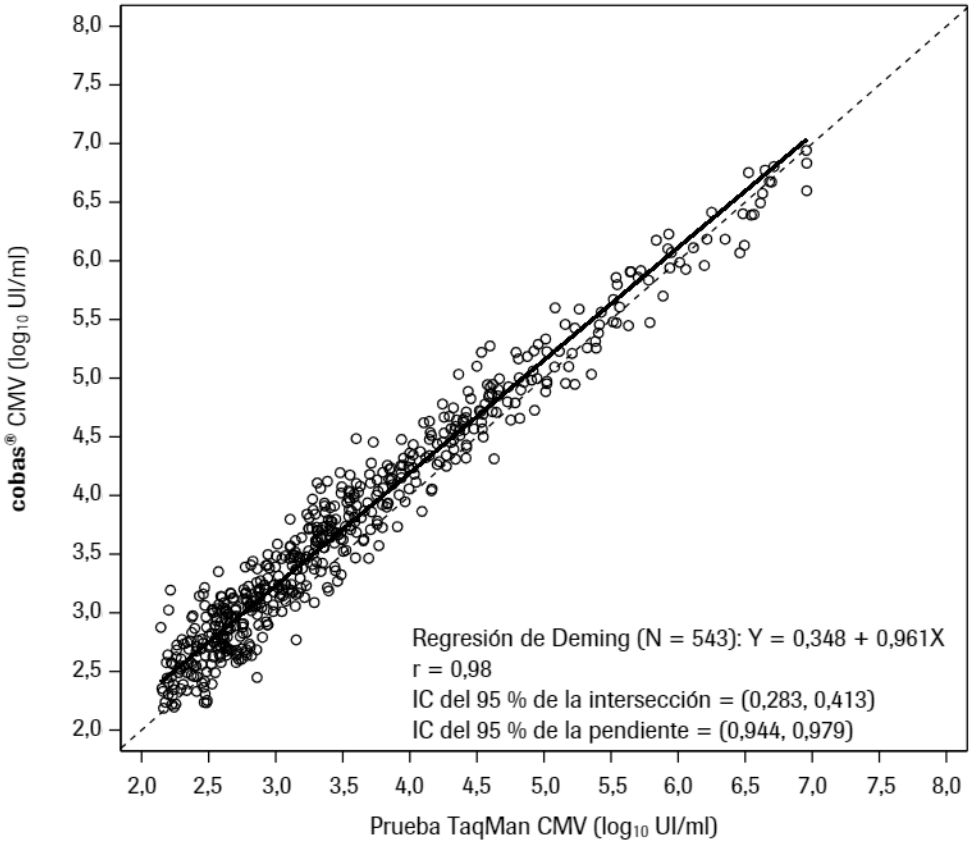
[a] Independencia asumida entre todas las muestras.

[b] Correlación ajustada entre muestras de un mismo sujeto mediante el método bootstrap con 500 iteraciones.

* Indica el percentil 50 de la distribución según el método bootstrap de las estimaciones de parámetros.

IC = intervalo de confianza; N/A = no aplicable; r = coeficiente de correlación.

Ilustración 6 Gráfico de la regresión lineal de Deming de cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población TOS (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV; muestras clínicas y adicionadas)



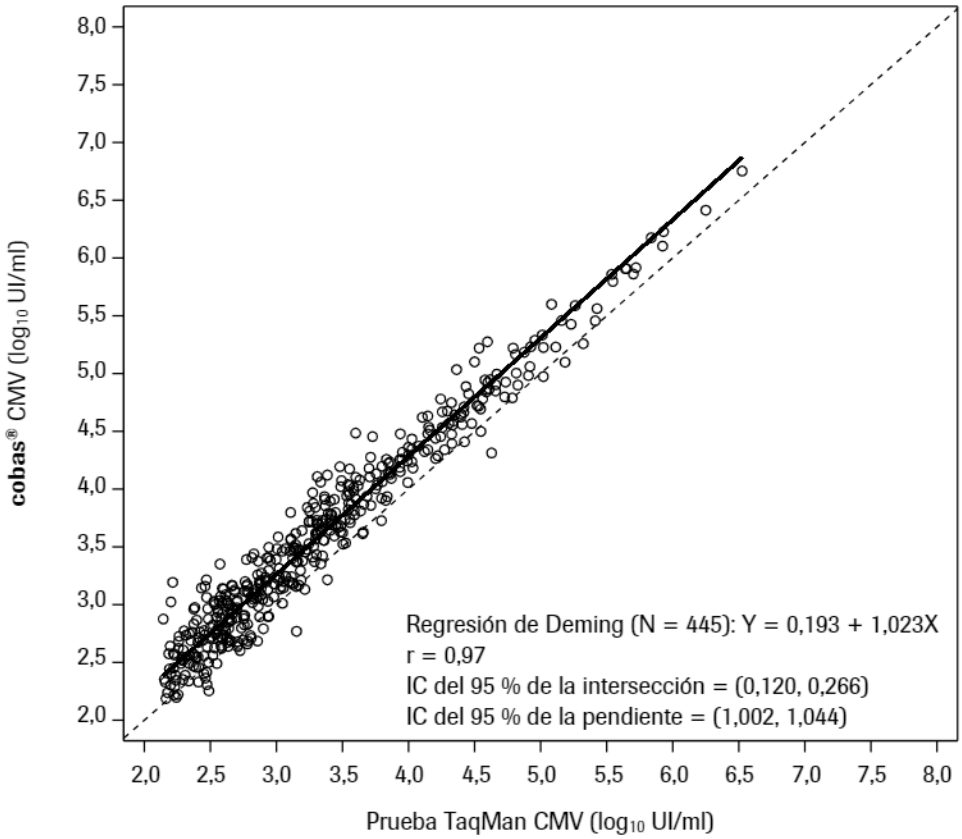
Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

La ilustración únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos.

IC = intervalo de confianza.

r = coeficiente de correlación.

Ilustración 7 Gráfico de la regresión lineal de Deming de las cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población TOS (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV; muestras clínicas)



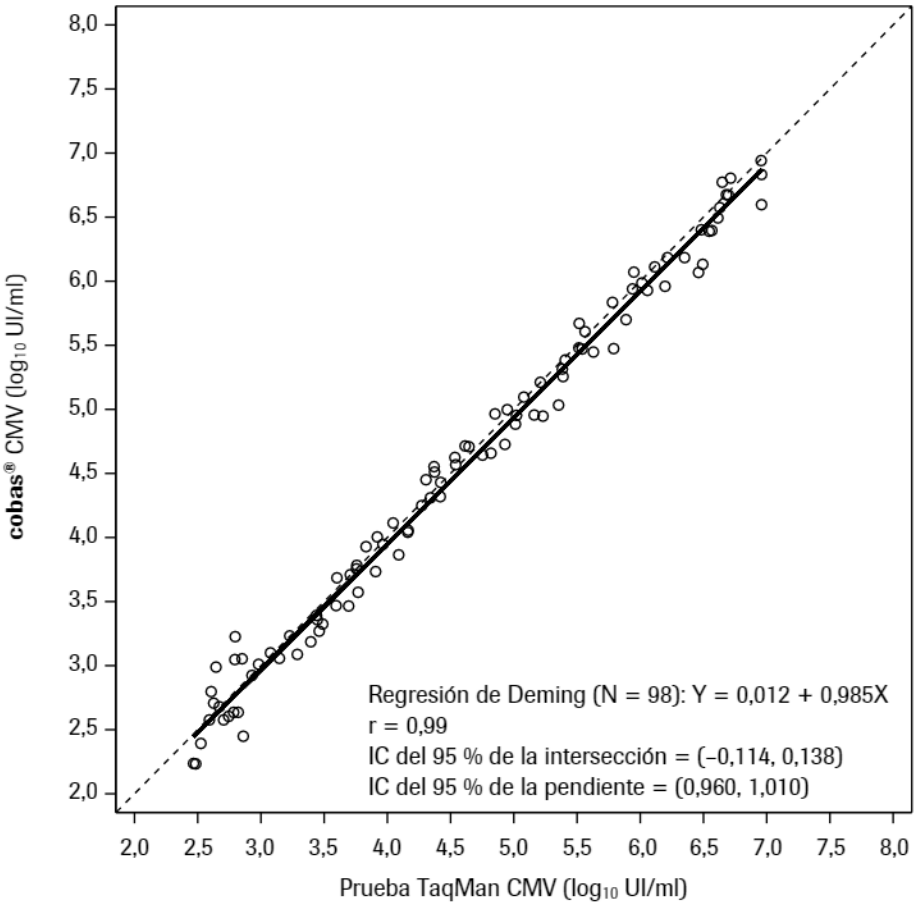
Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

La ilustración únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos.

IC = intervalo de confianza.

r = coeficiente de correlación.

Ilustración 8 Gráfico de la regresión lineal de Deming de cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población TOS (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV; muestras adicionadas)



Nota: IC = intervalo de confianza.

r = coeficiente de correlación.

Sesgo en los niveles de carga viral seleccionados

Tabla 34 presenta el sesgo entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV en cinco niveles de carga viral seleccionados comprendidos entre 2,14 log_{10} UI/ml y 7,00 log_{10} UI/ml junto con los equivalentes no transformados asociados.

Tabla 34 Sesgo entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) en cinco niveles de carga viral seleccionados (muestras clínicas y adicionadas)

Muestras	Nivel de carga viral (por prueba TaqMan® CMV)	Diferencia sistemática[a]
Clínicas y adicionadas	2,137 log_{10} UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,265 log_{10} UI/ml (1,15E+02 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	2,699 log_{10} UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,243 log_{10} UI/ml (3,74E+02 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	3,255 log_{10} UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,221 log_{10} UI/ml (1,19E+03 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	4,000 log_{10} UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,192 log_{10} UI/ml (5,56E+03 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	7,000 log_{10} UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,075 log_{10} UI/ml (1,89E+06 UI/ml)
Clínicas	2,137 log_{10} UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,242 log_{10} UI/ml (1,02E+02 UI/ml)
Clínicas	2,699 log_{10} UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,255 log_{10} UI/ml (4,00E+02 UI/ml)
Clínicas	3,255 log_{10} UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,268 log_{10} UI/ml (1,53E+03 UI/ml)
Clínicas	4,000 log_{10} UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,285 log_{10} UI/ml (9,28E+03 UI/ml)
Clínicas	7,000 log_{10} UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,354 log_{10} UI/ml (1,26E+07 UI/ml)
Adicionadas	2,137 log_{10} UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	–0,020 log_{10} UI/ml (–6,19E+00 UI/ml)
Adicionadas	2,699 log_{10} UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	–0,028 log_{10} UI/ml (–3,17E+01 UI/ml)
Adicionadas	3,255 log_{10} UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	–0,037 log_{10} UI/ml (–1,46E+02 UI/ml)
Adicionadas	4,000 log_{10} UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	–0,048 log_{10} UI/ml (–1,05E+03 UI/ml)
Adicionadas	7,000 log_{10} UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	–0,093 log_{10} UI/ml (–1,93E+06 UI/ml)

[a] Diferencia en UI/ml calculada como 10(estimación de **cobas**® CMV log_{10} UI/ml) – 10(nivel de carga viral de TaqMan® CMV log_{10} UI/ml).

Media de la diferencia de los pares

Tabla 35 muestra la media de la diferencia de los pares entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV en los umbrales representativos y los IC del 95 % asociados calculados mediante la prueba "t" para pares de muestras.[28]

Tabla 35 Media de las diferencias de carga viral de los pares de la prueba **cobas**® CMV menos la prueba TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) en los intervalos de decisión representativos (UI/ml) en la población TOS

Muestras	Intervalos de decisión representativos[a] (UI/ml)	N	Media de la diferencia de los pares (log_{10} UI/ml)	ES para la media de la diferencia de los pares (log_{10} UI/ml)	IC del 95 % (log_{10} UI/ml)
Clínicas y adicionadas	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	275	0,234	0,013	(0,208, 0,260)
Clínicas y adicionadas	De 2,0E+03 a < 2,0E+04	143	0,260	0,019	(0,223, 0,296)
Clínicas y adicionadas	De 2,0E+04 a < 1,0E+05	62	0,195	0,025	(0,145, 0,245)
Clínicas y adicionadas	≥ 1,0E+05	63	0,012	0,025	(–0,039, 0,062)
Clínicas y adicionadas	Global	543	0,211	0,010	(0,191, 0,230)
Clínicas	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	253	0,256	0,013	(0,230, 0,282)
Clínicas	De 2,0E+03 a < 2,0E+04	122	0,317	0,016	(0,285, 0,350)
Clínicas	De 2,0E+04 a < 1,0E+05	47	0,251	0,027	(0,196, 0,305)
Clínicas	≥ 1,0E+05	23	0,201	0,030	(0,139, 0,262)
Clínicas	Global	445	0,269	0,009	(0,251, 0,288)
Adicionadas	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	22	–0,017	0,044	(–0,108, 0,074)
Adicionadas	De 2,0E+03 a < 2,0E+04	21	–0,074	0,024	(–0,125, –0,024)
Adicionadas	De 2,0E+04 a < 1,0E+05	15	0,021	0,031	(–0,045, 0,086)
Adicionadas	≥ 1,0E+05	40	–0,097	0,022	(–0,141, –0,053)
Adicionadas	Global	98	–0,056	0,015	(–0,087, –0,025)

Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La tabla únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos. Los pares de resultados dentro del rango lineal de ambos ensayos se clasificaron en intervalos de decisión representativos en función del resultado obtenido con la prueba TaqMan® CMV (UI/ml).

[a] Intervalos de decisión representativos equivalentes (UI/ml) para el intervalo de 1,37E+02 a < 2,0E+03 (UI/ml) = de 2,137 a < 3,301 (log_{10} UI/ml), de 2,0E+03 a < 2,0E+04 (UI/ml) = de 3,301 a < 4,301 (log_{10} UI/ml), de 2,0E+04 a < 1,0E+05 (UI/ml) = de 4,301 a < 5,000 (log_{10} UI/ml) y de ≥ 1,0E+05 (UI/ml) = ≥ 5,000 (log_{10} UI/ml).

N = número de pares de muestras; ES = error estándar; IC = intervalo de confianza.

Diferencia total permitida (DTP)

La Tabla 36 junto con la Ilustración 9 y hasta la Ilustración 11 presentan los resultados de la DTP obtenidos utilizando las diferencias entre pares individuales entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV y comparándolos con su promedio en los umbrales representativos, además de calcular el porcentaje de los resultados de los pares en la zona de DTP.

Tabla 36 Porcentaje de muestras de la población TOS dentro de los intervalos (UI/ml) de la zona de diferencia total permitida (DTP) (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV)

Muestras	Categoría del intervalo	Rango del intervalo[a] (UI/ml)	Porcentaje de pares de muestras dentro de la zona de DTP % (n/N)
Clínicas y adicionadas	Bajo	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	95,6 % (239/250)
Clínicas y adicionadas	Medio	De 2,0E+03 a < 8,0E+03	89,6 % (103/115)
Clínicas y adicionadas	Alto	De 8,0E+03 a 9,10E+06	95,5 % (170/178)
Clínicas y adicionadas	Global	-	94,3 % (512/543)
Clínicas	Bajo	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	95,2 % (216/227)
Clínicas	Medio	De 2,0E+03 a < 8,0E+03	88,2 % (90/102)
Clínicas	Alto	De 8,0E+03 a 9,10E+06	93,1 % (108/116)
Clínicas	Global	-	93,0 % (414/445)
Adicionadas	Bajo	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	100,0 % (23/23)
Adicionadas	Medio	De 2,0E+03 a < 8,0E+03	100,0 % (13/13)
Adicionadas	Alto	De 8,0E+03 a 9,10E+06	100,0 % (62/62)
Adicionadas	Global	-	100,0 % (98/98)

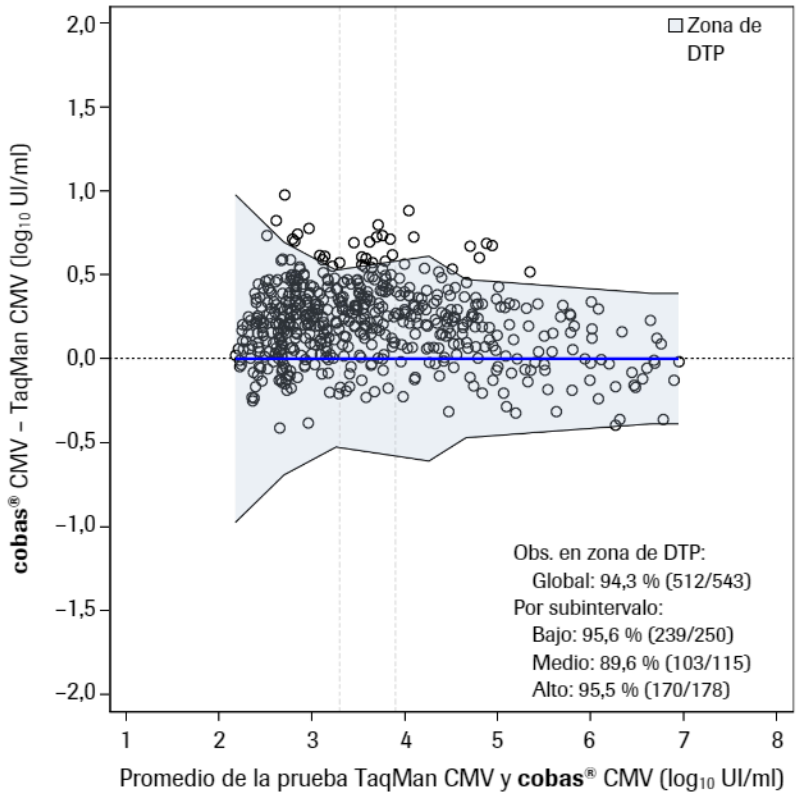
Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La tabla únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos. Los pares de resultados se clasificaron en intervalos de carga viral en función del resultado obtenido con la prueba TaqMan® CMV (UI/ml). Zona de DTP = zona de diferencia total permitida.

[a] Los intervalos relevantes médicamente (UI/ml) equivalentes a de 1,37E+02 a < 2,0E+03, de 2,0E+03 a < 8,0E+03 y de 8.0E+03 a 9,1E0+06 en $\log_{10}$ UI/ml son, respectivamente, de 2,137 a < 3,301, de 3,301 a < 3,903 y de 3,903 a 6,959.

N = número total de pares de muestras dentro del intervalo adecuado.

n = número de pares de muestras incluidas en la zona de DTP dentro del intervalo adecuado.

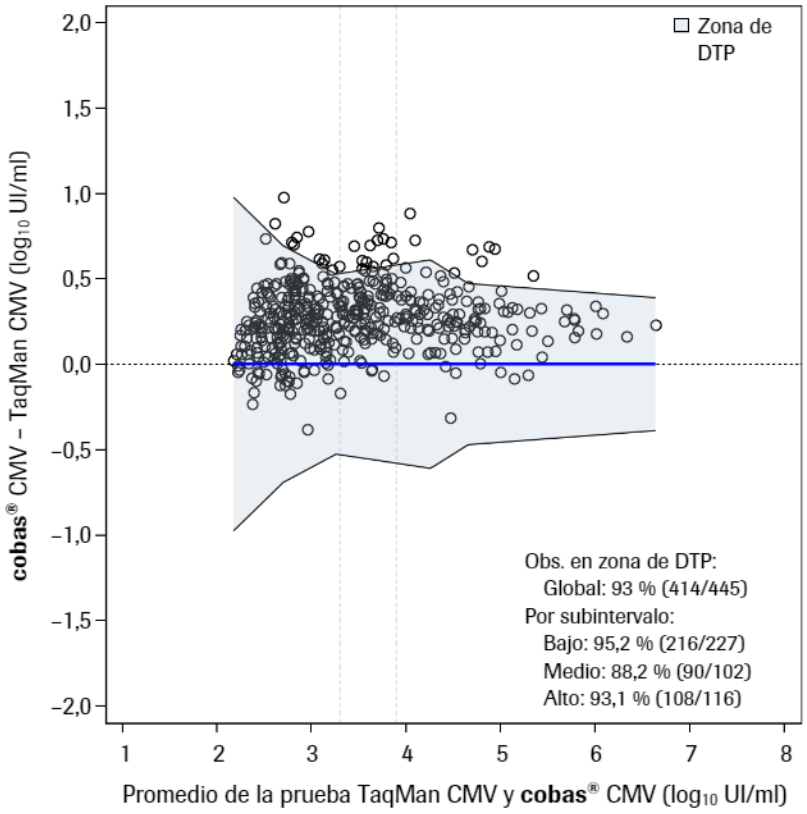
Ilustración 9 Gráfico de diferencia total permitida (DTP) de las diferencias de carga viral individuales frente a la media (log_{10} UI/ml) en la población TOS (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV; muestras clínicas y adicionadas)



DTP = diferencia total permitida; Obs. = observaciones.

Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La ilustración únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos. Los pares de resultados se clasificaron en intervalos de carga viral en función del resultado obtenido con la prueba TaqMan® CMV (UI/ml).

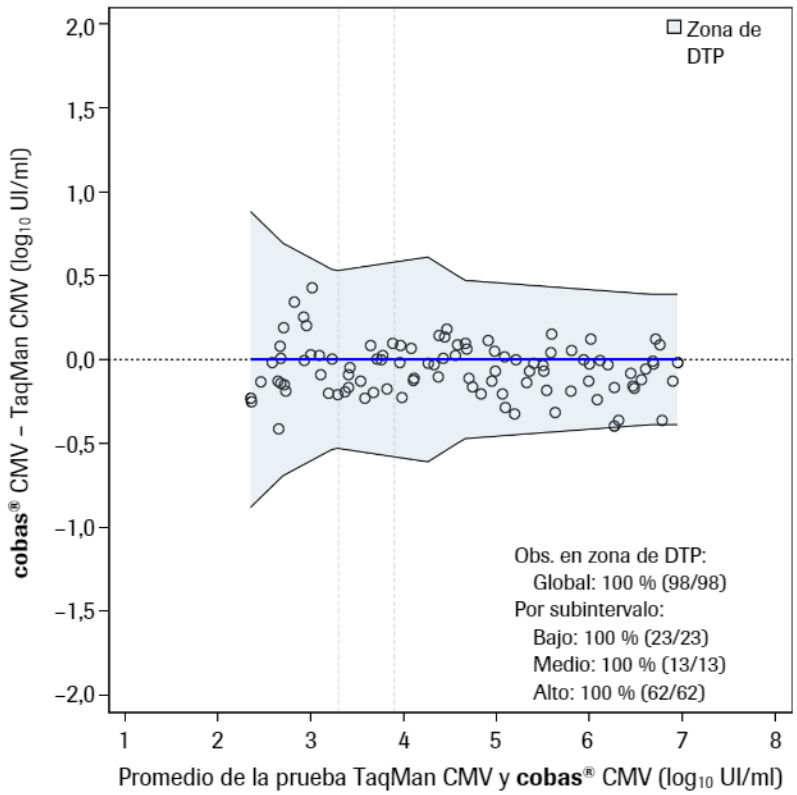
Ilustración 10 Gráfico de diferencia total permitida (DTP) de las diferencias de carga viral individuales frente a la media (log_{10} UI/ml) en la población TOS (**cobas**® CMV frente a TaqMan® CMV; muestras clínicas)



DTP = diferencia total permitida; Obs. = observaciones.

Nota: se excluyeron 26 muestras de nueve sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La ilustración únicamente incluye los pares de muestras con pares de resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal superpuesto de ambos ensayos. Los pares de resultados se clasificaron en intervalos de carga viral en función del resultado obtenido con la prueba TaqMan® CMV (UI/ml).

Ilustración 11 Gráfico de diferencia total permitida (DTP) de las diferencias de carga viral individuales frente a la media (log_{10} UI/ml) en la población TOS (prueba **cobas**® CMV versus prueba TaqMan® CMV; muestras adicionadas)



DTP = diferencia total permitida; Obs. = observaciones.

Concordancia con muestras negativas

Se analizaron 30 muestras negativas para IgG del CMV con cada ensayo y los resultados se presentan en la Tabla 37.

Tabla 37 Resultados de muestras negativas para IgG del CMV (**cobas**® CMV frente a TaqMan® CMV)

cobas® CMV (UI/ml)	**TaqMan**® **CMV (UI/ml) Diana no detectada**	**TaqMan**® **CMV (UI/ml) < 1,37E+02**	**TaqMan**® **CMV (UI/ml) ≥ 1,37E+02**	**TaqMan**® **CMV (UI/ml) Total**
Diana no detectada	30	0	0	30
< 1,37E+02	0	0	0	0
≥ 1,37E+02	0	0	0	0
Total	30	0	0	30

Nota: el límite de cuantificación inferior (LLoQ) es de 1,37E+02 UI/ml para la prueba TaqMan® CMV.

CMV = citomegalovirus; IgG = inmunoglobulina G.

Evaluación clínica del rendimiento: población de trasplantados con células madre hematopoyéticas (CMH)

El estudio se diseñó para evaluar la concordancia entre las pruebas **cobas**® CMV y COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV en una población de trasplantados con células madre hematopoyéticas (CMH). Se analizaron muestras residuales de la fase 2 de un ensayo clínico aleatorio doble ciego y multicentro controlado por placebo con dosis variadas de brincidofovir para la profilaxis del CMV[21].

Se analizaron todas las muestras evaluables obtenidas a lo largo del tiempo de un total de 258 sujetos. Se secuenciaron las regiones diana del ensayo para las muestras con una desviación > 0,5 $\log_{10}$ UI/ml entre los dos ensayos, así como un conjunto representativo de muestras sin desviación de medición. Las secuencias asociadas con una desviación media > 0,9 $\log_{10}$ UI/ml se definieron como de "impacto significativo". Solamente se identificaron secuencias de impacto significativo sobre las dianas de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

Tabla 38 resumen las características demográficas y clínicas iniciales de los 258 sujetos.

Tabla 38 Características demográficas y clínicas iniciales de los sujetos CMH

Características	Grupos	Estadística
Número total de sujetos	Total, n	258
Edad (años)	Media ± SD	51 ± 12,3
Edad (años)	Mediana	51
Edad (años)	Intervalo	21-71
Sexo, n (%)	Hombres	144 (55,8 %)
Sexo, n (%)	Mujeres	114 (44,2 %)
Etnia, n (%)	Hispanos/Latinos	24 (9,3 %)
Etnia, n (%)	No hispanos/No latinos	230 (89,1 %)
Etnia, n (%)	Desconocido	4 (1,6 %)
Raza, n (%)	Asiático	15 (5,8 %)
Raza, n (%)	Negro/Afroamericano	10 (3,9 %)
Raza, n (%)	Blanco	228 (88,4 %)
Raza, n (%)	Otros	5 (1,9 %)
Brazo de estudio, n (%)	Régimen profiláctico del CMV	164 (63,6 %)
Brazo de estudio, n (%)	Placebo	61 (23,6 %)
Brazo de estudio, n (%)	Error de cribado	33 (12,8 %)

Nota: un sujeto cuya información no estaba disponible o no se había comunicado se categorizó como "Desconocido" para la característica correspondiente. En la categoría del régimen profiláctico del CMV para el brazo de estudio se incluyen las cohortes siguientes: cohorte 1 de tratamiento CMX001, cohorte 2 de tratamiento CMX001, cohorte 3 de tratamiento CMX001 y cohorte 4 de tratamiento CMX001.

CMV = citomegalovirus; SD = desviación estándar.

Concordancia clínica en la población CMH

Concordancia en la fase inicial según los umbrales de carga viral

La Tabla 39 muestra la concordancia entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir del umbral de diana no detectada en la fase inicial para los sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

Tabla 39 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir del umbral de diana no detectada en la población CMH

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	TaqMan® CMV Diana no detectada	TaqMan® CMV Detectada	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)
Diana no detectada	11	0	11	100,0 % (71,5 %, 100,0 %)
Detectada	8*	48	56	85,7 % (73,8 %, 93,6 %)
Total	19	48	67	-
Concordancia de columnas (IC exacto del 95 %)	57,9 % (33,5 %, 79,7 %)	100,0 % (92,6 %, 100,0 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	88,1 % (77,8 %, 94,7 %)	-	-	-
Valor p[a]	0,0078	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial para sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

* 1 de las 8 muestras discrepantes pertenecía a un sujeto con un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Calculado mediante la prueba de McNemar.

IC = intervalo de confianza.

Tabla 40 muestra la concordancia entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir de un umbral 1,37E+02 UI/ml en la fase inicial para los sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

Tabla 40 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir del umbral 1,37E+02 UI/ml en la población CMH

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	**TaqMan® CMV < 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log_{10} UI/ml)**	**TaqMan® CMV ≥ 1,37E+02 UI/ml (≥ 2,137 log_{10} UI/ml)**	**Total**	**Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)**
< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log_{10} UI/ml)	36	1	37	97,3 % (85,8 %, 99,9 %)
≥ 1,37E+02 UI/ml (≥ 2,137 log_{10} UI/ml)	1	29	30	96,7 % (82,8 %, 99,9 %)
Total	37	30	67	-
Concordancia de columnas (IC exacto del 95 %)	97,3 % (85,8 %, 99,9 %)	96,7 % (82,8 %, 99,9 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	97,0 % (89,6 %, 99,6 %)	-	-	-
Valor p[a]	1,0000	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial para sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

La muestra con un resultado "Diana no detectada" o una carga viral detectable inferior a 1,37E+02 UI/ml se categoriza como "< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log_{10} UI/ml)".

0 de las 2 muestras discrepantes pertenecía a un sujeto con un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1,0E+00 UI/ml = 1,1 copias/ml.

IC = intervalo de confianza.

Tabla 41 muestra la concordancia entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir de un umbral 5,0E+02 UI/ml en la fase inicial para los sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

Tabla 41 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir del umbral 5,0E+02 UI/ml en la población CMH

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	**TaqMan® CMV < 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log_{10} UI/ml)**	**TaqMan® CMV ≥ 5,0E+02 UI/ml (≥ 2,699 log_{10} UI/ml)**	**Total**	**Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)**
< 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log_{10} UI/ml)	43	1	44	97,7 % (88,0 %, 99,9 %)
≥ 5,0E+02 UI/ml (≥ 2,699 log_{10} UI/ml)	0	23	23	100,0 % (85,2 %, 100,0 %)
Total	43	24	67	-
Concordancia de columnas (IC exacto del 95 %)	100,0 % (91,8 %, 100,0 %)	95,8 % (78,9 %, 99,9 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	98,5 % (92,0 %, 100,0 %)	-	-	-
Valor p[a]	1,0000	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial para sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

La muestra con un resultado "Diana no detectada" o una carga viral detectable inferior a 5,0E+02 UI/ml se categoriza como "< 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log_{10} UI/ml)".

0 de 1 muestra discrepante pertenecía a un sujeto con un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1,0E+00 UI/ml = 1,1 copias/ml.

IC = intervalo de confianza.

Tabla 42 muestra la concordancia entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir de un umbral 1,8E+03 UI/ml en la fase inicial para los sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

Tabla 42 Análisis de concordancia de los resultados de las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir del umbral 1,8E+03 UI/ml en la población CMH

Fase inicial de la prueba cobas® CMV	TaqMan® CMV < 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	TaqMan® CMV ≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)
< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	48	0	48	100,0 % (92,6 %, 100,0 %)
≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	2	17	19	89,5 % (66,9 %, 98,7 %)
Total	50	17	67	-
Concordancia de columnas (IC exacto del 95 %)	96,0 % (86,3 %, 99,5 %)	100,0 % (80,5 %, 100,0 %)	-	-
Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	97,0 % (89,6 %, 99,6 %)	-	-	-
Valor p[a]	0,5000	-	-	-

Nota: en la tabla solo se incluyen pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en la fase inicial para sujetos que han iniciado un tratamiento contra el CMV.

La muestra con un resultado "Diana no detectada" o una carga viral detectable inferior a 1,8E+03 UI/ml se categoriza como "< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 $\log_{10}$ UI/ml)".

0 de las 2 muestras discrepantes pertenecía a un sujeto con un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Calculado mediante la prueba de McNemar.

1,0E+00 UI/ml = 1,1 copias/ml; 1,8E+03 UI/ml = 2.000 copias/ml.

IC = intervalo de confianza.

Resolución del análisis del episodio CMV

Tabla 43 muestra los análisis de concordancia de la resolución del episodio de CMV por punto temporal para sujetos virémicos que han iniciado el tratamiento contra el CMV.

Tabla 43 Análisis de concordancia de la resolución del episodio de CMV por punto temporal para sujetos CMH virémicos que han iniciado el tratamiento contra el CMV

Punto temporal	cobas® CMV	TaqMan® CMV Resolución del episodio CMV[a]	TaqMan® CMV No resolución del episodio CMV	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)
Día 14	Resolución del episodio CMV[a]	0	0	0	NC
Día 14	No resolución del episodio CMV	0	14	14	100,0 % (76,8 %, 100,0 %)
Día 14	Total	0	14	14	-
Día 14	Concordancia de columnas (IC exacto del 95 %)	NC	100,0 % (76,8 %, 100,0 %)	-	-
Día 14	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	100,0 % (76,8 %, 100,0 %)	-	-	-
Día 21	Resolución del episodio CMV[a]	1	0	1	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)
Día 21	No resolución del episodio CMV	0	12	12	100,0 % (73,5 %, 100,0 %)
Día 21	Total	1	12	13	-

Punto temporal	cobas® CMV	TaqMan® CMV Resolución del episodio CMV[a]	TaqMan® CMV No resolución del episodio CMV	Total	Concordancia de filas (IC exacto del 95 %)
Día 21	Concordancia de columnas (IC exacto del 95 %)	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)	100,0 % (73,5 %, 100,0 %)	-	-
Día 21	Porcentaje de concordancia global (IC exacto del 95 %)	100,0 % (75,3 %, 100,0 %)	-	-	-
Día 28	Resolución del episodio CMV[a]	2	0	2	100,0 % (15,8 %, 100,0 %)
Día 28	No resolución del episodio CMV	0	7	7	100,0 % (59,0 %, 100,0 %)
Día 28	Total	2	7	9	-
Día 28	Concordancia de columna	100,0 % (15,8 %, 100,0 %)	100,0 % (59,0 %, 100,0 %)		-
Día 28	Porcentaje de concordancia global	100,0 % (66,4 %, 100,0 %)	-	-	-
Día 49	Resolución del episodio CMV[a]	3	0	3	100,0 % (29,2 %, 100,0 %)
Día 49	No resolución del episodio CMV	0	1	1	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)
Día 49	Total	3	1	4	-
Día 49	Concordancia de columna	100,0 % (29,2 %, 100,0 %)	100,0 % (2,5 %, 100,0 %)	-	-
Día 49	Porcentaje de concordancia global	100,0 % (39,8 %, 100,0 %)	-	-	-

Nota: en esta tabla solo se han incluido sujetos con pares de resultados evaluables para el análisis de la concordancia clínica en el día 14, 21, 28 o 49 posterior el inicio del tratamiento contra el CMV y con un estado de resolución disponible para cada ensayo. Dos de los sujetos tenían una resolución del episodio de CMV en ambos ensayos en el día 28 y sus estados de resolución se trasladaron hasta el día 49. Ninguno de los sujetos incluidos en el análisis presentó un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

[a] Resolución del episodio CMV definida por 2 muestras consecutivas (preferiblemente muestras con una semana de diferencia) analizadas y que generaron un resultado por debajo del LLoQ de la prueba TaqMan® CMV (137 UI/ml), valor coherente con las recomendaciones de las directrices actuales; es decir, se recomiendan 2 muestras "negativas" consecutivas como punto final de carga viral para el tratamiento de episodios crónicos de CMV.

CMV = citomegalovirus. NC = no calculable.

Tabla 44 muestra las concordancias de porcentaje global del análisis de concordancia de la resolución del episodio de CMV entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV para sujetos virémicos en el día 14, día 21, día 28 y día 49. El valor de CPG se estimó como el 100 % para todos los puntos temporales de interés. Es decir, se cumple el criterio de aceptación de la CPG.

Tabla 44 Porcentaje de concordancia global del análisis de concordancia de la resolución del episodio de CMV para sujetos CMH virémicos que han iniciado un tratamiento contra el CMV

Punto temporal	Porcentaje de concordancia global No resuelto	Porcentaje de concordancia global Resuelto	Porcentaje de concordancia global	IC exacto del 95 % Porcentaje de concordancia global
Día 14	100,0 % (14/14)	NC	100,0 % (14/14)	(76,8 %, 100,0 %)
Día 21	100,0 % (12/12)	100,0 % (1/1)	100,0 % (13/13)	(75,3 %, 100,0 %)
Día 28	100,0 % (7/7)	100,0 % (2/2)	100,0 % (9/9)	(66,4 %, 100,0 %)
Día 49	100,0 % (1/1)	100,0 % (3/3)	100,0 % (4/4)	(39,8 %, 100,0 %)

Nota: dos de los sujetos tenían una resolución del episodio de CMV en ambos ensayos en el día 28 y sus estados de resolución se trasladaron hasta el día 49. Ninguno de los sujetos incluidos en el análisis presentó un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. Resolución del episodio CMV definida por 2 muestras consecutivas (preferiblemente muestras con una semana de diferencia) analizadas y que generaron un resultado por debajo del LLoQ de la prueba TaqMan® CMV (1,37E+02 UI/ml), valor coherente con las recomendaciones de las directrices actuales; es decir, se recomiendan 2 muestras "negativas" consecutivas como punto final de carga viral para el tratamiento de episodios crónicos de CMV.

CMV = citomegalovirus; LLoQ = límite de cuantificación inferior; NC = no calculable.

Concordancias globales de los niveles de carga viral

Tabla 45 muestra la concordancia global de los resultados de la carga viral entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV para los 1.367 pares de muestras del estudio de concordancia clínica.

Tabla 45 Concordancia global entre los resultados de carga viral de la prueba **cobas**® CMV y TaqMan® CMV en la población CMH

Todos los pares de muestras cobas® CMV (log_{10} UI/ml)	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) Diana no detectada	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) < 2,137	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 2,137 a < 2,699	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 2,699 a < 3,255	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) De 3,255 a < 3,899	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) Total
Diana no detectada	918	23	0	0	1	1	943
< 2,137	154	138	9	0	0	0	301
De 2,137 a < 2,699	0	13	24	5	0	0	42
De 2,699 a < 3,255	1*	1	17	17	0	0	36
De 3,255 a 3,899	0	0	0	8	16	1	25
> 3,899	0	0	0	0	10	10	20
Total	1.073	175	50	30	27	12	1.367

Nota: en la tabla se incluyen todos los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica. El límite de cuantificación inferior (LLoQ) es 3,45E+01 UI/ml para la prueba **cobas**® CMV y de 1,37E+02 UI/ml para la prueba TaqMan® CMV. Los resultados se categorizaron en uno de los cinco intervalos de carga viral del resultado en UI/ml de cada ensayo correspondiente.

En la tabla se incluyen siete muestras de tres sujetos con desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

* La muestra es de un sujeto con un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

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

Tabla 46 muestra un resumen de la concordancia de los resultados de la carga viral para todos los pares de muestras de pacientes CMH a partir de umbrales distintos (Diana no detectada, 137 UI/ml, 500 UI/ml y 1.800 UI/ml).

Tabla 46 Resumen de concordancia de los resultados de carga viral para pacientes CMH con diferentes umbrales (todos los pares de muestras)

Umbral	**Porcentaje de concordancia < umbral** del IC exacto del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia ≥ umbral** del IC exacto del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia global** IC exacto del 95 % (n/N)
Diana no detectada	**85,6 %** (83,3 %, 87,6 %) (918/1073)	**91,5 %** (87,7 %, 94,4 %) (269/294)	**86,8 %** (84,9 %, 88,6 %) (1187/1367)
1,37E+02 UI/ml ($2{,}137\ \log_{10}$ UI/ml)	**98,8 %** (98,0 %, 99,3 %) (1233/1248)	**90,8 %** (84,1 %, 95,3 %) (108/119)	**98,1 %** (97,2 %, 98,8 %) (1341/1367)
5,0E+02 UI/ml ($2{,}699\ \log_{10}$ UI/ml)	**98,5 %** (97,7 %, 99,1 %) (1279/1298)	**89,9 %** (80,2 %, 95,8 %) (62/69)	**98,1 %** (97,2 %, 98,8 %) (1341/1367)
1,8E+03 UI/ml ($3{,}255\ \log_{10}$ UI/ml)	**99,4 %** (98,8 %, 99,7 %) (1320/1328)	**94,9 %** (82,7 %, 99,4 %) (37/39)	**99,3 %** (98,7 %, 99,6 %) (1357/1367)

Nota: en la tabla se incluyen todos los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica. El LoD de la prueba **cobas**® CMV es 3,45E+01 UI/ml. El LoD de la prueba TaqMan® CMV es 1,37E+02 UI/ml.

Los intervalos de confianza (IC) del 95 % se calcularon por el método exacto asumiendo independencia entre todas las muestras.

1 UI/ml = 1,1 copias/ml; LoD = límite de detección.

Tabla 47 muestra la concordancia global de los resultados de carga viral entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV para muestras obtenidas de pacientes que han iniciado el tratamiento contra el CMV en puntos temporales de interés definidos por protocolo posteriores al inicio del tratamiento contra el CMV.

Tabla 47 Concordancia global de cargas virales entre las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV a partir de muestras en puntos temporales de interés posteriores al inicio del tratamiento contra el CMV en la población CMH

Todos los puntos temporales cobas® CMV ($\log_{10}$ UI/ml)	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) Diana no detectada**	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) < 2,137**	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) De 2,137 a < 2,699**	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) De 2,699 a < 3,255**	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) De 3,255 a < 3,899**	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) ≥ 3,899**	**TaqMan® CMV ($\log_{10}$ UI/ml) Total**
Diana no detectada	17	1	0	0	0	0	18
< 2,137	10	8	0	0	0	0	18
De 2,137 a < 2,699	0	0	0	0	0	0	0
De 2,699 a < 3,255	1*	0	2	2	0	0	5
De 3,255 a 3,899	0	0	0	2	0	0	2
> 3,899	0	0	0	0	1	1	2
Total	28	9	2	4	1	1	45

Nota: en la tabla solo se incluyen los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica en determinados puntos temporales (día 14, día 21, día 28 o día 49). El límite de cuantificación inferior (LLoQ) es 3,45E+01 UI/ml para la prueba **cobas**® CMV y de 1,37E+02 UI/ml para la prueba TaqMan® CMV. Los resultados se categorizaron en uno de los cinco intervalos de carga viral del resultado en UI/ml de cada ensayo correspondiente.

* La muestra es de un sujeto con un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

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

Tabla 48 muestra un resumen de la concordancia de los resultados de la carga viral para los pares de muestras en puntos temporales de interés posteriores al inicio de tratamiento contra el CMV en pacientes CMH a partir de umbrales distintos (Diana no detectada, 137 UI/ml, 500 UI/ml y 1.800 UI/ml).

Tabla 48 Resumen de concordancia de los resultados de carga viral para pacientes CMH con diferentes umbrales (muestras en puntos temporales de interés posteriores al inicio del tratamiento contra el CMV)

Umbral	**Porcentaje de concordancia < umbral** del IC exacto del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia ≥ umbral** del IC exacto del 95 % (n/N)	**Porcentaje de concordancia global** IC exacto del 95 % (n/N)
Diana no detectada	**60,7 %** (40,6 %, 78,5 %) (17/28)	**94,1 %** (71,3 %, 99,9 %) (16/17)	**73,3 %** (58,1 %, 85,4 %) (33/45)
1,37E+02 UI/ml (2,137 $\log_{10}$ UI/ml)	**97,3 %** (85,8 %, 99,9 %) (36/37)	**100,0 %** (63,1 %, 100,0 %) (8/8)	**97,8 %** (88,2 %, 99,9 %) (44/45)
5,0E+02 UI/ml (2,699 $\log_{10}$ UI/ml)	**92,3 %** (79,1 %, 98,4 %) (36/39)	**100,0 %** (54,1 %, 100,0 %) (6/6)	**93,3 %** (81,7 %, 98,6 %) (42/45)
1,8E+03 UI/ml (3,255 $\log_{10}$ UI/ml)	**95,3 %** (84,2 %, 99,4 %) (41/43)	**100,0 %** (15,8 %, 100,0 %) (2/2)	**95,6 %** (84,9 %, 99,5 %) (43/45)

Nota: en la tabla se incluyen todos los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica. El LoD de la prueba **cobas**® CMV es 3,45E+01 UI/ml. El LoD de la prueba TaqMan® CMV es 1,37E+02 UI/ml.

Los intervalos de confianza (IC) del 95 % se calcularon por el método exacto asumiendo independencia entre todas las muestras.

1 UI/ml = 1,1 copias/ml; LoD = límite de detección.

Comparación de métodos en la población con trasplante de células madre hematopoyéticas (CMH)

Se realizó un estudio de comparación de métodos para evaluar el rendimiento de la prueba **cobas**® CMV en comparación con otra prueba de carga viral del CMV aprobada por la FDA, la prueba TaqMan® CMV para la población trasplantada con células madre hematopoyéticas (CMH). El estudio utilizó 204 pares de muestras que incluían 107 muestras positivas para CMV pertenecientes a la fase 2 del ensayo profiláctico para CMV mencionado anteriormente, a las que se añadieron 97 muestras adicionadas con plasma negativo de pacientes CMH con cultivo de virus CMV (cepa Merlin).

Tabla 49 presenta las estimaciones de parámetros de regresión de Deming de resultados de carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y de la prueba TaqMan® CMV por tipo de muestra.

Tabla 49 Estimaciones de parámetros de la regresión de Deming de cargas virales (log_{10} UI/ml) entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV en la población CMH por tipo de muestra

Tipo de muestra	Número de pares de muestras	Parámetro	Estimación de parámetro	Error estándar	IC del 95 %[a] IC bootstrap del 95 %[b]	r
Clínicas y adicionadas	204	Punto de intersección	0,145 0,172*	0,041	(0,064, 0,227) (0,132, 0,219)	0,99
Clínicas y adicionadas	204	Pendiente	0,990 0,982*	0,009	(0,972, 1,008) (0,972, 0,990)	0,99
Clínicas	107	Punto de intersección	–0,146 –0,188*	0,106	(–0,356, 0,064) (–0,462, –0,008)	0,96
Clínicas	107	Pendiente	1,110 1,125*	0,034	(1,041, 1,178) (1,066, 1,217)	0,96
Adicionadas	97	Punto de intersección	–0,097 N/A	0,063	(–0,223, 0,028) N/A	0,99
Adicionadas	97	Pendiente	1,025 N/A	0,012	(1,000, 1,049) N/A	0,99

Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La tabla únicamente incluye los pares de muestras clínicas y adicionadas con resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal común de ambos ensayos.

[a] Independencia asumida entre todas las muestras.

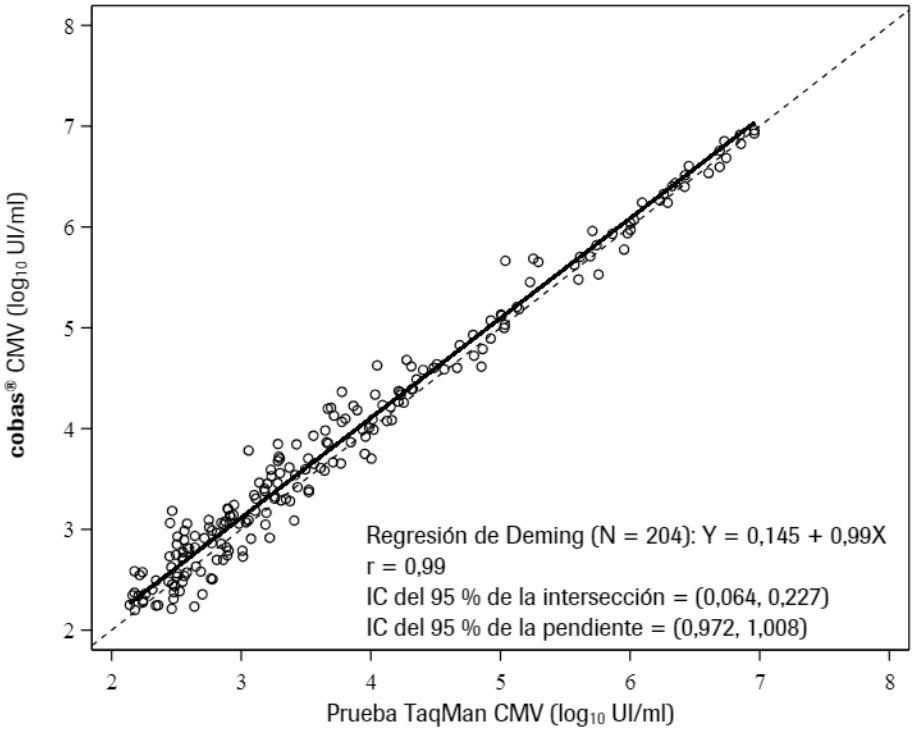
[b] Correlación ajustada entre muestras de un mismo sujeto mediante el método bootstrap con 500 iteraciones.

* Indica el percentil 50 de la distribución según el método bootstrap de las estimaciones de parámetros.

IC = intervalo de confianza; **cobas**® CMV = **cobas**® CMV para uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems; N/A = no aplicable; r = coeficiente de correlación.

Ilustración 12 presenta el gráfico de la regresión de Deming para los resultados de la carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV de muestras clínicas y adicionadas combinadas.

Ilustración 12 Gráfico de la regresión lineal de Deming para cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población CMH (muestras clínicas y adicionadas)

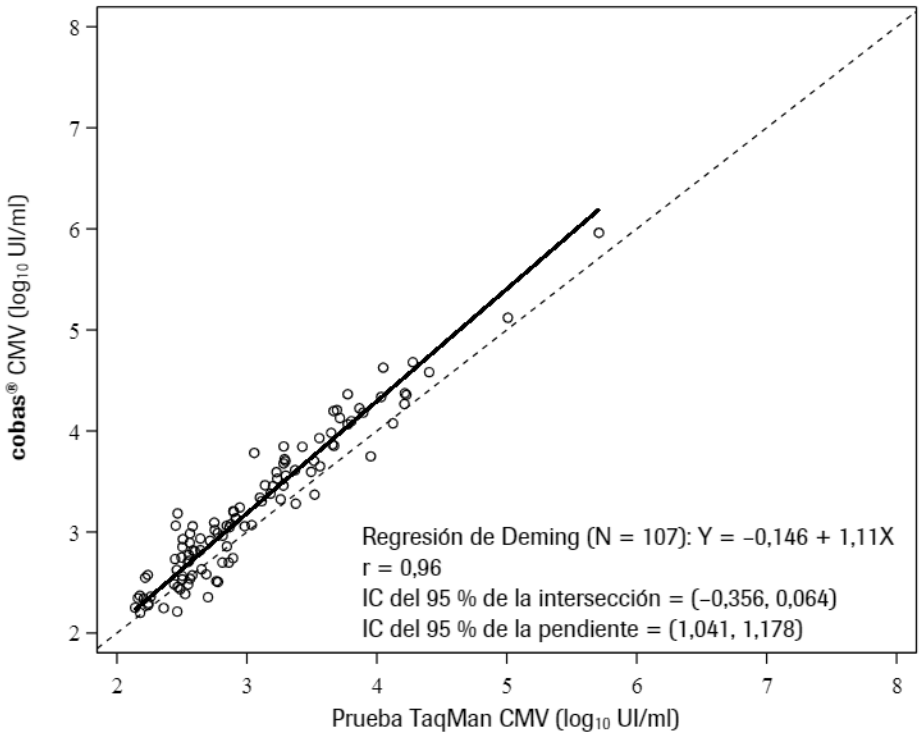


Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

IC = intervalo de confianza; r = coeficiente de correlación.

Ilustración 13 presenta el gráfico de la regresión de Deming para los resultados de la carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV de muestras clínicas.

Ilustración 13 Gráfico de la regresión lineal de Deming para cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población CMH (muestras clínicas)

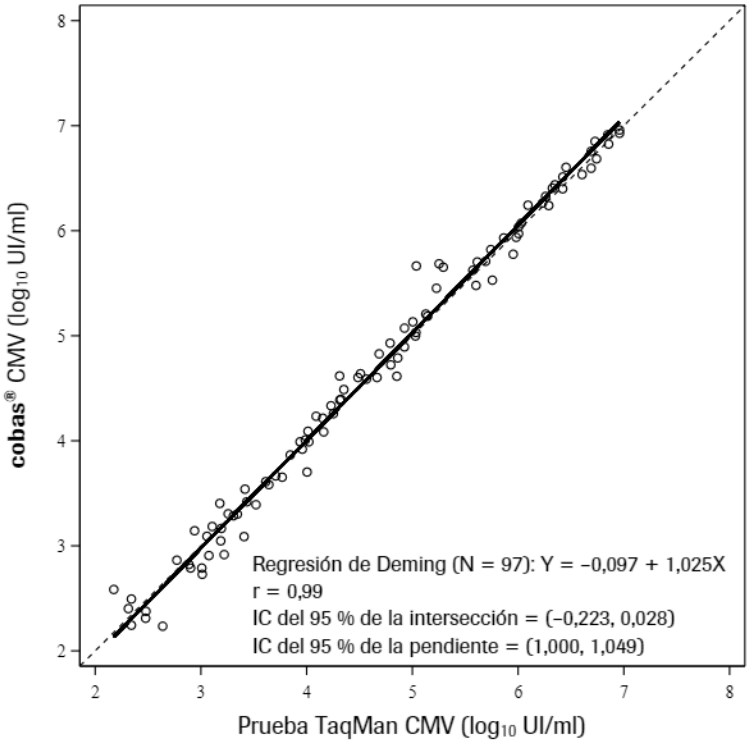


Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

IC = intervalo de confianza; r = coeficiente de correlación.

Ilustración 14 presenta el gráfico de la regresión de Deming para los resultados de la carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV con muestras adicionadas.

Ilustración 14 Gráfico de la regresión lineal de Deming de cargas virales (log_{10} UI/ml) en la población CMH (muestras adicionadas)



IC = intervalo de confianza; r = coeficiente de correlación.

Sesgo en los niveles de carga viral seleccionados

Tabla 50 muestra el sesgo entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV en cinco niveles de carga viral seleccionados entre 2,14 log_{10} UI/ml y 7,00 log_{10} UI/ml con equivalentes no transformados asociados.

Tabla 50 Sesgo entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV (log_{10} UI/ml) en cinco niveles de carga viral seleccionados en la población CMH (muestras clínicas y adicionadas)

Tipo de muestra	Nivel de carga viral (por prueba TaqMan® CMV)	Diferencia sistemática entre la prueba cobas® CMV y la prueba TaqMan® CMV
Clínicas y adicionadas	2,137 log_{10} UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,124 log_{10} UI/ml (4,51E+01 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	2,699 log_{10} UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,118 log_{10} UI/ml (1,56E+02 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	3,255 log_{10} UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,112 log_{10} UI/ml (5,32E+02 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	4,000 log_{10} UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,105 log_{10} UI/ml (2,74E+03 UI/ml)
Clínicas y adicionadas	7,000 log_{10} UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,075 log_{10} UI/ml (1,89E+06 UI/ml)
Clínicas	2,137 log_{10} UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,089 log_{10} UI/ml (3,12E+01 UI/ml)
Clínicas	2,699 log_{10} UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,151 log_{10} UI/ml (2,08E+02 UI/ml)
Clínicas	3,255 log_{10} UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,212 log_{10} UI/ml (1,13E+03 UI/ml)
Clínicas	4,000 log_{10} UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,294 log_{10} UI/ml (9,68E+03 UI/ml)
Clínicas	7,000 log_{10} UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,624 log_{10} UI/ml (3,21E+07 UI/ml)
Adicionadas	2,137 log_{10} UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	–0,044 log_{10} UI/ml (–1,31E+01 UI/ml)
Adicionadas	2,699 log_{10} UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	–0,030 log_{10} UI/ml (–3,29E+01 UI/ml)
Adicionadas	3,255 log_{10} UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	–0,016 log_{10} UI/ml (–6,36E+01 UI/ml)
Adicionadas	4,000 log_{10} UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,003 log_{10} UI/ml (6,93E+01 UI/ml)
Adicionadas	7,000 log_{10} UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,078 log_{10} UI/ml (1,97E+06 UI/ml)

Media de la diferencia de los pares

Tabla 51 muestra la estimación de sesgo como la media observada de la diferencia de carga viral de pares de muestras por tipo de muestra. El sesgo sistemático global se estimó en 0,107 log_{10} UI/ml de promedio en la totalidad del intervalo lineal común para muestras clínicas y adicionadas. La tabla también muestra la estimación del sesgo estratificada por intervalos de decisión representativos.

Tabla 51 Media de la diferencia de carga viral (log_{10} UI/ml) de los pares de muestras entre la prueba **cobas**® CMV y la prueba TaqMan® CMV en los intervalos de decisión representativos (UI/ml) en la población CMH por tipo de muestra

Tipo de muestra	Intervalos de decisión representativos (UI/ml)[a]	N	Media de la diferencia de los pares (log_{10} UI/ml)	ES para la media de la diferencia de los pares (log_{10} UI/ml)	IC del 95 % (log_{10} UI/ml)
Clínicas y adicionadas	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	98	0,126	0,023	(0,080, 0,171)
Clínicas y adicionadas	De 2,0E+03 a < 2,0E+04	49	0,121	0,032	(0,058, 0,184)
Clínicas y adicionadas	De 2,0E+04 a < 1,0E+05	16	0,061	0,033	(–0,009, 0,131)
Clínicas y adicionadas	De 1,0E+05 a 9,1E+06	41	0,062	0,024	(0,013, 0,110)
Clínicas y adicionadas	Global	204	0,107	0,014	(0,078, 0,135)
Clínicas	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	77	0,170	0,024	(0,122, 0,219)
Clínicas	De 2,0E+03 a < 2,0E+04	27	0,241	0,041	(0,157, 0,326)
Clínicas	De 2,0E+04 a < 1,0E+05	1	0,178	-	-
Clínicas	De 1,0E+05 a 9,1E+06	2	0,181	0,070	(–0,705, 1,068)
Clínicas	Global	107	0,188	0,021	(0,148, 0,229)
Adicionadas	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	21	–0,037	0,043	(–0,127, 0,053)
Adicionadas	De 2,0E+03 a < 2,0E+04	22	–0,027	0,025	(–0,079, 0,025)
Adicionadas	De 2,0E+04 a < 1,0E+05	15	0,053	0,034	(–0,020, 0,126)
Adicionadas	De 1,0E+05 a 9,1E+06	39	0,056	0,025	(0,006, 0,106)
Adicionadas	Global	97	0,017	0,016	(–0,015, 0,048)

Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La tabla únicamente incluye los pares de muestras clínicas y adicionadas combinadas con resultados entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal común de ambos ensayos. Los pares de resultados se clasificaron en intervalos relevantes médicamente en función del resultado obtenido con la prueba TaqMan® CMV (UI/ml).

IC = intervalo de confianza.; N = número de pares de muestras; ES = error estándar.

[a] Intervalos de decisión representativos equivalentes (UI/ml) para el intervalo de 1,37E+02 a < 2,0E+03 (UI/ml) = de 2,137 a < 3,301 (log_{10} UI/ml), de 2,0E+03 a < 2,0E+04 (UI/ml) = de 3,301 a < 4,301 (log_{10} UI/ml), de 2,0E+04 a < 1,0E+05 (UI/ml) = de 4,301 a < 5,000 (log_{10} UI/ml) y de ≥ 1,0E+05 (UI/ml) = ≥ 5,000 (log_{10} UI/ml).

Diferencia total permitida

Tabla 52 muestra el porcentaje de resultados comprendidos en los intervalos bajo, medio y alto de la zona de diferencia total permitida por tipo de muestra.

Tabla 52 Porcentaje de muestras en los intervalos bajo, medio y alto de la zona de diferencia total permitida en la población CMH por tipo de muestra

Tipo de muestra	Categoría del intervalo	Rango del intervalo (UI/ml)[a]	Porcentaje de muestras dentro de la zona de DTP
Clínicas y adicionadas	Bajo	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	98,9 % (88/89)
Clínicas y adicionadas	Medio	De 2,0E+03 a < 8,0E+03	93,9 % (31/33)
Clínicas y adicionadas	Alto	De 8,0E+03 a 9,1E+06	98,8 % (81/82)
Clínicas y adicionadas	Global	-	98,0 % (200/204)
Clínicas	Bajo	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	98,5 % (65/66)
Clínicas	Medio	De 2,0E+03 a < 8,0E+03	91,3 % (21/23)
Clínicas	Alto	De 8,0E+03 a 9,1E+06	100,0 % (18/18)
Clínicas	Global	-	97,2 % (104/107)
Adicionadas	Bajo	De 1,37E+02 a < 2,0E+03	100,0 % (23/23)
Adicionadas	Medio	De 2,0E+03 a < 8,0E+03	100,0 % (10/10)
Adicionadas	Alto	De 8,0E+03 a 9,1E+06	98,4 % (63/64)
Adicionadas	Global	-	99,0 % (96/97)

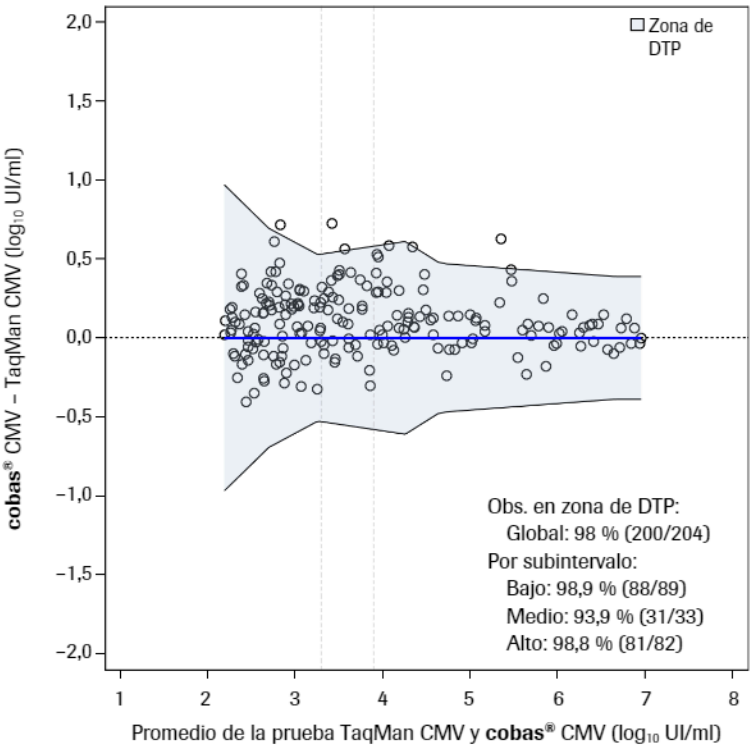
Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo. La tabla únicamente incluye los pares de muestras con resultados comprendidos entre 1,37E+02 UI/ml y 9,1E+06 UI/ml, el rango lineal común de ambos ensayos. Los pares de resultados se clasificaron en intervalos en función del resultado obtenido con la prueba TaqMan® CMV (UI/ml).

DTP = diferencia total permitida.

[a] Los intervalos relevantes médicamente (UI/ml) equivalentes a de 1,37E+02 a < 2,0E+03, de 2,0E+03 a < 8,0E+03 y de 8,0E+03 a 9,1E+06 en $\log_{10}$ UI/ml son, respectivamente, de 2,137 a < 3,301, de 3,301 a < 3,903 y de 3,903 a 6,959.

Ilustración 15 presenta el gráfico de la diferencia total permitida de los resultados de carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y de la prueba TaqMan® CMV para las muestras clínicas y adicionadas combinadas.

Ilustración 15 Gráfico de la diferencia total permitida (DTP) de la diferencia de carga viral (log_{10} UI/ml) en la población CMH (muestras clínicas y adicionadas)

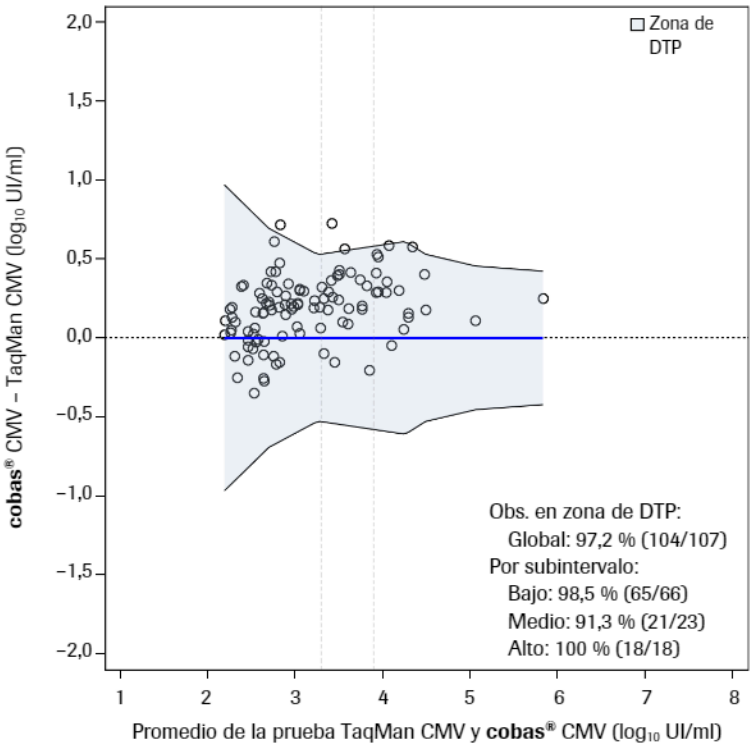


Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

DTP = diferencia total permitida; Obs. = observaciones.

Ilustración 16 presenta el gráfico de la diferencia total permitida de los resultados de carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y de la prueba TaqMan® CMV para las muestras clínicas.

Ilustración 16 Gráfico de la diferencia total permitida (DTP) de la diferencia de carga viral (log_{10} UI/ml) en la población CMH (muestras clínicas)

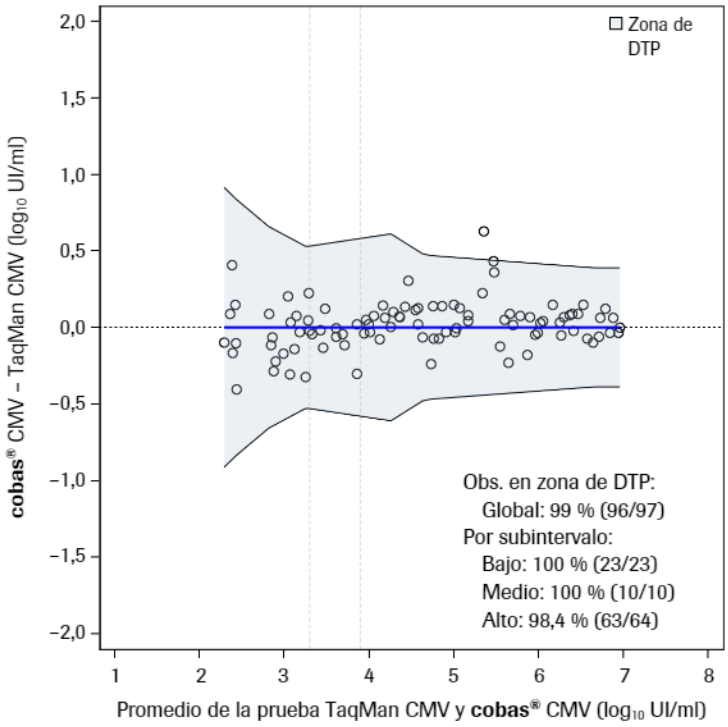


Nota: se excluyeron siete muestras de tres sujetos de los análisis de comparación de métodos a causa de un desapareamiento de secuencias de impacto significativo.

DTP = diferencia total permitida; Obs. = observaciones.

Ilustración 17 presenta el gráfico de la diferencia total permitida de los resultados de carga viral (log_{10} UI/ml) de la prueba **cobas**® CMV y de la prueba TaqMan® CMV para las muestras adicionadas.

Ilustración 17 Gráfico de la diferencia total permitida (DTP) de la diferencia de carga viral (log_{10} UI/ml) en la población CMH (muestras adicionadas)



DTP = diferencia total permitida; Obs. = observaciones.

Concordancia con muestras negativas

Se analizaron 30 muestras negativas para IgG del CMV de pacientes CMH con cada ensayo y los resultados se presentan en la Tabla 53 siguiente.

Tabla 53 Resultados de muestras negativas para IgG del CMV analizadas con las pruebas **cobas**® CMV y TaqMan® CMV

cobas® CMV	**TaqMan® CMV Diana no detectada**	**TaqMan® CMV < 1,37E+02 UI/ml**	**TaqMan® CMV ≥ 1,37E+02 UI/ml**	**Total**
Diana no detectada	30	0	0	30
< 1,37E+02 UI/ml	0	0	0	0
≥ 1,37E+02 UI/ml	0	0	0	0
Total	30	0	0	30

Nota: el límite de cuantificación inferior es de 34,5 UI/ml para la prueba **cobas**® CMV y de 1,37E+02 UI/ml para la prueba TaqMan® CMV.
IgG = inmunoglobulina G.

Conclusión

La prueba **cobas**® CMV cuantifica el nivel de ADN de CMV en muestras de plasma conservado en EDTA con una buena concordancia con respecto a la prueba TaqMan® CMV aprobada por la FDA. Los resultados de estos estudios demostraron la concordancia clínica de la prueba **cobas**® CMV con respecto a la prueba TaqMan® CMV cuando se utiliza para el control del tratamiento en pacientes trasplantados de órganos sólidos y en pacientes que han recibido trasplantes de células madre hematopoyéticas.

Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas

La equivalencia entre los **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 y los **cobas**® 8800 Systems se demostró a partir de estudios de rendimiento.

Los resultados incluidos en las Instrucciones de uso hacen patente la equivalencia de rendimiento entre todos los sistemas.

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma conservado en EDTA
Cantidad mínima de muestra necesaria	500 µl*
Volumen de procesamiento de muestras	350 µl
Sensibilidad analítica	34,5 UI/ml
Intervalo lineal	De 34,5 UI/ml a 1E+07 UI/ml
Especificidad	100 %
Genotipos detectados	Genotipos de glicoproteína B 1-4 de CMV
Muestras de CMV resistentes a fármacos detectadas	Muestras de CMV resistentes a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir y Foscarnet

* Volumen muerto de 0,15o ml identificado para los tubos secundarios **cobas® omni**. Otros tubos compatibles con **cobas®** 5800/6800/8800 Systems (consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario) pueden tener un volumen muerto distinto y requerir más o menos volumen mínimo.

Símbolos

Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

Tabla 54 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

Age/DOB Edad o fecha de nacimiento	Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	QS IU/PCR UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
SW Software auxiliar	Dispositivo no apto para autoexamen	
Assigned Range [copies/mL] Intervalo asignado (copias/ml)	Distribuidor *(Nota: el pais o la región se indicará debajo de este símbolo.)*	SN Número de serie
Assigned Range [IU/mL] Intervalo asignado (UI/ml)	No deben reutilizarse	Site Centro
EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea	Mujeres	Procedure Standard Procedimiento estándar
BARCODE Hoja de datos del código de barras	Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	STERILE EO Esterilizado con óxido de etileno
LOT Código de serie	GTIN Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	Almacenar en la oscuridad
Riesgo biológico	Importador	Límite de temperatura
REF Número de catálogo	IVD Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*	TDF Archivo de definición de pruebas
CE Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.	LLR Límite inferior del intervalo asignado	Este lado hacia arriba
	Hombres	Procedure UltraSensitive Procedimiento ultrasensible
Collect Date Fecha de recogida	Fabricante	UDI Identificación exclusiva del dispositivo
Consulte las instrucciones de uso	CONTROL − Control negativo	ULR Límite superior del intervalo asignado
Σ Suficiente para <*n*> pruebas	NON STERILE Sin esterilizar	Urine Fill Line Línea de llenado de orina
CONTENT Contenido del kit	Nombre del paciente	Rx Only Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.
CONTROL Control	Número del paciente	
Fecha de fabricación	Abrir aquí	Fecha de caducidad
Dispositivo para pruebas cerca del paciente	CONTROL + Control positivo	
Dispositivo para autoexamen	QS copies / PCR Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.	

09198997001-04ES

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su afiliada local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabla 55 Fabricante e importador

	Fabricado en los Estados Unidos
	Roche Molecular Systems, Inc. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 USA www.roche.com
	Fabricado en los EE. UU.
	Roche Diagnostics GmbH Sandhofer Strasse 116 68305 Mannheim, Germany

Marcas registradas y patentes

Consulte https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents

Copyright

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografía

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. 6th ed. London: John Wiley and Sons; 2009:161-190.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields Virology, vol. 1. 4th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:2675-2706.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus. Current Topics in Microbiology and Immunology. Springer-Verlag, 2008:297-313.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis*. 1983;5:205-15. PMID: 6302813.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser*. 1989;44:507-34. PMID: 2562249.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:204-10. PMID: 1315617.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:2629-2674.
8. Asberg A, Humar A, Rollag H, et al. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*. 2007;7:2106-13. PMID: 17640310.
9. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. *J Infect Dis*. 2002;186:829-33. PMID: 12198618.
10. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-organ Transplantation. *Transplantation*. 2018;102:900-31. PMID: 29596116.
11. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, et al. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. *J Infect Dis*. 1997;176:1484-90. PMID: 9395358.
12. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:703-27. PMID: 24092851.
13. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol*. 2008;41:237-41. PMID: 18203657.
14. Salmon-Céron D, Mazeron MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:1041-9. PMID: 10853987.
15. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, et al. Quantitative effects of valacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis*. 1999;180:695-701. PMID: 10438356.

16. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS*. 1997;11:889-93. PMID: 9189214.

17. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-87. PMID: 11919489.

18. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68. PMID: 19178413.

19. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev*. 2002;2:155-167.

20. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant*. 2005;5:218-27. PMID: 15643981.

21. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.

22. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.

23. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.

24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.

25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.

26. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF. Accessed March 8, 2021.

27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.

28. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP21-A: Estimation of total analytical error for clinical laboratory methods; approved guideline. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 3.0 09/2022	Se han actualizado la portada y la **tabla 2** y la **tabla 3** con P/N adicionales para los kits de control. Se ha actualizado el apartado **Marcas registradas y patentes**, incluido el enlace. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.
Doc Rev. 4.0 05/2023	Cambio del volumen de muestra mínimo por el nivel original en los apartados **Instrucciones de uso** y **Características principales de la prueba**. Se ha actualizado la frase sobre la autoridad competente. Se ha actualizado la marca **cobas**®. Se han realizado cambios menores en la formulación del texto. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.

Puede consultar el resumen del informe de seguridad y rendimiento en el siguiente enlace: https://ec.europa.eu/tools/eudamed.