

cobas[®] **CMV**

Test quantitativo degli acidi nucleici per l'uso sui cobas[®] 5800/6800/8800 Systems

Per uso diagnostico *in vitro*

cobas[®] CMV

P/N: 09040897190

Per l'utilizzo sul sistema cobas[®] 5800

cobas[®] CMV Control Kit

P/N: 09040919190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 09051554190

Per l'utilizzo sui sistemi cobas[®] 6800/8800

cobas[®] CMV Control Kit

P/N: 07001037190 oppure

P/N: 09040919190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190 oppure

P/N: 09051554190

Indice generale

Usò previsto	5
Riassunto e spiegazione del test.....	5
Reagenti e materiali	8
Reagenti e controlli cobas® CMV	8
Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni.....	11
Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti.....	12
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il cobas® 5800 System	12
Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i cobas® 6800/8800 Systems	13
Altri materiali necessari per il cobas® 5800 System	13
Altri materiali necessari per i cobas® 6800/8800 Systems	14
Strumentazione e software necessari	14
Precauzioni e requisiti per l'uso.....	15
Avvertimenti e precauzioni.....	15
Manipolazione dei reagenti.....	15
Buone pratiche di laboratorio.....	16
Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni	16
Campioni.....	16
Istruzioni per l'uso.....	18
Note sulla procedura.....	18
Esecuzione del test cobas® CMV sul cobas® 5800 System.....	18
Esecuzione del test cobas® CMV sui cobas® 6800/8800 Systems	19
Risultati	20
Controllo di qualità e validità dei risultati sul cobas® 5800 System.....	20
Risultati dei controlli sul cobas® 5800 System.....	20
Controllo di qualità e validità dei risultati sui cobas® 6800/8800 Systems	20
Interpretazione dei risultati	21
Interpretazione dei risultati sul cobas® 5800 System.....	22
Interpretazione dei risultati sui cobas® 6800/8800 Systems	22
Limiti della procedura	22

Valutazione delle prestazioni non cliniche	23
Caratteristiche delle prestazioni chiave sui cobas® 6800/8800 Systems	23
Limite di sensibilità (LoD).....	23
Intervallo lineare	24
Precisione intra-laboratorio	25
Verifica del genotipo	25
Verifica dei campioni di CMV resistenti ai farmaci	26
Specificità.....	27
Specificità analitica	28
Specificità analitica e sostanze interferenti.....	28
Confronto con le prestazioni del test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.....	29
Tasso globale d'errore del sistema	30
Contaminazione crociata.....	30
Valutazione delle prestazioni cliniche eseguita sui cobas® 6800/8800 Systems.....	31
Riproducibilità clinica.....	31
Valutazione delle prestazioni cliniche: popolazione SOT.....	32
Concordanza clinica nella popolazione SOT.....	33
Concordanza dei valori di partenza	33
Analisi di risoluzione su base giornaliera	35
Concordanza totale tra diversi livelli di carica virale	38
Confronto tra i metodi nella popolazione SOT	42
Errore sistematico ai livelli di carica virale selezionati	46
Media delle differenze tra coppie di campioni.....	47
Differenza totale ammissibile (ATD).....	48
Concordanza con i campioni negativi	51
Valutazione delle prestazioni cliniche: popolazione HSCT.....	52
Concordanza clinica nella popolazione HSCT.....	53
Confronto tra i metodi nella popolazione HSCT	61
Conclusioni	71
Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi.....	71

Informazioni supplementari.....	72
Caratteristiche del test	72
Simboli.....	73
Assistenza tecnica.....	74
Produttore e importatore	74
Marchi e brevetti.....	74
Copyright.....	74
Bibliografia	75
Revisione del documento	77

Uso previsto

Il test **cobas**® CMV consente l'amplificazione *in vitro* degli acidi nucleici per la quantificazione del DNA di Citomegalovirus (CMV) nel plasma EDTA umano.

Il test **cobas**® CMV è destinato a coadiuvare la diagnosi e la gestione del Citomegalovirus (CMV) nei pazienti sottoposti a trapianto di organo solido o trapianto di cellule staminali ematopoietiche. Il test può essere eseguito in questi soggetti per valutare la necessità di avviare una terapia antivirale. Nei pazienti sottoposti a terapia anti-CMV, le misurazioni seriali del DNA consentono di valutare la risposta virale alla cura.

I risultati generati dal test **cobas**® CMV devono essere interpretati contestualmente a tutti i dati clinici rilevanti e ai riscontri di laboratorio.

Riassunto e spiegazione del test

Premessa

Il Citomegalovirus (CMV) umano è un patogeno virale appartenente alla famiglia degli *herpesviridae*, a diffusione ubiquitaria, presente nelle comunità di tutto il mondo.^{1,2} Negli ospiti immunocompetenti, le infezioni causate da CMV sono spesso asintomatiche, tuttavia nel ciclo litico l'infezione primaria può manifestarsi come una sindrome acuta da pseudo mononucleosi. Una volta contratto il virus, l'infezione da CMV generalmente persiste in forma latente per il resto della vita del paziente, con possibili riattivazioni intermittenti. I principali siti di infezione da CMV sembrano essere le cellule mononucleate di sangue periferico (*Peripheral Blood Mononuclear Cell*: PBMC) di derivazione mieloide (ma non i linfociti) e le cellule endoteliali.³ Il virus CMV si mantiene in uno stadio latente nei monociti/macrofagi negli esseri umani.² I soggetti con un'infezione latente possono, in modo asintomatico, riversare il virus nei propri fluidi corporei (urina e saliva, ad esempio) e di conseguenza contagiare altri soggetti. Nei soggetti immunocompromessi, tra cui neonati, trapiantati e malati di AIDS, sussiste un rischio elevato di sviluppare gravi infezioni primarie da CMV o riattivazioni del virus CMV latente, che possono indurre un'alta percentuale di morbilità e mortalità.⁴ Manifestazioni cliniche gravi della patologia da CMV sono: retinite, poliradiculopatia, gastroenterite, epatite, encefalite, esofagite, enterocolite, pancreatite, nefrite, rigetto dell'organo del donatore, polmonite e sindrome virale da CMV.⁵⁻⁷

Le nostre attuali conoscenze sulle soglie clinicamente rilevanti per lo sviluppo della malattia da CMV derivano da una serie di studi basati su differenti tecnologie, popolazioni ed end-point.⁸⁻¹³ In linea generale, le cariche virali più alte sono maggiormente associate al rischio di sviluppare la malattia da CMV. La relazione tra viremia e malattia ha un andamento sigmoide, in altre parole il rischio di sviluppare la malattia da CMV aumenta in modo significativo dopo che la carica virale per CMV raggiunge una "soglia critica". Ad esempio, quando è stato utilizzato un test del DNA di CMV sviluppato in laboratorio per analizzare pazienti trapiantati di fegato, la soglia critica era $\geq 5 \log_{10}$ copie/ml di DNA di CMV.¹¹ Nei pazienti affetti da HIV/AIDS, i livelli di DNA di CMV sono correlati con il rischio di sviluppare la malattia da CMV e con la mortalità complessiva.¹⁴⁻¹⁷

L'assenza di risultati standardizzati, tuttavia, costituisce un limite per gli attuali metodi di quantificazione del DNA di CMV sviluppati in laboratorio e può causare un'elevata variabilità tra laboratori e tra saggi.¹⁸ Per questo è fondamentale validare la riproducibilità della carica virale del DNA di CMV e garantire risultati omogenei e coerenti ai fini della gestione dei pazienti affetti dalla malattia da CMV. Le attuali linee guida basate sulla precisione dei test PCR suggeriscono che le variazioni tra le misurazioni seriali della carica virale dovrebbero essere almeno di 3 volte ($0,5 \log_{10}$) per rappresentare un

cambiamento importante dal punto di vista biologico. Poiché la variabilità incide maggiormente alle concentrazioni più basse, quando i valori dei titoli sono prossimi al limite di quantificazione minimo del saggio le variazioni della carica virale dovrebbero essere addirittura di 5 volte ($0,7 \log_{10}$) per essere considerate veramente significative.¹⁰

Mentre è ancora oggetto di dibattito quale sia l'esatta soglia virale, a causa della variabilità tra i saggi, il concetto di soglia critica è valido ed è riportato negli studi di storia naturale per dimostrare la correlazione tra valori elevati di carica virale e maggiore rischio di sviluppare la malattia da CMV.⁸⁻¹² Uno studio eseguito con il test COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR ha fissato un valore di cut-off predittivo della patologia tra 2.000 e 5.000 copie/ml nei pazienti trapiantati di fegato con sieropositività per CMV.¹⁰

Perché utilizzare i test degli acidi nucleici

Per diagnosticare un'infezione disseminata e una malattia viscerale attiva causate da CMV umano, vengono utilizzate le seguenti tecniche di laboratorio: isolamento del virus tramite coltura da leucociti di sangue periferico (*Peripheral Blood Leukocyte*, PBL), biopsia istologica, metodi sierologici, misurazione dell'antigenemia pp65 e rilevazione del DNA di CMV tramite reazione a catena della polimerasi (PCR).¹⁹ L'unica utilità dei test sierologici è per stabilire se un paziente ha contratto un'infezione da CMV in precedenza ed è a rischio di riattivazione. I metodi basati sui test in coltura hanno un basso valore predittivo, richiedono più di 48 ore e hanno una possibilità d'uso limitata per i pazienti immunocompromessi. Il test dell'antigenemia pp65 è laborioso e prevede che il sangue venga trattato entro 6 ore dal prelievo, poiché l'antigenemia tende a diminuire durante la conservazione.²⁰ Il test pp65 è inoltre di difficile esecuzione sui soggetti neutropenici. Potenzialmente la rilevazione diretta del DNA di CMV mediante PCR Real-time è il metodo che garantisce l'intervallo dinamico più ampio, maggiore precisione e un'elevata sensibilità.

Spiegazione del test

Il test quantitativo cobas® CMV può essere eseguito sul cobas® 5800 System, sul cobas® 6800 System e sul cobas® 8800 System. Il test cobas® CMV consente di rilevare e quantificare il DNA di CMV nei campioni di plasma EDTA di pazienti infetti. La carica virale viene quantificata rispetto ad uno standard di quantificazione costituito da DNA non CMV (DNA-QS), che viene introdotto in ogni campione nella fase di preparazione. Il DNA-QS svolge inoltre un ruolo di controllo dell'intero processo di preparazione dei campioni e amplificazione PCR. Il test utilizza inoltre tre controlli esterni: un titolo positivo alto, un titolo positivo basso e un controllo negativo. I controlli esterni positivo alto e positivo basso vengono prodotti diluendo il materiale stock tracciabile allo standard internazionale dell'OMS per il CMV. La calibrazione di ogni lotto del kit di amplificazione/rilevazione è tracciabile allo standard internazionale dell'OMS per il CMV.

Principi della procedura

Il test cobas® CMV si basa su una procedura completamente automatizzata per la preparazione dei campioni (estrazione e purificazione degli acidi nucleici), seguita da amplificazione e rilevazione mediante PCR. Il cobas® 5800 System è progettato come strumento unico integrato. I cobas® 6800/8800 Systems sono costituiti dal modulo di inserimento dei campioni, dal modulo di trasferimento, dal modulo di preparazione e dal modulo analitico. La gestione automatizzata dei dati viene eseguita dal software del cobas® 5800 System o dei cobas® 6800/8800 Systems, che assegna i risultati dei test come "Target not detected" (target non rilevato), "CMV DNA detected < LLoQ" (rilevato DNA di CMV al di sotto del limite inferiore di quantificazione), "CMV DNA detected > ULoQ" (rilevato DNA di CMV al di sopra del limite superiore di quantificazione) o un valore compreso nell'intervallo lineare "LLoQ < x < ULoQ". I risultati possono essere visualizzati direttamente sullo schermo del sistema, esportati o stampati in un report.

Gli acidi nucleici ottenuti dai campioni dei pazienti e le molecole aggiunte di DNA-QS del lambda vengono estratti simultaneamente. In sintesi, l'acido nucleico virale viene liberato aggiungendo nel campione la proteinasi e il reagente di lisi. L'acido nucleico liberato si lega quindi alla superficie di silice delle biglie di vetro magnetiche aggiunte. Le sostanze che non formano legami e le impurità (ad esempio le proteine denaturate, i detriti cellulari e i potenziali inibitori della PCR) vengono rimosse con il reagente di lavaggio nei passaggi successivi e l'acido nucleico purificato viene eluito dalle biglie di vetro con il tampone di eluizione a temperature elevate.

È possibile ottenere l'amplificazione selettiva dell'acido nucleico target estratto dal campione utilizzando dei primer forward e reverse virus-specifici, che vengono selezionati da regioni altamente conservate del gene UL54 della DNA polimerasi di CMV. È possibile ottenere l'amplificazione selettiva dello standard di quantificazione DNA-QS utilizzando dei primer forward e reverse sequenza-specifici, che vengono selezionati in modo tale da non presentare nessuna omologia con il genoma del CMV. Un enzima DNA polimerasi termostabile viene utilizzato per l'amplificazione. Le sequenze del target virale e dello standard DNA-QS vengono amplificate simultaneamente, utilizzando un profilo di amplificazione PCR universale con valori predefiniti per temperatura e numero di cicli. La soluzione Master Mix contiene trifosfato di deossiuridina (dUTP) anziché trifosfato di deossitimidina (dTTP), che è incorporato nel DNA appena sintetizzato (amplicone).²¹⁻²³ L'eventuale amplicone contaminante prodotto da sessioni di PCR precedenti viene distrutto dall'enzima AmpErase, contenuto nella miscela per PCR, quando viene riscaldato nel primo passaggio del ciclo termico. Gli ampliconi che si sono appena formati non vengono invece eliminati perché l'enzima AmpErase si inattiva dopo l'esposizione a temperature superiori a 55°C.

La soluzione Master Mix **cobas**® CMV contiene una sonda di rilevazione specifica per le sequenze target di CMV e una per il DNA-QS. Le sonde sono marcate con fluorocromi reporter specifici per i target, in modo da consentire la rilevazione simultanea del target CMV e del DNA-QS in due diversi canali.^{24,25} Il segnale fluorescente delle sonde intatte è soppresso dal fluorocromo quencher. Nella fase di amplificazione mediante PCR, la sonda ibridizza con gli stampi specifici di DNA a filamento unico e viene scissa dall'attività nucleasica in direzione 5'→3' della DNA polimerasi, con la conseguente separazione dei fluorocromi reporter e quencher e la produzione di un segnale fluorescente. Con ogni ciclo di PCR viene generata una quantità crescente di sonde scisse e, parallelamente, si assiste all'aumento del segnale cumulativo del fluorocromo reporter. È possibile ottenere la rilevazione real-time e la discriminazione dei prodotti della PCR misurando la fluorescenza dei fluorocromi reporter liberati, che rappresentano rispettivamente i target virali e il DNA-QS.

Reagenti e materiali

Reagenti e controlli cobas® CMV

I materiali forniti per il test cobas® CMV sono elencati nella Tabella 1. I materiali necessari ma non forniti sono elencati dalla Tabella 2 alla Tabella 4, nella Tabella 8 e nella Tabella 9.

Per informazioni sui pericoli relativi al prodotto, consultare i paragrafi **Reagenti e materiali** e **Precauzioni e requisiti per l'uso**.

Tabella 1 cobas® CMV
(CMV)

Conservare a 2-8°C

Cassetta per 192 test (P/N 09040897190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit 192 test
Soluzione proteinasi (PASE)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, cloruro di calcio, acetato di calcio, 8% proteinasi, glicerolo EUH210: Scheda dati di sicurezza disponibile su richiesta. EUH208: Contiene subtilisina. Può provocare una reazione allergica.	22,3 ml
Standard di quantificazione DNA (DNA-QS)	Tampone Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% costruito di DNA non CMV contenente una regione di legame per il primer non CMV e una regione di legame univoca per la sonda (DNA non infettivo), < 0,002% Poly rA RNA (sintetico), < 0,1% sodio azide	21,2 ml
Tampone di eluizione (EB)	Tampone Tris, 0,2% metil-4 idrossibenzoato	21,2 ml
Master Mix Reagente 1 (MMX-R1)	Acetato di manganese, idrossido di potassio, < 0,1% sodio azide	7,5 ml
CMV Master Mix Reagente 2 (CMV MMX-R2)	Tampone tricina, acetato di potassio, < 18% dimetilsolfossido, glicerolo, < 0,1% Tween 20, EDTA, < 0,12% dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% primer upstream e downstream CMV, < 0,01% primer forward e reverse QS, < 0,01% sonde oligonucleotidiche fluorescenti specifiche per CMV e QS di CMV, < 0,01% aptamero oligonucleotidico, < 0,01% DNA polimerasi Z05D, < 0,10% enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasi) (batterico), < 0,1% sodio azide	9,7 ml

Tabella 2 cobas® CMV Control Kit

(CMV CTL)

Conservare a 2-8°C

Per l'utilizzo sul sistema cobas® 5800 (P/N 09040919190)

Per l'utilizzo sui sistemi cobas® 6800/8800 (P/N 07001037001 e P/N 09040919190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
Controllo positivo basso CMV (CMV L(+))C	< 0,001% DNA sintetico (plasmide) di CMV incapsulato in proteina di rivestimento batteriofago Lambda, plasma umano normale, DNA di CMV non rilevabile con le metodiche PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p>AVVERTIMENTO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>
Controllo positivo alto CMV (CMV H(+))C	< 0,001% DNA sintetico (plasmide) di CMV incapsulato in proteina di rivestimento batteriofago Lambda, plasma umano normale, DNA di CMV non rilevabile con le metodiche PCR 0,1% conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p>AVVERTIMENTO</p> <p>H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

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

Conservare a 2-8°C

Per l'utilizzo sul sistema cobas® 5800 (P/N 09051554190)

Per l'utilizzo sui sistemi cobas® 6800/8800 (P/N 07002220190 e P/N 09051554190)

Componenti del kit	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
Controllo negativo di plasma umano normale (NHP-NC)	Plasma umano normale, non reattivo ai test brevettati per gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV-1/2, anti-HBc e antigene HBsAg; RNA di HIV-1, RNA di HIV-2, RNA di HCV e DNA di HBV non rilevabili con i metodi PCR < 0,1% conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>AVVERTIMENTO H317: Può provocare una reazione allergica cutanea. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/ la nebbia/i vapori/gli aerosol. P272: Gli indumenti da lavoro contaminati non devono essere portati fuori dal luogo di lavoro. P280: Indossare guanti protettivi. P333 + P313: In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. P362 + P364: Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. P501: Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto d'eliminazione dei rifiuti autorizzato. 55965-84-9 Massa di reazione di: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one [N. CE 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-one [N. CE 220-239-6] (3:1).</p>

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza pericolosa.

Reagenti cobas omni per la preparazione dei campioni

Tabella 4 Reagenti **cobas omni** per la preparazione dei campioni

Reagenti	Ingredienti dei reagenti	Quantità per kit	Simbolo di sicurezza e avvertimento*
cobas omni MGP Reagent (MGP) Conservare a 2-8°C (P/N 06997546190)	Biglie di vetro magnetiche, tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	480 test	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Conservare a 2-8°C (P/N 06997511190)	Tampone Tris, 0,1% metil-4 idrossibenzoato, < 0,1% sodio azide	4 × 875 ml	Non applicabile
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Conservare a 2-8°C (P/N 06997538190)	43% (p/p) guanidina tiocianato**, 5% (p/v) polidocanolo**, 2% (p/v) ditiotreitolo, citrato di sodio diidrato EUH032: A contatto con acidi libera gas molto tossici.	4 × 875 ml	 <p>PERICOLO</p> <p>H302 + H332: Nocivo se ingerito o inalato. H314: Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. H412: Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P261: Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. P273: Non disperdere nell'ambiente. P280: Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/il viso. P303 + P361 + P353: IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle. P304 + P340 + P310: IN CASO DI INALAZIONE: trasportare l'infortunato all'aria aperta e mantenerlo a riposo in posizione che favorisca la respirazione. contattare un CENTRO ANTIVELENI/un medico. P305 + P351 + P338 + P310: IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI/un medico. 593-84-0 Tiocianato di guanidinio 9002-92-0 Polidocanolo 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercapto-2,3-butandiolo</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Conservare a 15-30°C (P/N 06997503190)	Citrato di sodio diidrato, 0,1% metil-4 idrossibenzoato	4,2 l	Non applicabile

* L'etichettatura per la sicurezza dei prodotti è conforme principalmente alle indicazioni GHS dell'Unione Europea.

** Sostanza o miscela pericolosa.

Requisiti per la conservazione e la manipolazione dei reagenti

I reagenti devono essere conservati e manipolati rispettando le condizioni indicate dalla Tabella 5, Tabella 6 alla Tabella 7.

I reagenti che non sono ancora stati caricati sul **cobas**® 5800 System o sui **cobas**® 6800/8800 Systems devono essere conservati alla temperatura indicata nella Tabella 5.

Tabella 5 Conservazione dei reagenti (quando non sono caricati sul sistema)

Reagente	Temperatura di conservazione
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

Requisiti per la manipolazione dei reagenti per il **cobas**® 5800 System

Dopo il caricamento sul **cobas**® 5800 System, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. Il sistema consente l'utilizzo dei reagenti soltanto se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 6. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. Tabella 6 Nella vengono fornite all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per il **cobas**® 5800 System.

Tabella 6 Condizioni di scadenza dei reagenti imposte dal **cobas**® 5800 System

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo
cobas ® CMV	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 36 giorni**
cobas ® CMV Control Kit	Data non superata	Non applicabile*	Non applicabile	Max 36 giorni**
cobas ® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile*	Non applicabile	Max 36 giorni**
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile

* Reagenti monouso.

** Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sul **cobas**® 5800 System.

Requisiti per la manipolazione dei reagenti per i cobas® 6800/8800 Systems

Dopo il caricamento sui cobas® 6800/8800 Systems, i reagenti sono conservati alla temperatura appropriata e la loro data di scadenza viene monitorata dal sistema. I cobas® 6800/8800 Systems consentono l'uso dei reagenti solo se sono rispettate tutte le condizioni descritte nella Tabella 7. Il sistema impedisce automaticamente l'uso dei reagenti scaduti. La Tabella 7 fornisce all'utente informazioni utili sulle condizioni di manipolazione dei reagenti previste per i cobas® 6800/8800 Systems.

Tabella 7 Condizioni di scadenza dei reagenti imposte dai cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Data di scadenza del kit	Stabilità del kit aperto	Numero di sedute per cui il kit può essere usato	Stabilità a bordo (tempo cumulativo a bordo fuori dal frigorifero)
cobas® CMV	Data non superata	90 giorni dal primo uso	Max 40 sedute	Max 40 ore
cobas® CMV Control Kit	Data non superata	Non applicabile*	Non applicabile	Max 8 ore
cobas® NHP Negative Control Kit	Data non superata	Non applicabile*	Non applicabile	Max 10 ore
cobas omni Lysis Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni MGP Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Specimen Diluent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile
cobas omni Wash Reagent	Data non superata	30 giorni dal caricamento**	Non applicabile	Non applicabile

* Reagente monouso.

** Il calcolo inizia dalla prima volta che il reagente viene caricato sui cobas® 6800/8800 Systems.

Altri materiali necessari per il cobas® 5800 System

Tabella 8 Materiali e consumabili per l'utilizzo sul cobas® 5800 System

Materiale	P/N
cobas omni Processing Plate 24	08413975001
cobas omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Puntale CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Puntale 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
Sacchetto per rifiuti solidi oppure Sacchetto per rifiuti solidi con inserto	07435967001 oppure 08030073001

Altri materiali necessari per i cobas® 6800/8800 Systems

Tabella 9 Materiali e consumabili per l'utilizzo sui cobas® 6800/8800 Systems

Materiali	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
Sacchetto per rifiuti solidi e Contenitore per rifiuti solidi oppure	07435967001 e 07094361001 oppure
Sacchetto per rifiuti solidi con inserto e Kit cassetto	08030073001 e 08387281001

Strumentazione e software necessari

Il software del cobas® 5800 System e il pacchetto di analisi cobas® CMV per il cobas® 5800 System saranno installati sugli strumenti cobas® 5800. Il software Data Manager e il PC per il cobas® 5800 System verranno forniti con il sistema.

Il software cobas® 6800/8800 e il pacchetto di analisi cobas® CMV verranno installati sullo strumento (o sugli strumenti). Il server IG (Instrument Gateway) verrà fornito con il sistema.

Tabella 10 Strumentazione

Apparecchiatura	P/N
cobas® 5800 System	08707464001
cobas® 6800 System (opzione mobile)	05524245001 e 06379672001
cobas® 6800 System (fisso)	05524245001 e 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Modulo di inserimento dei campioni	06301037001

Per ulteriori informazioni, consultare l'Assistenza Utente o le Guide per l'utente del cobas® 5800 System o dei cobas® 6800/8800 Systems.

Nota: contattare il rappresentante Roche locale per richiedere un listino dettagliato delle provette campione primarie e secondarie, dei rack per campioni, dei rack per puntali otturati e dei vassoi portarack accettati sugli strumenti.

Precauzioni e requisiti per l'uso

Avvertimenti e precauzioni

Come richiesto per qualsiasi procedura di analisi, per lo svolgimento di questo test è necessario attenersi alle buone pratiche di laboratorio. Data l'elevata sensibilità di questo test, fare attenzione ad evitare la contaminazione dei reagenti e delle miscele di amplificazione.

- Solo per uso diagnostico *in vitro*.
- Il test **cobas**® CMV non è stato valutato per l'uso come test di screening per la presenza di CMV nel sangue o negli emoderivati.
- Tutti i campioni dei pazienti devono essere manipolati come materiale a rischio biologico, seguendo le buone procedure di laboratorio descritte in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e nel documento M29-A4 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).^{26,27} Questa procedura deve essere eseguita esclusivamente da personale esperto nella manipolazione di materiale a rischio biologico e nell'uso del test **cobas**® CMV e dei **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- Tutti i materiali di origine umana devono essere considerati a rischio biologico e quindi manipolati adottando precauzioni universalmente valide. In caso di fuoriuscita accidentale, disinfettare immediatamente l'area con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio 0,6% in acqua distillata o deionizzata (diluire la candeggina domestica 1:10) oppure seguire le procedure previste dal proprio laboratorio.
- I kit **cobas**® CMV Control Kit e **cobas**® NHP Negative Control Kit contengono plasma derivato da sangue umano. Il materiale originario è stato analizzato con metodiche PCR e non ha evidenziato DNA di CMV rilevabile. Allo stato attuale, tuttavia, nessun metodo di analisi garantisce con assoluta certezza che i prodotti derivati da sangue umano non trasmettano agenti infettivi.
- **Non congelare il sangue intero o i campioni conservati in tubi primari.**
- Per garantire prestazioni ottimali del test, utilizzare soltanto i consumabili forniti o consigliati.
- Le schede di sicurezza (Safety Data Sheets, SDS) possono essere richieste al rappresentante Roche locale.
- Per un corretto svolgimento del test, attenersi scrupolosamente alle procedure e alle linee guida approvate. Qualunque deviazione dalle procedure e dalle linee guida approvate potrebbe compromettere le prestazioni del test.
- Potrebbero essere generati risultati falsi positivi senza un'adeguata prevenzione dell'effetto carryover durante la manipolazione e la preparazione dei campioni.
- Notificare all'autorità locale competente ogni eventuale incidente grave verificatosi durante l'utilizzo di questo saggio.

Manipolazione dei reagenti

- Manipolare tutti i reagenti, i controlli e i campioni seguendo le buone pratiche di laboratorio, al fine di prevenire il carryover dei campioni e dei controlli.
- Prima dell'uso ispezionare visivamente ogni cassetta dei reagenti, del diluente, del reagente di lisi e del reagente di lavaggio per confermare l'assenza di perdite. In caso di perdite accertate, non utilizzare il materiale per il test.
- Il **cobas omni** Lysis Reagent contiene guanidina tiocianato, una sostanza chimica potenzialmente pericolosa. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni.

- I kit **cobas**® CMV Test, **cobas omni** MGP Reagent e **cobas omni** Specimen Diluent contengono sodio azide come conservante. Evitare che i reagenti entrino in contatto con la pelle, gli occhi o le mucose. In caso di contatto, lavare immediatamente con abbondante acqua per prevenire possibili ustioni. In caso di fuoriuscita dei reagenti, diluire il liquido con acqua prima di asciugare.
- Evitare che il **cobas omni** Lysis Reagent, contenente guanidina tiocianato, entri in contatto con la soluzione di ipoclorito di sodio (candeggina). L'eventuale miscela potrebbe produrre gas altamente tossici.
- Smaltire tutti i materiali entrati in contatto con i campioni e i reagenti nel rispetto dei regolamenti previsti a livello locale, nazionale e internazionale.

Buone pratiche di laboratorio

- Non pipettare con la bocca.
- Non mangiare, bere o fumare nelle aree di lavoro designate.
- Indossare guanti, camici da laboratorio e protezioni per gli occhi durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti del kit. Per prevenire eventuali contaminazioni, è necessario sostituire i guanti durante la manipolazione dei campioni, dei kit **cobas**® CMV e dei reagenti **cobas omni**. Evitare di contaminare i guanti durante la manipolazione dei campioni e dei controlli.
- Lavare accuratamente le mani dopo avere manipolato i reagenti dei kit e dopo aver rimosso i guanti.
- Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro del laboratorio con una soluzione fresca a base di ipoclorito di sodio 0,6% e acqua deionizzata o distillata (candeggina per uso domestico diluita 1:10). Successivamente pulire la superficie con etanolo al 70%.
- In caso di versamenti di liquidi sullo strumento **cobas**® 5800/6800/8800, pulire accuratamente e decontaminare la superficie dello strumento seguendo le istruzioni contenute nell'Assistenza Utente e/o nella Guida Utente dei **cobas**® 5800 o **cobas**® 6800/8800 Systems.

Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni

NOTA: manipolare tutti i campioni e i controlli come se fossero in grado di trasmettere agenti infettivi.

Conservare tutti i campioni alle temperature indicate.

La stabilità dei campioni risente delle temperature elevate.

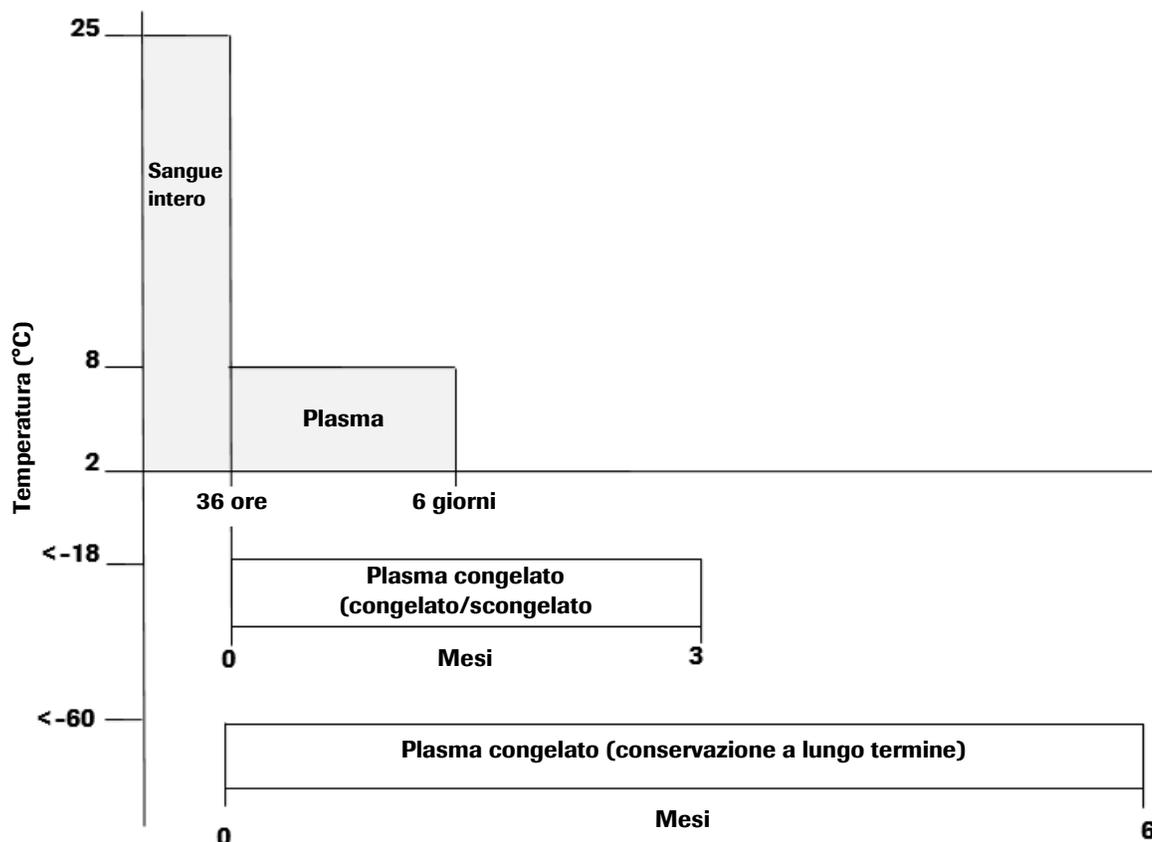
Se si utilizzano campioni congelati nelle provette secondarie, mantenere i campioni a temperatura ambiente (15-30°C) finché non si saranno scongelati completamente, quindi miscelare brevemente (ad esempio, in vortex per 3-5 secondi) e centrifugare in modo da raccogliere tutto il volume del campione sul fondo della provetta.

Campioni

- Raccogliere il sangue intero nelle provette BD Vacutainer® PPT™ destinate alla preparazione di plasma per i metodi di analisi di diagnostica molecolare, oppure in provette sterili con l'anticoagulante EDTA. Attenersi alle istruzioni fornite dal produttore delle provette. Vedere la Figura 1.
- Il sangue intero, raccolto nelle BD Vacutainer® PPT™ Plasma Preparation Tubes per i metodi molecolari di diagnosi oppure nelle provette sterili con anticoagulante EDTA, può essere conservato e/o trasportato fino a 36 ore a 2-25°C prima della preparazione del plasma. Per la centrifugazione, seguire le istruzioni fornite dal produttore.

- I campioni di plasma separati dal sangue intero entro 24 ore dal prelievo possono essere conservati e/o trasportati per un massimo di 6 giorni a 2-8°C o per 12 settimane a -20°C ± 2°C. Per la conservazione a lungo termine, fino a 6 mesi, sono consigliate temperature di -75°C ± 15°C.
- I campioni di plasma sono stabili per un massimo di quattro cicli di congelamento/scongelo quando sono congelati a ≤ -18°C.
- Per l'eventuale spedizione, imballare ed etichettare i campioni come previsto dai regolamenti nazionali e/o internazionali per il trasporto di campioni e agenti eziologici.

Figura 1 Condizioni di conservazione dei campioni



Nota: il sangue intero, raccolto nelle BD Vacutainer® PPT™ Plasma Preparation Tubes per i metodi molecolari di diagnosi oppure nelle provette sterili con anticoagulante EDTA, può essere conservato e/o trasportato fino a 36 ore a 2-25°C prima della preparazione del plasma, dopodiché il plasma separato non può essere conservato oltre e deve essere analizzato direttamente.

Istruzioni per l'uso

Note sulla procedura

- Non utilizzare i reagenti **cobas**® CMV Test, il **cobas**® CMV Control Kit, il **cobas**® NHP Negative Control Kit o i reagenti **cobas** **omni** dopo la data di scadenza.
- Non riutilizzare i consumabili. Sono esclusivamente monouso.
- Per informazioni sulla corretta manutenzione degli strumenti, consultare l'Assistenza Utente e/o la Guida Utente dei **cobas**® 5800 o **cobas**® 6800/8800 Systems.

Esecuzione del test **cobas**® CMV sul **cobas**® 5800 System

Il test **cobas**® CMV può essere eseguito con un volume di campione minimo di 525 µl, di cui vengono analizzati 350 µl quando si utilizza la provetta secondaria **cobas** **omni**. La procedura del test è descritta dettagliatamente nella Guida Utente e/o nell'Assistenza Utente del **cobas**® 5800 System. Figura 2 sottostante riassume la procedura.

Figura 2 Procedura del test **cobas**® CMV sul **cobas**® 5800 System

1	Eeguire la procedura di accesso al sistema
2	Caricamento dei campioni sul sistema <ul style="list-style-type: none"> • Caricare i rack per campioni sul sistema • Il sistema si prepara automaticamente • Ordinare i test
3	Ricaricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema <ul style="list-style-type: none"> • Caricare le cassette dei reagenti specifici per il test • Caricare i minirack per i controlli • Caricare i puntali di estrazione • Caricare i puntali di eluizione • Caricare le piastre di estrazione • Caricare le piastre per rifiuti liquidi • Caricare le piastre di amplificazione • Caricare la cassetta MGP • Ricaricare il diluente per campioni • Ricaricare il reagente di lisi • Ricaricare il reagente di lavaggio
4	Avviare la seduta selezionando il pulsante Start processing nell'interfaccia utente; tutte le sedute successive si avvieranno automaticamente, a meno che non vengano posticipate manualmente
5	Rivedere ed esportare i risultati
6	Rimuovere e tappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro Pulire lo strumento <ul style="list-style-type: none"> • Scaricare i minirack per i controlli vuoti • Scaricare le cassette dei reagenti specifici per il test • Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione • Svuotare i rifiuti liquidi • Svuotare i rifiuti solidi

Esecuzione del test cobas® CMV sui cobas® 6800/8800 Systems

Il test cobas® CMV può essere eseguito con un volume di campione minimo di 525 µl, di cui vengono analizzati 350 µl quando si utilizza la provetta secondaria cobas omni. La procedura del test è descritta dettagliatamente nella nell'Assistenza Utente e/o Guida Utente dei cobas® 6800/8800 Systems. La procedura è riassunta nella Figura 3.

Figura 3 Procedura del test cobas® CMV sui cobas® 6800/8800 Systems

1	Eseguire la procedura di accesso al sistema Premere Start per preparare il sistema Ordinare i test
2	Ricaricare i reagenti e i consumabili segnalati dal sistema <ul style="list-style-type: none"> • Caricare la cassetta dei reagenti specifici per il test • Caricare le cassette dei controlli • Caricare i puntali di pipettamento • Caricare le piastre di estrazione • Caricare il reagente MGP • Caricare le piastre di amplificazione • Ricaricare il diluente per campioni • Ricaricare il reagente di lisi • Ricaricare il reagente di lavaggio
3	Caricamento dei campioni sul sistema <ul style="list-style-type: none"> • Caricare i rack per campioni e i rack portapuntali otturati sullo stesso modulo di inserimento dei campioni • Confermare che i campioni sono stati accettati dal modulo di trasferimento
4	Per avviare la seduta, scegliere il pulsante Avvio manuale nell'interfaccia utente o impostare l'avvio automatico dopo 120 minuti o se il batch è al completo
5	Rivedere ed esportare i risultati
6	Rimuovere eappare le provette campione contenenti il volume minimo richiesto per eventuale uso futuro Pulire lo strumento <ul style="list-style-type: none"> • Scaricare le cassette dei controlli vuote • Svuotare il cassetto per piastre di amplificazione • Svuotare i rifiuti liquidi • Svuotare i rifiuti solidi

Risultati

Il **cobas**® 5800 System e i **cobas**® 6800/8800 Systems rilevano automaticamente la concentrazione del DNA di CMV per i campioni e i controlli. La concentrazione del DNA di CMV si esprime in unità internazionali per millilitro (UI/ml).

Controllo di qualità e validità dei risultati sul **cobas**® 5800 System

- Insieme ad ogni batch vengono eseguiti un controllo negativo [(-) C] e due controlli positivi (un controllo positivo basso [CMV L (+) C] e un controllo positivo alto [CMV H (+) C]) almeno ogni 72 ore e con ogni nuovo lotto del kit. È possibile aumentare la frequenza con cui sono programmati i controlli positivi e/o negativi in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali.
- Per verificare la validità dei risultati, controllare se nel **cobas**® 5800 software e/o nel report sono presenti flag con risultati associati.

Il **cobas**® 5800 software considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento del controllo negativo o dei controlli positivi.

NOTA: il **cobas**® 5800 System viene fornito con l'impostazione standard, che esegue una serie di controlli (positivi e negativi) ad ogni seduta; tuttavia è possibile ridurre la frequenza, fino a 72 ore di intervallo, in base alle procedure del laboratorio e/o ai regolamenti locali. Per maggiori informazioni, rivolgersi ad un tecnico Roche e/o all'assistenza clienti Roche.

Risultati dei controlli sul **cobas**® 5800 System

I risultati dei controlli sono visualizzati nell'app "Controls" del software **cobas**® 5800.

- I controlli sono contrassegnati come "validi" nella colonna del risultato del controllo se tutti i target del controllo sono validi. I controlli sono contrassegnati come "non validi" nella colonna del risultato del controllo se tutti i target del controllo sono non validi.
- Ai controlli "non validi" viene associato un avviso nella colonna degli avvisi. Nella vista dettagliata viene spiegato il motivo per cui il controllo è contrassegnato come non valido e vengono mostrati gli eventuali avvisi.
- Se uno dei controlli positivi non è valido, ripetere il test di tutti i controlli positivi e di tutti i campioni interessati. Se il controllo negativo non è valido, ripetere il test su tutti i controlli e su tutti i campioni interessati.

Controllo di qualità e validità dei risultati sui **cobas**® 6800/8800 Systems

- Insieme ad ogni batch è necessario eseguire un controllo negativo [(-) C] e due controlli positivi: un controllo positivo basso [CMV L(+)]C] e un controllo positivo alto [CMV H(+)]C].
- Nel software **cobas**® 6800/8800 e/o nel report verificare se sono presenti flag e risultati ad essi associati per confermare la validità del batch.
- Il batch è valido se non viene generato nessun flag per i tre controlli, che includono un controllo negativo e due controlli positivi: CMV L(+)]C, CMV H(+)]C. Il risultato del controllo negativo è visualizzato come (-) C, mentre i controlli positivi basso e alto sono visualizzati come CMV L(+)]C e CMV H(+)]C.

Il software **cobas**® 6800/8800 considera automaticamente non validi i risultati in caso di fallimento dei controlli negativo e positivo.

Flag di controllo sui cobas® 6800/8800 Systems

Tabella 11 Flag per i controlli positivi e negativi

Controllo negativo	Flag	Risultato	Interpretazione
(-) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Non valido	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo negativo non è negativo.
Controllo positivo	Flag	Risultato	Interpretazione
CMV L (+) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Non valido	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo positivo basso non rientra nell'intervallo assegnato.
CMV H (+) C	Q02 (Batch di controllo non riuscito)	Non valido	Un risultato non valido, oppure il risultato del titolo calcolato per il controllo positivo alto non rientra nell'intervallo assegnato.

Se il batch non è valido, è necessario ripetere il test sull'intero batch, compresi campioni e controlli.

Interpretazione dei risultati

Nel caso di un batch valido, nel software del cobas® 5800 System e dei cobas® 6800/8800 Systems e/o nei report verificare se sono presenti eventuali avvisi per i singoli campioni. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- Un batch valido può includere risultati dei campioni validi e non validi.

Tabella 12 Risultati per i singoli target e relativa interpretazione

Risultati	Interpretazione
Target Not Detected	DNA di CMV non rilevato. Segnalare i risultati nel report come "CMV non rilevato".
< Titer Min	Il titolo calcolato è al di sotto del limite inferiore di quantificazione (LLoQ) del saggio. Segnalare i risultati nel report come "CMV rilevato, minore di (Titer min)". Titer min = 34,5 UI/ml
Titer	Il titolo calcolato rientra nell'intervallo lineare del saggio: maggiore o uguale al valore "Titer Min" e minore o uguale al valore "Titer max". Segnalare i risultati nel report come "(Titolo) di CMV rilevato".
> Titer Max ^a	Il titolo calcolato è al di sopra del limite superiore di quantificazione (ULoQ) del saggio. Segnalare i risultati nel report come "CMV rilevato, maggiore di (Titer max)". Titer max = 1,0E+07 UI/ml

^a Se il risultato del campione è "> Titer Max", si riferisce ai campioni CMV-positivi con titoli al di sopra del limite di quantificazione superiore (ULoQ). Se si desidera ottenere un risultato quantitativo, è necessario diluire il campione originale con plasma EDTA umano CMV-negativo e ripetere il test. Moltiplicare il risultato ottenuto per il fattore di diluizione.

Interpretazione dei risultati sul cobas® 5800 System

I risultati dei campioni sono visualizzati nell'app "Risultati" del software **cobas**® 5800.

Nel caso di un batch di controllo valido, verificare nel software **cobas**® 5800 e/o nel report se sono presenti eventuali avvisi per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- I campioni associati a un batch di controllo valido sono mostrati come "Validi" nella colonna "Risultato di controllo" se tutti i risultati dei target del controllo sono stati indicati come validi nel report. I campioni associati a un batch di controllo non valido sono mostrati come "Non validi" nella colonna "Risultato di controllo" se tutti i risultati dei target del controllo sono stati indicati come non validi nel report.
- se i controlli associati di un risultato campione sono non validi, verrà aggiunto un flag specifico al risultato campione nel modo seguente:
 - Q05D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo positivo non valido
 - Q06D: validazione dei risultati non riuscita a causa di un controllo negativo non valido
- I valori nella colonna "Risultati" relativi ai singoli risultati target dei campioni devono essere interpretati nel modo indicato in Tabella 12.
- Se uno o più target dei campioni sono contrassegnati con "Non valido", il software **cobas**® 5800 mostra un avviso nella colonna "Flag". Nella vista dettagliata viene spiegato il motivo per cui i target dei campioni sono contrassegnati come non validi e vengono mostrati gli eventuali avvisi.

Interpretazione dei risultati sui cobas® 6800/8800 Systems

Se un batch è valido, verificare nel software dei **cobas**® 6800/8800 Systems e/o nel report se sono presenti flag per ogni singolo campione. I risultati dovranno essere interpretati applicando i seguenti criteri:

- I campioni sono contrassegnati con "Yes" nella colonna "Valido" se tutti i target richiesti hanno generato risultati validi.
I campioni contrassegnati con "No" nella colonna "Valido" potrebbero necessitare di ulteriore interpretazione e altri interventi.
- I valori per ogni risultato target del campione dovrebbero essere interpretati secondo le informazioni riportate nella precedente Tabella 12.

Limiti della procedura

- Il test **cobas**® CMV è stato valutato soltanto in combinazione con i prodotti **cobas**® CMV Control Kit, **cobas**® NHP Negative Control Kit, **cobas omni** MGP Reagent, **cobas omni** Lysis Reagent, **cobas omni** Specimen Diluent e **cobas omni** Wash Reagent per l'utilizzo sui **cobas**® 5800/6800/8800 Systems.
- L'affidabilità dei risultati è influenzata dal metodo di raccolta, conservazione e manipolazione dei campioni.
- Questo test è stato approvato esclusivamente per l'uso con campioni di plasma EDTA. L'uso di altri tipi di campioni con il test **cobas**® CMV può generare imprecisioni nei risultati. Le misurazioni della carica virale nel plasma non sono raffrontabili direttamente con quelle di altri tipi di campioni.
- La quantificazione del DNA di CMV può essere influenzata dai metodi di raccolta dei campioni, da fattori legati al paziente (ad esempio età, presenza di sintomi) e/o dallo stadio dell'infezione.

- Le mutazioni nelle regioni altamente conservate del gene UL54 della DNA polimerasi di CMV, coperte dal test **cobas**® CMV, possono alterare i legami dei primer e/o delle sonde e causare una quantificazione per difetto del virus o impedire l'identificazione del virus. Il test **cobas**® CMV attenua questo rischio, attraverso l'uso di primer di amplificazione ridondanti.
- A causa delle differenze intrinseche tra le tecnologie, si consiglia agli utenti, prima di passare da una tecnologia a un'altra, di svolgere uno studio sulla correlazione tra i metodi nel proprio laboratorio, così da qualificare tali differenze. Si consiglia agli utenti di elaborare norme/procedure specifiche.
- Il test **cobas**® CMV non è destinato all'uso come test di screening per la presenza di CMV in sangue o emoderivati e non è stato valutato come test diagnostico per confermare la presenza di infezione da CMV.

Valutazione delle prestazioni non cliniche

Caratteristiche delle prestazioni chiave sui cobas® 6800/8800 Systems

Limite di sensibilità (LoD)

Standard Internazionale OMS

Il limite di sensibilità (LoD) del test **cobas**® CMV è stato determinato analizzando diluizioni seriali del 1° Standard Internazionale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità per il DNA di Citomegalovirus umano destinato ai test basati sulla tecnologia di amplificazione degli acidi nucleici (1° Standard Internazionale HCMV dell'OMS), fornito dal NIBSC, in plasma EDTA umano CMV-negativo. I pannelli, costituiti da otto livelli di concentrazione e un bianco, sono stati analizzati con tre lotti di reagenti del test **cobas**® CMV, utilizzando più sedute, più giorni, più operatori e più strumenti.

I risultati ottenuti con il plasma EDTA sono riassunti nella Tabella 13. Lo studio dimostra che il test **cobas**® CMV ha rilevato il DNA di CMV ad una concentrazione di 23 UI/ml o superiore, con un tasso di successo del $\geq 95\%$.

Tabella 13 Limite di sensibilità per il plasma EDTA

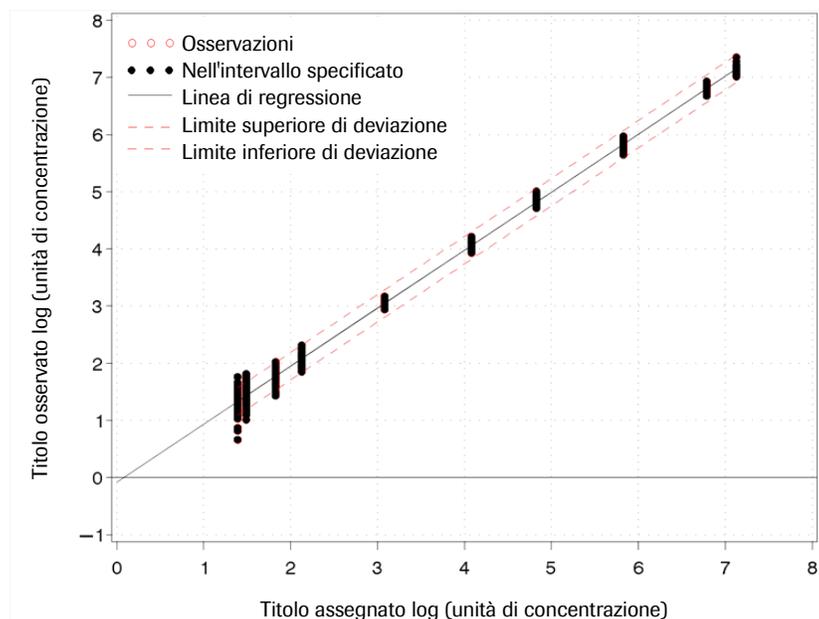
Concentrazione iniziale del titolo (DNA di CMV in UI/ml)	N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	188	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
LoD tramite analisi PROBIT con tasso di successo al 95%	20,6 UI/ml Intervallo di confidenza al 95%: 17,9-24,3 UI/ml		

Intervallo lineare

La linearità del test **cobas**® CMV è stata valutata utilizzando una serie di diluizioni, costituita da un pannello di 10 campioni di DNA di CMV genotipo gB-1, a concentrazioni distribuite sull'intero intervallo lineare (da $2,45E+01$ UI/ml a $1,34E+07$ UI/ml). Ogni componente del pannello è stato analizzato in 48 repliche con tre lotti di reagenti del test **cobas**® CMV. I risultati dello studio sono illustrati nella Figura 4.

È stata dimostrata la linearità del test **cobas**® CMV tra $2,45E+01$ UI/ml e $1,34E+07$ UI/ml.

Figura 4 Determinazione dell'intervallo lineare per il plasma EDTA



Precisione intra-laboratorio

La precisione del test **cobas**® CMV è stata definita analizzando diluizione seriali di una coltura con elevato titolo virale (Merlin, genotipo gB-1) in plasma EDTA CMV-negativo. Sono stati analizzati 10 livelli di diluizione in 48 repliche per ogni livello, con tre lotti di reagenti del test **cobas**® CMV, utilizzando tre strumenti e tre operatori nell'arco di 12 giorni. Ogni campione è stato sottoposto all'intera procedura prevista per il test **cobas**® CMV, che è completamente automatizzata sui **cobas**® 6800/8800 Systems. La precisione riferita in questa sede è dunque rappresentativa di tutti gli aspetti della procedura del test. I risultati sono illustrati nella Tabella 14.

Il test **cobas**® CMV ha dimostrato un'elevata precisione per i tre lotti di reagenti utilizzati su un intervallo di concentrazioni compreso tra 2,45E+01 UI/ml e 1,34+07 UI/ml.

Tabella 14 Precisione intra-laboratorio del test **cobas**® CMV

Concentrazione nominale (UI/ml)	Concentrazione assegnata (UI/ml)	Plasma EDTA		Plasma EDTA		Plasma EDTA		Plasma EDTA	
		Lotto 1		Lotto 2		Lotto 3		Tutti i lotti	
		DS		DS		DS		DS in pool	
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	

Verifica del genotipo

Le prestazioni del test **cobas**® CMV rispetto ai genotipi della Glicoproteina B di CMV sono state valutate con i seguenti metodi:

- Verifica del limite di sensibilità per i genotipi 2-4 della Glicoproteina B
- Verifica dell'intervallo lineare per i genotipi 2-4

Verifica del limite di sensibilità per i genotipi gB-2, gB-3 e gB-4 della Glicoproteina B

I sopranatanti da coltura cellulare CMV per tre diversi genotipi della Glicoproteina B (gB-2, gB-3 e gB-4) sono stati diluiti in plasma EDTA CMV-negativo fino a tre livelli di concentrazione differenti. Il calcolo del tasso di successo è stato effettuato con 63 ripetizioni per ogni livello. I test sono stati eseguiti con tre lotti di reagenti **cobas**® CMV. I risultati sono illustrati nella Tabella 15. Questi risultati confermano che il test **cobas**® CMV ha rilevato il DNA di CMV per tre diversi genotipi a concentrazioni di 34,5 UI/ml con un tasso di successo $\geq 95\%$.

Tabella 15 Verifica del limite di sensibilità per i genotipi del DNA di CMV

Genotipo	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
	N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 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)

* Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% unilaterale

Verifica dell'intervallo lineare per i genotipi gB-2, gB-3 e gB-4

La serie di diluizioni utilizzata per la verifica dello studio di linearità del test **cobas**® CMV rispetto ai genotipi era costituita da un pannello di sette campioni, rappresentativi dell'intervallo lineare del saggio. I test sono stati eseguiti con due lotti di reagenti **cobas**® CMV e sono state eseguite 16 ripetizioni per ogni livello su plasma EDTA.

L'intervallo lineare del test **cobas**® CMV è stato verificato per tutti e tre i genotipi gB-2, gB-3 e gB-4.

Verifica dei campioni di CMV resistenti ai farmaci

Le prestazioni del test **cobas**® CMV rispetto ai campioni resistenti ai farmaci anti-CMV sono state valutate con i seguenti metodi:

- Verifica del limite di sensibilità per i campioni resistenti ai farmaci anti-CMV (resistenti a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir o Foscarnet)
- Verifica dell'intervallo lineare per i campioni resistenti ai farmaci anti-CMV (resistenti a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir o Foscarnet)

Verifica del limite di sensibilità per i campioni resistenti ai farmaci anti-CMV (resistenti a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir)

I sopranatanti da coltura cellulare per due diversi campioni di CMV resistenti ai farmaci (resistenti a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir) sono stati diluiti in plasma EDTA CMV-negativo fino a tre livelli di concentrazione differenti. Il calcolo del tasso di successo è stato effettuato con 63 ripetizioni per ogni livello. I test sono stati eseguiti con tre lotti di reagenti **cobas**® CMV. I risultati sono illustrati nella Tabella 16. Questi risultati confermano che il test **cobas**® CMV ha rilevato il DNA di CMV per due campioni differenti, entrambi resistenti ai farmaci (resistenti a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir), a concentrazioni di 34,5 UI/ml con un tasso di successo $\geq 95\%$.

Tabella 16 Verifica del limite di sensibilità per i campioni di CMV resistenti ai farmaci

Farma-coresistenza	Sito della mutazione in UL54	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
		N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 95%*)	N. di repliche valide	Numero positivi	Tasso di successo % (IC 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)

* Limite superiore dell'intervallo di confidenza al 95% unilaterale

Verifica dell'intervallo lineare per i campioni resistenti ai farmaci anti-CMV (resistenti a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir)

La serie di diluizioni utilizzata per la verifica dello studio di linearità del test **cobas**® CMV rispetto ai campioni resistenti ai farmaci anti-CMV era costituita da un pannello di sette campioni, rappresentativi dell'intervallo lineare del saggio. I test sono stati eseguiti con due lotti di reagenti **cobas**® CMV e sono state eseguite 16 ripetizioni per ogni livello su plasma EDTA.

L'intervallo lineare del test **cobas**® CMV è stato verificato per entrambi i campioni resistenti ai farmaci anti-CMV (resistenti a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir).

Specificità

La specificità del test **cobas**® CMV è stata determinata analizzando campioni di plasma EDTA negativi per CMV da singoli donatori. Sono stati analizzati 608 campioni individuali di plasma EDTA con due lotti di reagenti **cobas**® CMV. Tutti i campioni analizzati sono risultati negativi per il DNA di CMV. Nel pannello di analisi, la specificità del test **cobas**® CMV è stata del 100% (limite inferiore di confidenza al 95% unilaterale: 99,5%).

Specificità analitica

La specificità analitica del test **cobas**® CMV è stata valutata diluendo un pannello di microrganismi fino a una concentrazione di 1,00E+06 particelle, copie, UI, equivalenti genomici o CFU/ml, con plasma EDTA positivo per il DNA di CMV e negativo per il DNA di CMV. Gli organismi analizzati sono elencati in modo dettagliato nella Tabella 17. Ogni campione del pannello è stato valutato con il test **cobas**® CMV. Nessuno dei patogeni non CMV ha interferito con le prestazioni del test.

Tabella 17 Microorganismi analizzati per verificare la reattività crociata

Virus	Batteri	Lieviti
Adenovirus tipo 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Polyomavirus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Virus di Epstein Barr	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus dell'epatite B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Virus dell'epatite C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Virus dell'herpes simplex tipo 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Virus dell'herpes simplex tipo 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Virus dell'herpes umano tipo 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Virus dell'herpes umano tipo 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Virus dell'herpes umano tipo 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Virus dell'immunodeficienza umana tipo 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Virus dell'immunodeficienza umana tipo 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Papillomavirus umano	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Virus di JC	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
Parvovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Virus Varicella-Zoster	-	-

Specificità analitica e sostanze interferenti

Sono stati analizzati campioni con livelli elevati di trigliceridi (fino a 34,5 g/l), bilirubina coniugata (0,25 g/l), bilirubina non coniugata (0,25 g/l), albumina (58,7 g/l), emoglobina (2,9 g/l) e DNA umano (2 mg/l), sia con DNA di CMV che senza. Le sostanze interferenti endogene che sono state analizzate non hanno interferito con le prestazioni del test **cobas**® CMV.

È stato inoltre valutato l'impatto che patologie autoimmuni quali il lupus eritematoso sistemico (LES), l'artrite reumatoide (AR) e gli anticorpi antinucleo (ANA) potrebbero avere in presenza e in assenza di DNA di CMV. In più i composti farmacologici elencati nella Tabella 18 sono stati analizzati a concentrazioni pari a tre volte il valore C_{max} , sia in presenza che in assenza di DNA di CMV.

Nessuna delle potenziali sostanze interferenti ha alterato in alcun modo le prestazioni del test.

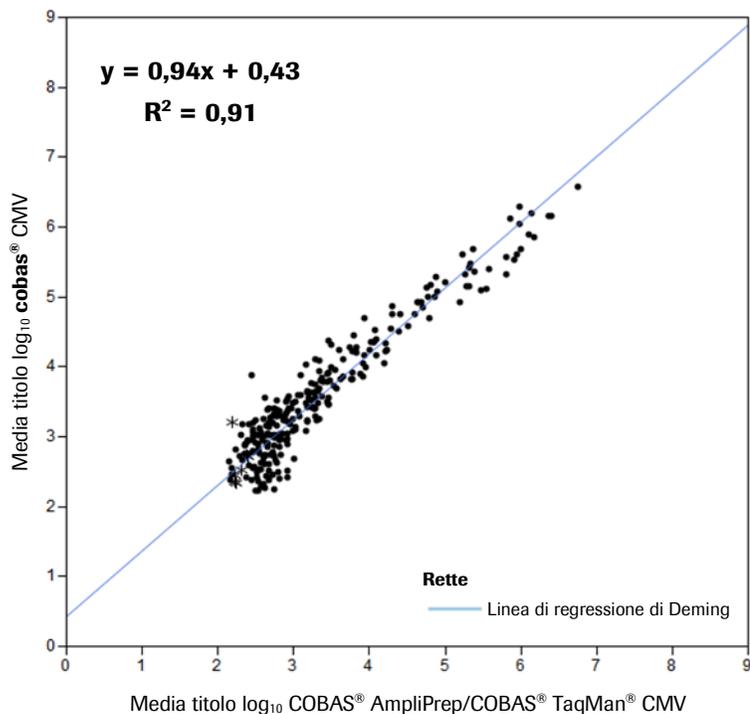
Tabella 18 Composti farmacologici potenzialmente interferenti con la quantificazione del DNA di CMV eseguita dal test **cobas®** CMV

Categoria farmacologica	Nome generico del farmaco	Nome generico del farmaco
Antibatterico	Cefotetan	Sulfametossazole
Antibatterico	Clavulanato di potassio	Ticarcillina disodica
Antibatterico	Fluconazolo	Trimetoprima
Antibatterico	Piperacillina	Vancomicina
Antibatterico	Tazobactam sodico	-
Composti per il trattamento dei virus dell'herpes	Ganciclovir	Cidofovir
Composti per il trattamento dei virus dell'herpes	Valganciclovir	Foscarnet
Immunosoppressori	Azatioprina	Prednisone
Immunosoppressori	Ciclosporina	Sirolimus
Immunosoppressori	Everolimus	Tacrolimus
Immunosoppressori	Micofenolato mofetile	-
Immunosoppressori	Acido micofenolico	-

Confronto con le prestazioni del test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV

Le prestazioni del test **cobas®** CMV sono state confrontate con quelle del test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV attraverso l'analisi di campioni di plasma EDTA appartenenti a pazienti con infezione da CMV. In totale sono stati analizzati in duplicato 275 campioni di plasma EDTA, rappresentativi di tutti i genotipi di CMV, e sono stati generati risultati validi e compresi entro l'intervallo di quantificazione di entrambi i test. È stata applicata l'analisi di regressione di Deming.

I risultati della regressione di Deming sono riportati nella Figura 5.

Figura 5 Analisi di regressione del test **cobas®** CMV e confronto con il CAP/CTM CMV Quantitative Test

Tasso globale d'errore del sistema

Il tasso globale d'errore del sistema per il test **cobas®** CMV è stato calcolato analizzando 100 repliche del test su campioni di plasma EDTA arricchiti con un campione clinico positivo per CMV. Questi campioni sono stati analizzati a una concentrazione di circa $3 \times \text{LoD}$.

Dai risultati di questo studio si evince che tutte le ripetizioni del test hanno prodotto risultati validi e positivi per il target CMV, per un tasso globale d'errore del sistema pari allo 0% (intervallo di confidenza al 95%: 0-3,6%).

Contaminazione crociata

Il tasso di contaminazione crociata del test **cobas®** CMV è stato calcolato eseguendo 240 ripetizioni del test su un campione di plasma EDTA umano normale, CMV-negativo, ed eseguendo 225 ripetizioni del test su un campione con titolo virale elevato per CMV ad una concentrazione di $1,00\text{E}+06$ UI/ml. Complessivamente sono state eseguite cinque sedute con campioni positivi e negativi in una configurazione a scacchiera.

Tutte le 240 ripetizioni del campione negativo sono risultate negative, per un tasso di contaminazione crociata pari allo 0% (intervallo di confidenza al 95%: 0-1,5%).

Valutazione delle prestazioni cliniche eseguita sui cobas® 6800/8800 Systems

Riproducibilità clinica

La riproducibilità del test cobas® CMV è stata valutata con il plasma EDTA sul cobas® 6800 System. I test della riproducibilità e della variabilità tra lotti sono stati eseguiti presso 3 laboratori, utilizzando 3 lotti dei reagenti. 2 operatori hanno testato ogni lotto dei reagenti per 6 giorni (3 giorni per l'operatore 1 e 3 giorni per l'operatore 2). Ogni giorno sono state eseguite 2 sedute. Per ogni seduta sono state eseguite 3 repliche di ogni componente del pannello. I dati sono stati analizzati utilizzando un modello misto per stimare la varianza totale. I risultati della valutazione sono illustrati dalla Tabella 19 alla Tabella 21, in basso.

La Tabella 19 mostra la riproducibilità clinica del test in certi punti lungo l'intervallo lineare. Sono riportati i contributi relativi dei diversi fattori rispetto alla varianza osservata.

Tabella 19 Percentuali attribuibili della varianza totale (%TV), deviazione standard (DS) della precisione totale e CV (%) log-normale della concentrazione di DNA di CMV (\log_{10} UI/ml) per componente del pannello positivo

Conc. di DNA di CMV attesa (\log_{10} UI/ml)	Conc. media ^a di DNA di CMV osservata (\log_{10} UI/ml)	N. di test ^b	Lotto %TV ^c (CV%) ^e DS ^d	Laboratorio %TV ^c (CV%) ^e DS ^d	Operatore/Giorno %TV ^c (CV%) ^e DS ^d	Seduta %TV ^c (CV%) ^e DS ^d	Nella stessa seduta %TV ^c (CV%) ^e DS ^d	Precisione totale DS ^f	Precisione totale (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 tabella include soltanto i risultati con una carica virale rilevabile.

^a Calcolata mediante la procedura SAS MIXED.

^b Numero di test validi con carica virale rilevabile.

^c %TV = contributo alla varianza totale (%).

^d Calcolata a partire dal componente di variabilità ottenuto con la procedura SAS MIXED.

^e CV% = coefficiente di variazione (%) log-normale = $\sqrt{10^{[DS^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$.

^f Calcolata a partire dalla variabilità totale ottenuta con la procedura SAS MIXED.

^g Calcolata a partire dalla variabilità totale ottenuta con la procedura SAS MIXED.

DNA = acido deossiribonucleico; CMV = Citomegalovirus; Conc. = concentrazione; DS = deviazione standard; sqrt = radice quadrata; N. = numero.

La Tabella 20 mostra la differenza stimata di carica virale rilevabile per ogni componente del pannello positivo. La differenza moltiplicata rilevabile può essere utilizzata per valutare le modificazioni statisticamente significative nella carica virale di un paziente, se misurate in serie.

Tabella 20 Differenza della carica virale rilevabile in base al componente del pannello positivo

Conc. di DNA di CMV attesa (log ₁₀ UI/ml)	Conc. media di DNA di CMV osservata (log ₁₀ UI/ml)	N. di test ^a	Deviazione standard della precisione totale (log ₁₀ UI/ml)	Deviazione standard della differenza tra due misurazioni ^b	LC al 95% ^c (±log ₁₀ UI/ml)	Differenza moltiplicata rilevabile ^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 tabella include soltanto i risultati con una carica virale rilevabile. Il limite inferiore di quantificazione (LLOQ) per il test è 3,45E+01 UI/ml; il limite superiore di quantificazione (ULOQ) è 1,0E+07 UI/ml.

^a Numero di test validi con carica virale rilevabile.

^b Deviazione standard della differenza tra due misurazioni = $\sqrt{2 \times (\text{deviazione standard della precisione totale})^2}$.

^c LC al 95% = Limite di confidenza = $1,96 \times \text{deviazione standard della differenza tra due misurazioni}$.

^d Differenza moltiplicata rilevabile = $10^{(1,96 \times \sqrt{2 \times (\text{deviazione standard totale})^2})}$.

DNA = acido deossiribonucleico; CMV = Citomegalovirus; N. = numero; sqrt = radice quadrata.

La Tabella 21 mostra i risultati relativi alla riproducibilità per il componente del pannello negativo, con riferimento al cobas® 6800 System.

Tabella 21 Risultati della riproducibilità per il componente del pannello negativo

Concentrazione del DNA di CMV attesa	Numero di test validi	Risultati positivi	Risultati negativi	Concordanza percentuale negativa ^a	IC 95% esatto ^b
Negativi	323	0	323	100,00	(98,86, 100,00)

^a Concordanza percentuale negativa = $(\text{numero di risultati negativi} \div \text{numero totale di test validi nel componente del pannello negativo}) \times 100\%$.

^b Calcolato mediante il metodo dell'intervallo di confidenza binomiale esatto Clopper-Pearson.

DNA = acido deossiribonucleico; CMV = Citomegalovirus; IC = intervallo di confidenza.

Valutazione delle prestazioni cliniche: popolazione SOT

L'obiettivo di questo studio era la valutazione della concordanza clinica tra il test cobas® CMV e il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV (abbreviato in test TaqMan® CMV) in una popolazione SOT (*Solid Organ Transplant*: trapianto di organo solido). Sono stati analizzati i campioni residuali di plasma EDTA congelato, raccolti a scopo prospettico da pazienti sottoposti a trapianto di rene che avevano partecipato a uno studio di fase 2a randomizzato, a doppio cieco, controllato con placebo, riguardante un regime di profilassi anti-CMV. Le regioni target del test sono state sequenziate per quanto riguarda i campioni che presentavano un offset > 0,5 log₁₀ UI/ml tra i 2 test, oltre che per un gruppo rappresentativo di campioni senza un offset nelle misurazioni. Le sequenze associate a un offset medio > 0,9 log₁₀ UI/ml sono state definite "impattanti". Sono state identificate solo le sequenze impattanti rispetto ai target del test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

Le caratteristiche demografiche della popolazione di pazienti sono rappresentate nella Tabella 22.

Tabella 22 Caratteristiche demografiche e valori di partenza dei soggetti SOT

Caratteristiche	Gruppi	Statistiche
Numero di soggetti	Totale, N	107
Età (anni)	Media ± DS	49 ± 13,6
Età (anni)	Mediana	50
Età (anni)	Intervallo	18-76
Sesso, n (%)	Maschio	74 (69,2%)
Sesso, n (%)	Femmina	33 (30,8%)
Etnia, n (%)	Ispanico/Latino	10 (9,3%)
Etnia, n (%)	Non ispanico/Non latino	91 (85,0%)
Etnia, n (%)	Sconosciuto	6 (5,6%)
Razza, n (%)	Asiatico	1 (0,9%)
Razza, n (%)	Nero/afro-americano	16 (15,0%)
Razza, n (%)	Bianco	88 (82,2%)
Razza, n (%)	Altro	2 (1,9%)
Induzione dell'immunosoppressione, n (%)	Sì	26 (24,3%)
Induzione dell'immunosoppressione, n (%)	No	81 (75,7%)
Braccio dello studio, n (%)	Regime di profilassi anti-CMV	53 (49,5%)
Stato sierologico CMV, n (%)	Donatore positivo, Ricevente negativo	107 (100,0%)

Nota: la categoria Sconosciuto indica i soggetti per i quali non erano disponibili/non erano state fornite informazioni.

CMV = Citomegalovirus, DS = deviazione standard.

Concordanza clinica nella popolazione SOT

Concordanza dei valori di partenza

Dalla Tabella 23 alla Tabella 26 sono riportati i risultati dell'analisi della concordanza tra il test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV, utilizzando le soglie: TND < 1,37E+02 / ≥ 1,37E+02 UI/ml, < 5,00E+02 / ≥ 5,00E+02 UI/ml e < 1,8E+03 / ≥ 1,8E+03 UI/ml, rispettivamente dai campioni valutabili prelevati nel giorno stesso o immediatamente prima dell'inizio del trattamento.

Tabella 23 Analisi della concordanza del test **cobas**® CMV e del test TaqMan® CMV, applicando la soglia "Target Not Detected" (coppie di campioni con valori di partenza all'inizio della terapia anti-CMV) nella popolazione SOT

Valori di partenza cobas® CMV	TaqMan® CMV Target Not Detected	TaqMan® CMV Detected	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto) ^a
Target Not Detected	9	0	9	100,0% (66,4%, 100,0%)
Detected	2	60	62	96,8% (88,8%, 99,6%)
Totale	11	60	71	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto) ^a	81,8% (48,2%, 97,7%)	100,0% (94,0%, 100,0%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto) ^a	97,2% (90,2%, 99,7%)	-	-	-
Valore p ^b	0,5000	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica ai valori di partenza.

^a Indipendenza presunta tra tutti i campioni.

^b Calcolato con il test di McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copie/ml.

Tabella 24 Analisi della concordanza dei risultati del test **cobas®** CMV e del test **TaqMan®** CMV, applicando la soglia “1,37E+02 UI/ml” (coppie di campioni, con i valori di partenza all'inizio della terapia anti-CMV) nella popolazione SOT

Valori di partenza 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)	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto) ^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%)
Totale	29	42	71	
Concordanza colonne (IC 95% esatto) ^a	82,8% (64,2%, 94,2%)	97,6% (87,4%, 99,9%)	--	
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto) ^a	91,5% (82,5%, 96,8%)	-	-	-
Valore p ^b	0,2188	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica ai valori di partenza.

Il campione con il risultato “Target Not Detected” o con una carica virale rilevabile inferiore a 1,37E+02 UI/ml è stato classificato come “< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log₁₀ UI/ml)”.

* Tra i 5 soggetti con campioni discordanti, in 2 soggetti è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Indipendenza presunta tra tutti i campioni.

^b Calcolato con il test di McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copie/ml.

Tabella 25 Analisi della concordanza dei risultati del test **cobas®** CMV e del test **TaqMan®** CMV, applicando la soglia “5,00E+02 UI/ml” (coppie di campioni, con i valori di partenza all'inizio della terapia anti-CMV) nella popolazione SOT

Valori di partenza cobas® CMV	TaqMan® CMV < 5,37E+02 UI/ml (< 2,699 log ₁₀ UI/ml)	TaqMan® CMV ≥ 5,00E+02 UI/ml (≥ 2,699 log ₁₀ UI/ml)	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto) ^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%)
Totale	40	31	71	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto) ^a	82,5% (67,2%, 92,7%)	93,5% (78,6%, 99,2%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto) ^a	87,3% (77,3%, 94,0%)	-	-	-
Valore p ^b	0,1797	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica ai valori di partenza.

Il campione con il risultato “Target Not Detected” o con una carica virale rilevabile inferiore a 5,00E+02 UI/ml è stato classificato come “< 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log₁₀ UI/ml)”.

* Tra i 7 soggetti con campioni discordanti, in 3 soggetti è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Indipendenza presunta tra tutti i campioni.

^b Calcolato con il test di McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copie/ml.

Tabella 26 Analisi della concordanza dei risultati del test cobas® CMV e del test TaqMan® CMV, applicando la soglia “1,8E+03 UI/ml” (coppie di campioni, con i valori di partenza all'inizio della terapia anti-CMV) nella popolazione SOT

Valori di partenza 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)	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto) ^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%)
Totale	52	19	71	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto) ^a	92,3% (81,5%, 97,9%)	100,0% (82,4%, 100,0%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto) ^a	94,4% (86,2%, 98,4%)	-	-	-
Valore p ^b	0,1250	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica ai valori di partenza.

Il campione con il risultato “Target Not Detected” o con una carica virale rilevabile inferiore a 1,8E+03 UI/ml è stato classificato come “< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log₁₀ UI/ml)”.

* Tra i 4 soggetti con campioni discordanti, in 1 soggetto è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Indipendenza presunta tra tutti i campioni.

^b Calcolato con il test di McNemar.

1 UI/ml = 1,1 copie/ml.

Analisi di risoluzione su base giornaliera

La Tabella 27 presenta un'analisi della concordanza della risoluzione dell'episodio di CMV per i pazienti SOT nel Giorno 14, 21, 28, 35 e 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV.

Tabella 27 Analisi della concordanza della risoluzione dell'episodio di CMV per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV (popolazione SOT)

Punto temporale dopo l'inizio della terapia anti-CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	TaqMan® CMV Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
Giorno 14	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	0	0	0	NC
Giorno 14	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	0	40	40	100,0% (91,2%, 100,0%)
Giorno 14	Totale	0	40	40	
Giorno 14	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	NC	100,0% (91,2%, 100,0%)	-	-
Giorno 14	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	100,0% (91,2%, 100,0%)	-	-	-
Giorno 14	Valore p ^b	NC	-	-	-
Giorno 21	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	0	0	0	NC
Giorno 21	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	1	50	51	98,0% (89,6%, 100,0%)
Giorno 21	Totale	1	50	51	

Punto temporale dopo l'inizio della terapia anti-CMV	cobas® CMV	TaqMan® CMV Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	TaqMan® CMV Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
Giorno 21	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	0,0% (0,0%, 97,5%)	100,0% (92,9%, 100,0%)	-	-
Giorno 21	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	98,0% (89,6%, 100,0%)	-	-	-
Giorno 21	Valore p ^b	NC	-	-	-
Giorno 28	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	6	0	6	100,0% (54,1%, 100,0%)
Giorno 28	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	4	46	50	92,0% (80,8%, 97,8%)
Giorno 28	Totale	10	46	56	-
Giorno 28	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	60,0% (26,2%, 87,8%)	100,0% (92,3%, 100,0%)	-	-
Giorno 28	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	92,9% (82,7%, 98,0%)	-	-	-
Giorno 28	Valore p ^b	0,1250	-	-	-
Giorno 35	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	16	1	17	94,1% (71,3%, 99,9%)
Giorno 35	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	8	31	39	79,5% (63,5%, 90,7%)
Giorno 35	Totale	24	32	56	-
Giorno 35	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	66,7% (44,7%, 84,4%)	96,9% (83,8%, 99,9%)	-	-
Giorno 35	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	83,9% (71,7%, 92,4%)	-	-	-
Giorno 35	Valore p ^b	0,0391	-	-	-
Giorno 49	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	38	0	38	100,0% (90,7%, 100,0%)
Giorno 49	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	7	12	19	63,2% (38,4%, 83,7%)
Giorno 49	Totale	45	12	57	-
Giorno 49	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	84,4% (70,5%, 93,5%)	100,0% (73,5%, 100,0%)	-	-
Giorno 49	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	87,7% (76,3%, 94,9%)	-	-	-
Giorno 49	Valore p ^b	0,0156	-	-	-

In 2 dei soggetti inclusi nella tabella Giorno 14 è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

In 2 dei soggetti inclusi nella tabella Giorno 21 è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

In 3 dei soggetti inclusi nella tabella Giorno 28 è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

In 3 dei soggetti inclusi nella tabella Giorno 35 è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

In 4 dei soggetti inclusi nella tabella Giorno 49 è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a La risoluzione dell'episodio di CMV è stata definita con 2 campioni consecutivi (preferibilmente prelevati a una settimana di distanza l'uno dall'altro) che sono stati testati al di sotto del valore LLoQ del test TaqMan® CMV (137 UI/ml), coerentemente con le raccomandazioni contenute nelle attuali linee guida, in base alle quali servono 2 campioni "negativi" consecutivi come punto finale della carica virale per il trattamento degli episodi acuti di CMV.

^b Calcolato con il test di McNemar.

IC = intervallo di confidenza; NC = non calcolabile; SOT = trapianto di organo solido.

Quando viene impiegata per determinare la risoluzione degli episodi di viremia nel Giorno 14, 21, 28, 35 e 49 (dopo l'inizio della terapia anti-CMV), la concordanza percentuale totale (*Overall Percentage Agreement: OPA*) tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV è compresa tra l'83,9% e il 100% (Tabella 28).

Tabella 28 Concordanza percentuale totale in base allo stato di risoluzione (non risolta/risolta) per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV nella popolazione SOT

Punto temporale	Concordanza Non risolta	Concordanza Risolta	Concordanza percentuale totale	IC 95% esatto Concordanza percentuale totale
Giorno 14	100,0% (40/40)	NC	100,0% (40/40)	(91,2%, 100,0%)
Giorno 21	100,0% (50/50)	0,0% (0/1)	98,0% (50/51)	(89,6%, 100,0%)
Giorno 28	100,0% (46/46)	60,0% (6/10)	92,9% (52/56)	(82,7%, 98,0%)
Giorno 35	96,9% (31/32)	66,7% (16/24)	83,9% (47/56)	(71,7%, 92,4%)
Giorno 49	100,0% (12/12)	84,4% (38/45)	87,7% (50/57)	(76,3%, 94,9%)

Nota: la risoluzione dell'episodio di CMV è stata definita con 2 campioni consecutivi (preferibilmente prelevati a una settimana di distanza l'uno dall'altro) che sono stati testati al di sotto del valore LLoQ del test TaqMan® CMV (137 UI/ml), coerentemente con le raccomandazioni contenute nelle attuali linee guida, in base alle quali servono 2 campioni "negativi" consecutivi come punto finale della carica virale per il trattamento degli episodi acuti di CMV.

2 campioni, su un totale di 40 campioni nel Giorno 14, appartenevano a soggetti nei quali è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

2 campioni, su un totale di 51 campioni nel Giorno 21, appartenevano a soggetti nei quali è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

3 campioni, su un totale di 56 campioni nel Giorno 28, appartenevano a soggetti nei quali è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

3 campioni, su un totale di 56 campioni nel Giorno 35, appartenevano a soggetti nei quali è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

4 campioni, su un totale di 57 campioni nel Giorno 49, appartenevano a soggetti nei quali è stata rilevata una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

CMV = Citomegalovirus; LLoQ = limite inferiore di quantificazione; NC = non calcolabile; SOT = trapianto di organo solido.

Concordanza totale tra diversi livelli di carica virale

La Tabella 29 mostra la concordanza dei risultati della carica virale ottenuti con il test **cobas®** CMV e con il test TaqMan® CMV su tutte le 1898 coppie di campioni valutabili, con riferimento alla popolazione SOT dello studio sulla concordanza clinica.

Tabella 29 Riepilogo delle analisi della concordanza (tutte le coppie di campioni) nella popolazione SOT

Tutte le coppie di campioni analizzati con il test cobas® CMV (\log_{10} UI/ml)	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Target Not Detected	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) < 2,137	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Da 2,137 a < 2,699	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Da 2,699 a < 3,255	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Da 3,255 a < 3,899	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) \geq 3,899	Test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Totale
Target Not Detected	1.022	8	0	0	0	0	1.030
< 2,137	168	193	6	0	0	0	367
Da 2,137 a < 2,699	3 ^a	76	61	8	0	0	148
Da 2,699 a < 3,255	0	12 ^c	73	63	1	0	149
Da 3,255 a < 3,899	1 ^b	5 ^d	8 ^e	44	58	0	116
\geq 3,899	0	0	3 ^f	1 ^b	45	39	88
Totale	1194	294	151	116	104	39	1898

Nota: la tabella include tutte le 1898 coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica. Il limite di quantificazione inferiore (LLoQ) è di 3,45E+01 UI/ml per il test **cobas®** CMV e di 1,37E+02 UI/ml per il test 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 Questi campioni discrepanti sono stati sequenziati ed è risultato che 2 su 3 contenevano una mutazione con un impatto significativo.

^b Questo campione discrepante è stato sequenziato ed è risultato che conteneva una mutazione con un impatto significativo.

^c 8 campioni discrepanti su 12 appartenevano a 5 soggetti: tutti gli 8 campioni sono stati sequenziati ed è risultato che contenevano una mutazione con un impatto significativo.

^d Questi 5 campioni discrepanti appartenevano a 3 soggetti: tutti i 5 campioni sono stati sequenziati ed è risultato che contenevano una mutazione con un impatto significativo.

^e 7 campioni discrepanti su 8 appartenevano a 3 soggetti: tutti i 7 campioni sono stati sequenziati ed è risultato che contenevano una mutazione con un impatto significativo.

^f Questi 3 campioni discrepanti appartenevano a 2 soggetti: tutti i 3 campioni sono stati sequenziati ed è risultato che contenevano una mutazione con un impatto significativo.

La Tabella 30 mostra un riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml) per tutte le coppie di campioni nella popolazione SOT.

Tabella 30 Riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale in base a diverse soglie per tutte le coppie di campioni nella popolazione SOT

Tutte le coppie di campioni analizzate con il test cobas® CMV	Percentuale di concordanza < soglia IC 95% (n/N)	Percentuale di concordanza ≥ soglia IC 95% (n/N)	Concordanza percentuale totale IC 95% (n/N)
Target Not Detected	85,6% 83,5%, 87,5% (1022/1194)	98,9% 97,8%, 99,5% (696/704)	90,5% 89,1%, 91,8% (1718/1898)
137 UI/ml (2,1 log₁₀ 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 log₁₀ 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 log₁₀ UI/ml***)	96,5% 95,5%, 97,3% (1693/1755)	99,3% 96,2%, 100,0% (142/143)	96,7% 95,8%, 97,4% (1835/1898)

Nota: la tabella include le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica. I campioni con un risultato "Target Not Detected" sono stati classificati come "< valore soglia in UI/ml".

* log₁₀ di 2,137 abbreviato in 2,1 log₁₀ UI/ml.

** log₁₀ di 2,699 abbreviato in 2,7 log₁₀ UI/ml.

*** log₁₀ di 3,255, abbreviato in 3,3 log₁₀ UI/ml.

L'intervallo di confidenza (IC) al 95% calcolato con il metodo esatto, presumendo l'indipendenza tra tutti i campioni.

La Tabella 31 mostra la concordanza dei risultati della carica virale ottenuti con il test **cobas**® CMV e con il test TaqMan® CMV su tutte le 272 coppie di campioni valutabili, nel Giorno 14, 21, 28, 35 o 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV nella popolazione SOT.

Tabella 31 Riepilogo delle analisi della concordanza (coppie di campioni prelevate nei punti temporali di interesse, dopo l'inizio della terapia anti-CMV) nella popolazione SOT

Tutti i punti temporali di interesse per il test cobas ® CMV (\log_{10} UI/ml)	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Target Not Detected	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) < 2,137	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Da 2,137 a < 2,699	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Da 2,699 a < 3,255	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Da 3,255 a < 3,899	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) ≥ 3,899	TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml) Totale
Target Not Detected	24	3	0	0	0	0	27
< 2,137	36	42	1	0	0	0	79
Da 2,137 a < 2,699	0	27	18	0	0	0	45
Da 2,699 a < 3,255	0	4 ^a	25	16	0	0	45
Da 3,255 a < 3,899	0	2 ^b	1 ^c	21	12	0	36
≥ 3,899	0	0	2 ^b	0	26	12	40
Totale	60	78	47	37	38	12	272

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, nei punti temporali di interesse (Giorno 14, 21, 28, 35 o 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV). Il limite di quantificazione inferiore (LLoQ) è 3,45E+01 UI/ml per il test **cobas**® CMV e 1,37E+02 UI/ml per il test 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 Questi 4 campioni discrepanti sono stati sequenziati ed è risultato che 2 dei 4 campioni contenevano una mutazione con un impatto significativo.

^b Questi 2 campioni discrepanti sono stati sequenziati ed è risultato che entrambi contenevano una mutazione con un impatto significativo.

^c Il campione discrepante è stato sequenziato ed è risultato che conteneva una mutazione con un impatto significativo.

La Tabella 32 mostra un riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml) per tutte le coppie di campioni valutabili, nel Giorno 14, 21, 28, 35 o 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV, nella popolazione SOT.

Tabella 32 Riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie per le coppie di campioni, nei giorni 14, 21, 28, 35 o 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV nella popolazione SOT

Tutti i punti temporali di interesse per il test cobas® CMV	Percentuale di concordanza < soglia	Percentuale di concordanza ≥ soglia	Concordanza percentuale totale
	IC 95% (n/N)	IC 95% (n/N)	IC 95% (n/N)
Target Not Detected	40,0% 27,6%, 53,5% (24/60)	98,6% 95,9%, 99,7% (209/212)	85,7% 80,9%, 89,6% (233/272)
137 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: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, nel Giorno 14, 21, 28, 35 o 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV.

I campioni con un risultato "Target Not Detected" sono stati classificati come "< valore soglia in UI/ml".

* log₁₀ di 2,137 abbreviato in 2,1 log₁₀ UI/ml.

** log₁₀ di 2,699 abbreviato in 2,7 log₁₀ UI/ml.

*** log₁₀ di 3,255 abbreviato in 3,3 log₁₀ UI/ml.

L'intervallo di confidenza (IC) al 95% calcolato con il metodo esatto, presumendo l'indipendenza tra tutti i campioni.

Confronto tra i metodi nella popolazione SOT

È stato condotto uno studio comparativo dei metodi, per valutare le prestazioni del test **cobas**® CMV rispetto a quelle di un altro test della carica virale di CMV approvato dalla FDA: il test TaqMan® CMV. Per questo studio sono state utilizzate 543 coppie di campioni, costituite da 381 campioni positivi per CMV, provenienti da uno studio di fase 2a, randomizzato, a doppio cieco, controllato con placebo, riguardante un regime di profilassi anti-CMV (vedere riferimento in un paragrafo precedente); altri 64 campioni residuali ottenuti da pazienti trapiantati; e 98 campioni creati artificialmente arricchendo il plasma EDTA negativo per CMV con un virus CMV coltivato (ceppo Merlin).

Nella Tabella 33 e dalla Figura 6 alla Figura 8 è rappresentata la regressione di Deming per i risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test **cobas**® CMV e con il test TaqMan® CMV da tutti i laboratori combinati, con riferimento alla popolazione sottoposta a trapianto di organo solido.

Tabella 33 Stime dei parametri, ottenute con la regressione di Deming, tra le cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test **cobas**® CMV vs. test TaqMan® CMV)

Campioni	N. di coppie di campioni	Parametro	Stima del parametro	Errore standard	IC 95% ^a IC 95% ^b	r
Clinici e arricchiti	543	Intercetta	0,348 0,407*	0,033	(0,283, 0,413) (0,356, 0,462)	0,98
Clinici e arricchiti	543	Pendenza	0,961 0,945*	0,009	(0,944, 0,979) (0,933, 0,957)	0,98
Clinici	445	Intercetta	0,193 0,229*	0,037	(0,120, 0,266) (0,160, 0,301)	0,97
Clinici	445	Pendenza	1,023 1,010*	0,010	(1,002, 1,044) (0,992, 1,030)	0,97
Arricchiti	98	Intercetta	0,012 N/A	0,063	(-0,114, 0,138) N/A	0,99
Arricchiti	98	Pendenza	0,985 N/A	0,013	(0,960, 1,010) N/A	0,99

Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La tabella include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml.

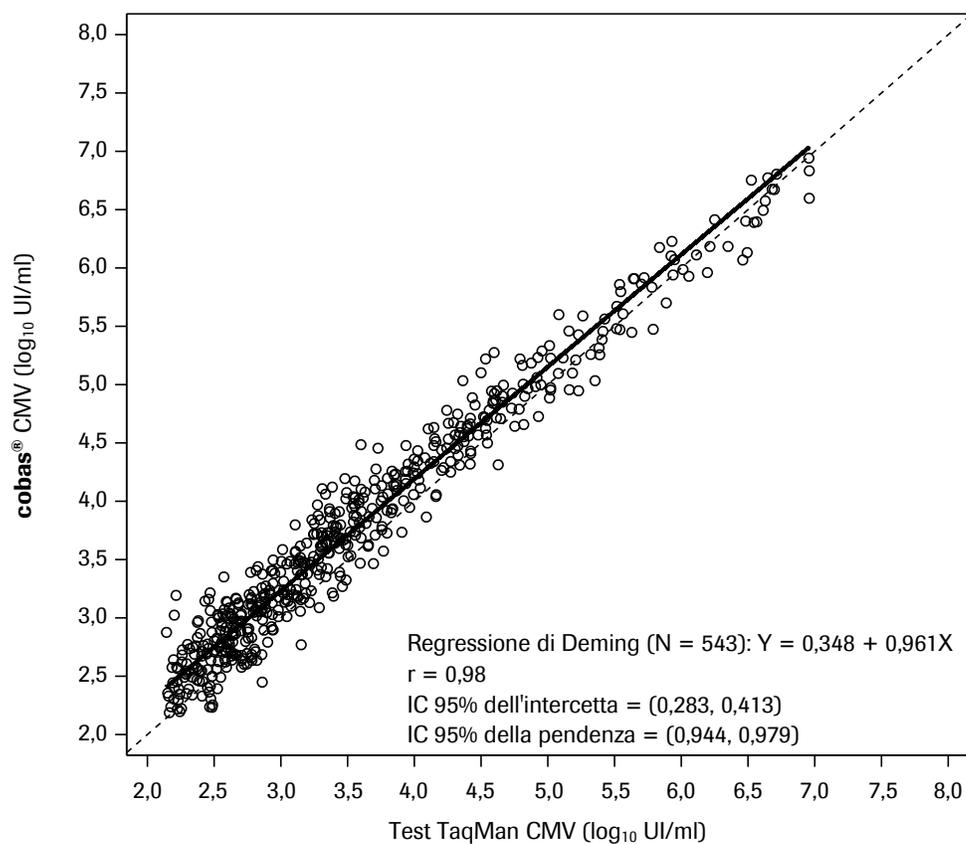
^a Indipendenza presunta tra tutti i campioni.

^b Correlazione aggiustata tra i campioni ottenuti dagli stessi soggetti, in base al metodo bootstrap con 500 iterazioni.

* Denota il 50° percentile della distribuzione dei parametri stimati, in base al metodo bootstrap.

IC = intervallo di confidenza; N/A = non applicabile; r = coefficiente di correlazione.

Figura 6 Diagramma della regressione lineare di Deming per le cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test cobas® CMV vs. test TaqMan® CMV; campioni clinici e campioni arricchiti)



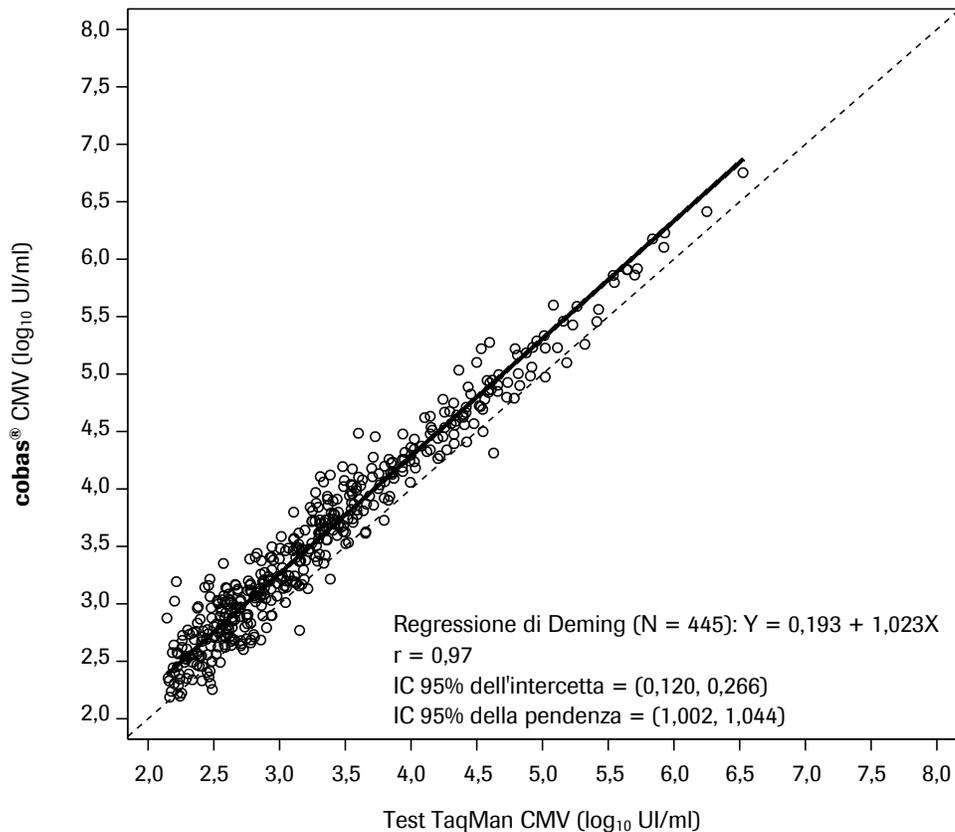
Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

La figura include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da $1,37E+02$ UI/ml a $9,1E+06$ UI/ml.

IC = intervallo di confidenza.

r = coefficiente di correlazione.

Figura 7 Diagramma della regressione lineare di Deming per le cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test cobas® CMV vs. test TaqMan® CMV; campioni clinici)



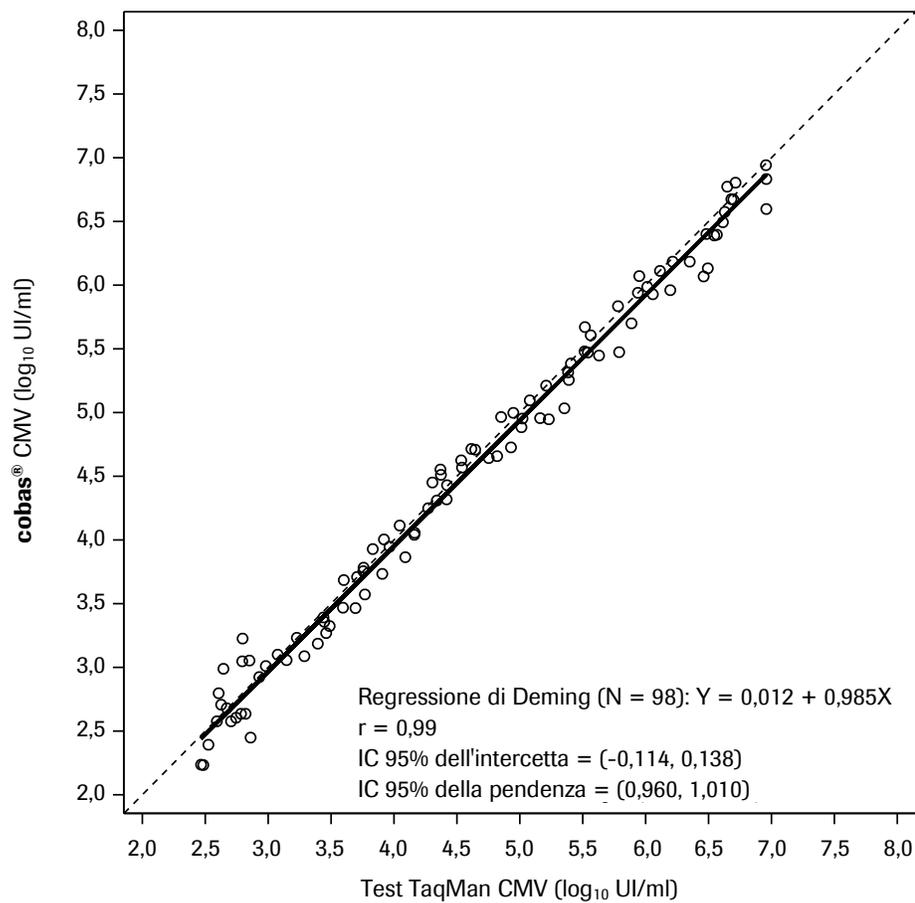
Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

La figura include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da $1,37E+02$ UI/ml a $9,1E+06$ UI/ml.

IC = intervallo di confidenza.

r = coefficiente di correlazione.

Figura 8 Diagramma della regressione lineare di Deming per le cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test cobas® CMV vs. test TaqMan® CMV; campioni arricchiti)



Nota: IC = intervallo di confidenza.

r = coefficiente di correlazione.

Errore sistematico ai livelli di carica virale selezionati

La Tabella 34 presenta l'errore sistematico (bias) tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV, ai 5 livelli di carica selezionati, compresi tra 2,14 log₁₀ UI/ml e 7,00 log₁₀ UI/ml, con gli equivalenti non trasformati associati.

Tabella 34 Errore sistematico tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV (log₁₀ UI/ml) ai 5 livelli di carica virale selezionati (campioni clinici e arricchiti)

Campioni	Livello di carica virale (in base al test TaqMan® CMV)	Differenza sistematica ^a
Clinici e arricchiti	2,137 log ₁₀ UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,265 log ₁₀ IU/ml (1,15E+02 UI/ml)
Clinici e arricchiti	2,699 log ₁₀ UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,243 log ₁₀ IU/ml (3,74E+02 UI/ml)
Clinici e arricchiti	3,255 log ₁₀ UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,221 log ₁₀ IU/ml (1,19E+03 UI/ml)
Clinici e arricchiti	4,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,192 log ₁₀ IU/ml (5,56E+03 UI/ml)
Clinici e arricchiti	7,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,075 log ₁₀ IU/ml (1,89E+06 UI/ml)
Clinici	2,137 log ₁₀ UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,242 log ₁₀ UI/ml (1,02E+02 UI/ml)
Clinici	2,699 log ₁₀ UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,255 log ₁₀ UI/ml (4,00E+02 UI/ml)
Clinici	3,255 log ₁₀ UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,268 log ₁₀ IU/ml (1,53E+03 UI/ml)
Clinici	4,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,285 log ₁₀ IU/ml (9,28E+03 UI/ml)
Clinici	7,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,354 log ₁₀ IU/ml (1,26E+07 UI/ml)
Arricchiti	2,137 log ₁₀ UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	-0,020 log ₁₀ IU/ml (-6,19E+00 UI/ml)
Arricchiti	2,699 log ₁₀ UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	-0,028 log ₁₀ IU/ml (-3,17E+01 UI/ml)
Arricchiti	3,255 log ₁₀ UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	-0,037 log ₁₀ IU/ml (-1,46E+02 UI/ml)
Arricchiti	4,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	-0,048 log ₁₀ IU/ml (-1,05E+03 UI/ml)
Arricchiti	7,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	-0,093 log ₁₀ IU/ml (-1,93E+06 UI/ml)

^a Differenza in UI/ml calcolata come 10(stima del test cobas® CMV log₁₀ UI/ml) - 10(livello di carica virale del test TaqMan® CMV log₁₀ UI/ml).

Media delle differenze tra coppie di campioni

La Tabella 35 presenta la media delle differenze tra coppie di campioni in base al test **cobas**® CMV e al test TaqMan® CMV, in corrispondenza dei valori soglia rappresentativi e degli intervalli di confidenza (IC) al 95% associati, che sono stati calcolati utilizzando il test t per le coppie di dati.²⁸

Tabella 35 Media delle differenze tra le cariche virali a coppie del test **cobas**® CMV meno il test TaqMan® CMV (\log_{10} UI/ml), in corrispondenza dei limiti decisionali (UI/ml) nella popolazione SOT

Campioni	Limiti decisionali rappresentativi ^a (UI/ml)	N	Media delle differenze tra coppie di campioni (\log_{10} UI/ml)	SE delle differenze tra coppie di campioni (\log_{10} UI/ml)	IC 95% (\log_{10} UI/ml)
Clinici e arricchiti	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	275	0,234	0,013	(0,208, 0,260)
Clinici e arricchiti	Da 2,0E+03 a < 2,0E+04	143	0,260	0,019	(0,223, 0,296)
Clinici e arricchiti	Da 2,0E+04 a < 1,0E+05	62	0,195	0,025	(0,145, 0,245)
Clinici e arricchiti	≥ 1,0E+05	63	0,012	0,025	(-0,039, 0,062)
Clinici e arricchiti	Generale	543	0,211	0,010	(0,191, 0,230)
Clinici	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	253	0,256	0,013	(0,230, 0,282)
Clinici	Da 2,0E+03 a < 2,0E+04	122	0,317	0,016	(0,285, 0,350)
Clinici	Da 2,0E+04 a < 1,0E+05	47	0,251	0,027	(0,196, 0,305)
Clinici	≥ 1,0E+05	23	0,201	0,030	(0,139, 0,262)
Clinici	Generale	445	0,269	0,009	(0,251, 0,288)
Arricchiti	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	22	-0,017	0,044	(-0,108, 0,074)
Arricchiti	Da 2,0E+03 a < 2,0E+04	21	-0,074	0,024	(-0,125, -0,024)
Arricchiti	Da 2,0E+04 a < 1,0E+05	15	0,021	0,031	(-0,045, 0,086)
Arricchiti	≥ 1,0E+05	40	-0,097	0,022	(-0,141, -0,053)
Arricchiti	Generale	98	-0,056	0,015	(-0,087, -0,025)

Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La tabella include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml. I risultati appaiati, compresi nell'intervallo lineare di entrambi i test, sono stati suddivisi in categorie di limiti decisionali rappresentativi, in base al risultato del test TaqMan® CMV (UI/ml).

^a Limiti decisionali rappresentativi equivalenti (UI/ml): da 1,37E+02 a < 2,0E+03 (UI/ml) = da 2,137 a < 3,301 (\log_{10} UI/ml), da 2,0E+03 a < 2,0E+04 (UI/ml) = da 3,301 a < 4,301 (\log_{10} UI/ml), da 2,0E+04 a < 1,0E+05 (UI/ml) = da 4,301 a < 5,000 (\log_{10} UI/ml) e ≥ 1,0E+05 (UI/ml) = ≥ 5,000 (\log_{10} UI/ml).

N = numero di coppie di campioni; SE = errore standard; IC = intervallo di confidenza.

Differenza totale ammissibile (ATD)

Nella Tabella 36 e dalla Figura 9 alla Figura 11 viene presentata la differenza totale ammissibile (*Allowable Total Difference*: ATD) ottenuta utilizzando le singole differenze delle coppie di risultati ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV rispetto alla media dei valori soglia rappresentativi. Sono inoltre calcolate le percentuali delle coppie di risultati nella zona ATD.

Tabella 36 Percentuale dei campioni nella popolazione SOT che rientrano negli intervalli della zona ATD (UI/ml) (test cobas® CMV vs. test TaqMan® CMV)

Campioni	Categoria intervallo	Intervallo ^a (UI/ml)	Percentuale di coppie di campioni entro la zona ATD % (n/N)
Clinici e arricchiti	Bassi	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	95,6% (239/250)
Clinici e arricchiti	Medi	Da 2,0E+03 a < 8,0E+03	89,6% (103/115)
Clinici e arricchiti	Alti	Da 8,0E+03 a 9,10E+06	95,5% (170/178)
Clinici e arricchiti	Generale	-	94,3% (512/543)
Clinici	Bassi	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	95,2% (216/227)
Clinici	Medi	Da 2,0E+03 a < 8,0E+03	88,2% (90/102)
Clinici	Alti	Da 8,0E+03 a 9,10E+06	93,1% (108/116)
Clinici	Generale	-	93,0% (414/445)
Arricchiti	Bassi	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	100,0% (23/23)
Arricchiti	Medi	Da 2,0E+03 a < 8,0E+03	100,0% (13/13)
Arricchiti	Alti	Da 8,0E+03 a 9,10E+06	100,0% (62/62)
Arricchiti	Generale	-	100,0% (98/98)

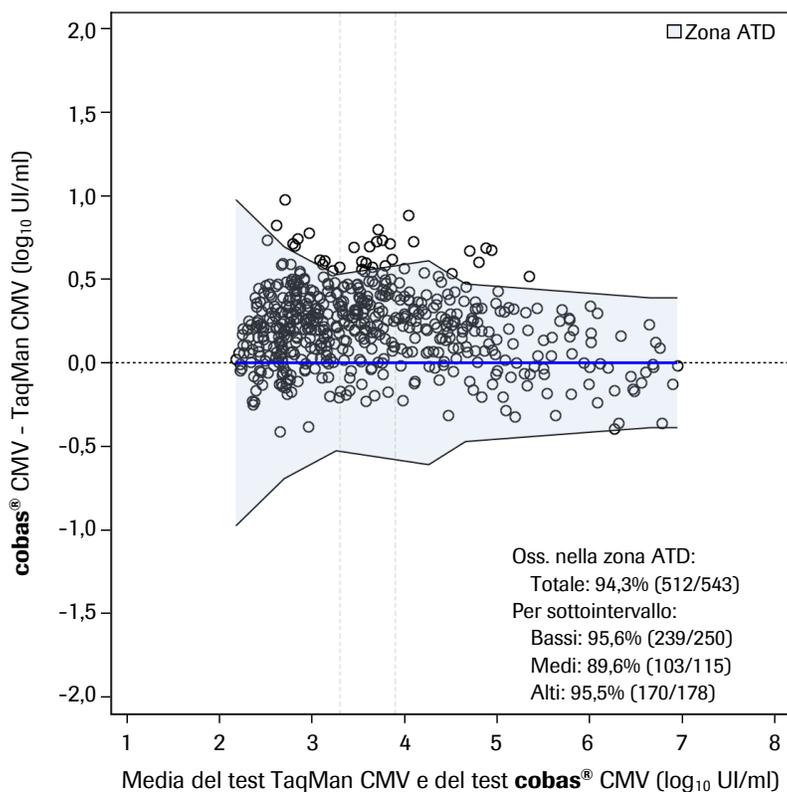
Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La tabella include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml. I risultati appaiati sono stati suddivisi in categorie di intervalli di cariche virali, in base al risultato del test TaqMan® CMV (UI/ml). Zona ATD = zona di *Allowable Total Difference*, differenza totale ammissibile.

^a Le equivalenze con rilevanza medica (UI/ml) per gli intervalli da 1,37E+02 a < 2,0E+03, da 2,0E+03 a < 8,0E+03 e da 8,0E+03 a 9,1E+06 in \log_{10} UI/ml sono, rispettivamente: da 2,137 a < 3,301, da 3,301 a < 3,903 e da 3,903 a 6,959.

N = numero totale di coppie di campioni entro l'intervallo appropriato.

n = numero totale di coppie di campioni che rientrano nella zona ATD entro l'intervallo appropriato.

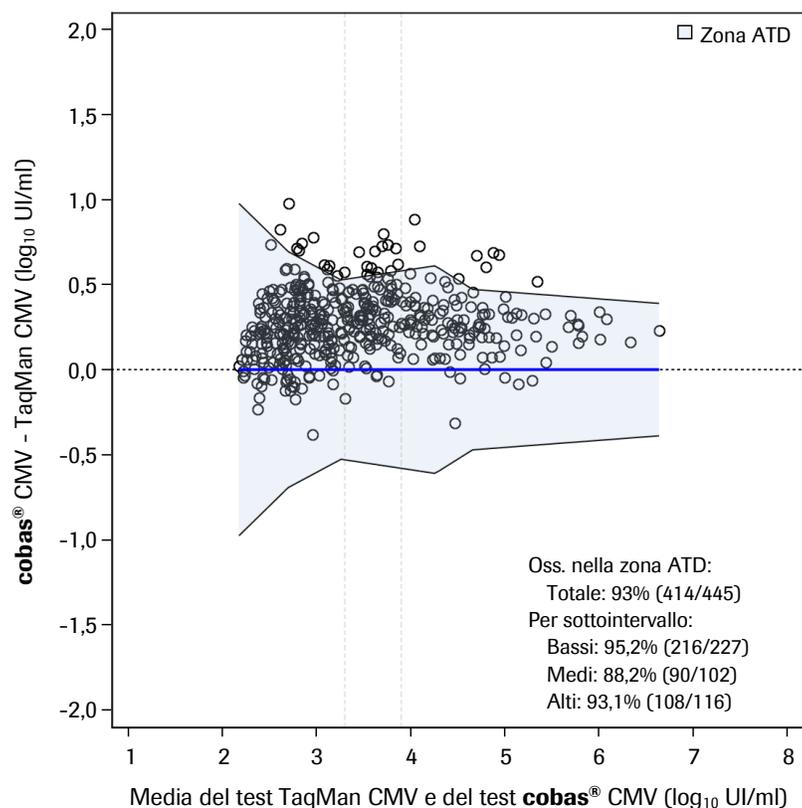
Figura 9 Diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo alle differenze delle cariche virali, rispetto alla loro media (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test **cobas**® CMV vs. test TaqMan® CMV; campioni clinici e arricchiti)



ATD = differenza totale ammissibile; Oss. = osservazioni.

Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La figura include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da $1,37E+02$ UI/ml a $9,1E+06$ UI/ml. I risultati appaiati sono stati suddivisi in categorie di intervalli di cariche virali, in base al risultato del test TaqMan® CMV (UI/ml).

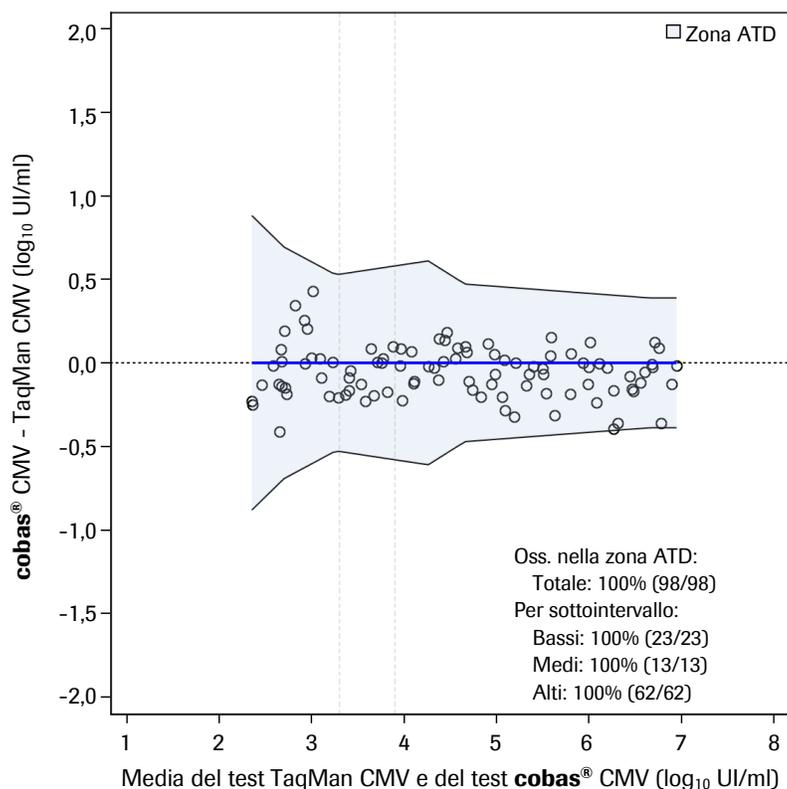
Figura 10 Diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo alle differenze delle cariche virali, vs. media (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test **cobas**® CMV vs. test TaqMan® CMV; campioni clinici)



ATD = differenza totale ammissibile; Oss. = osservazioni.

Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 26 campioni appartenenti a 9 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La figura include soltanto le coppie di campioni con risultati appaiati compresi nell'intervallo lineare sovrapponibile nei 2 test: da $1,37E+02$ UI/ml a $9,1E+06$ UI/ml. I risultati appaiati sono stati suddivisi in categorie di intervalli di cariche virali, in base al risultato del test TaqMan® CMV (UI/ml).

Figura 11 Diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo alle differenze delle cariche virali, vs. media (\log_{10} UI/ml) nella popolazione SOT (test cobas® CMV vs. test TaqMan® CMV; campioni arricchiti)



ATD = differenza totale ammissibile; Oss. = osservazioni.

Concordanza con i campioni negativi

Con ogni test sono stati analizzati 30 campioni negativi per le IgG di CMV. I risultati sono riportati nella Tabella 37.

Tabella 37 Risultati dei campioni negativi per le IgG di CMV (test cobas® CMV vs. test TaqMan® CMV)

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

Nota: il limite di quantificazione inferiore (LLoQ) per il test TaqMan® CMV è 1,37E+02 UI/ml.

CMV = Citomegalovirus; IgG = immunoglobuline G.

Valutazione delle prestazioni cliniche: popolazione HSCT

L'obiettivo di questo studio era la valutazione della concordanza clinica tra il test cobas® CMV e il test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV in una popolazione HSCT (*Hematopoietic Stem Cell Transplant*: trapianto di cellule staminali ematopoietiche). Sono stati analizzati i campioni residuali di uno studio clinico di fase 2 multicentrico, randomizzato, a doppio cieco, controllato con placebo, a dose variabile, riguardante il brincidofovir per la profilassi anti-CMV²¹.

Tutti i campioni valutabili che sono stati analizzati erano stati prelevati, nel tempo, da 258 soggetti in totale. Le regioni target del test sono state sequenziate per quanto riguarda i campioni che presentavano un offset > 0,5 log₁₀ UI/ml tra i 2 test, oltre che per un gruppo rappresentativo di campioni senza un offset nelle misurazioni. Le sequenze associate a un offset medio > 0,9 log₁₀ UI/ml sono state definite “impattanti”. Sono state identificate solo le sequenze impattanti rispetto ai target del test COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

La Tabella 38 riassume le caratteristiche anagrafiche e i valori di partenza dei 258 soggetti.

Tabella 38 Caratteristiche anagrafiche e valori di partenza dei soggetti HSCT

Caratteristiche	Gruppi	Statistiche
Numero totale di soggetti	Totale, N	258
Età (anni)	Media ± DS	51 ± 12,3
Età (anni)	Mediana	51
Età (anni)	Intervallo	21-71
Sesso, n (%)	Maschio	144 (55,8%)
Sesso, n (%)	Femmina	114 (44,2%)
Etnia, n (%)	Ispanico/Latino	24 (9,3%)
Etnia, n (%)	Non ispanico/Non latino	230 (89,1%)
Etnia, n (%)	Sconosciuto	4 (1,6%)
Razza, n (%)	Asiatico	15 (5,8%)
Razza, n (%)	Nero/afro-americano	10 (3,9%)
Razza, n (%)	Bianco	228 (88,4%)
Razza, n (%)	Altro	5 (1,9%)
Braccio dello studio, n (%)	Regime di profilassi anti-CMV	164 (63,6%)
Braccio dello studio, n (%)	Placebo	61 (23,6%)
Braccio dello studio, n (%)	Problema di screening	33 (12,8%)

Nota: un soggetto per il quale non erano disponibili/non erano state fornite informazioni è stato classificato come “Sconosciuto” con riferimento alla caratteristica corrispondente. Le seguenti coorti sono state incluse nella categoria del regime di profilassi anti-CMV per il Braccio dello studio: Trattamento CMX001 Coorte 1, Trattamento CMX001 Coorte 2, Trattamento CMX001 Coorte 3 e Trattamento CMX001 Coorte 4.

CMV = Citomegalovirus; DS = deviazione standard.

Concordanza clinica nella popolazione HSCT

Concordanza ai valori di partenza in base alle soglie di carica virale

La Tabella 39 mostra la concordanza tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV quando viene utilizzata una soglia “Target Not Detected” ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Tabella 39 Analisi della concordanza tra i risultati del test cobas® CMV e quelli del test TaqMan® CMV, applicando la soglia “Target Not Detected” nella popolazione HSCT

Valori di partenza cobas® CMV	Test TaqMan® CMV Target Not Detected	Test TaqMan® CMV Detected	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
Target Not Detected	11	0	11	100,0% (71,5%, 100,0%)
Detected	8*	48	56	85,7% (73,8%, 93,6%)
Totale	19	48	67	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto)	57,9% (33,5%, 79,7%)	100,0% (92,6%, 100,0%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	88,1% (77,8%, 94,7%)	-	-	-
Valore p ^a	0,0078	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

* 1 degli 8 campioni discrepanti apparteneva a soggetti che presentavano una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Calcolato con il test di McNemar.

IC = intervallo di confidenza.

La Tabella 40 mostra la concordanza tra il test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV quando viene utilizzata una soglia “1,37E+02 UI/ml” ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Tabella 40 Analisi della concordanza tra i risultati del test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV, applicando la soglia “1,37E+02 UI/ml” nella popolazione HSCT

Valori di partenza 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)	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
< 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%)
Totale	37	30	67	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto)	97,3% (85,8%, 99,9%)	96,7% (82,8%, 99,9%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	97,0% (89,6%, 99,6%)	-	-	-
Valore p ^a	1,0000	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Il campione con il risultato “Target Not Detected” o con una carica virale rilevabile inferiore a 1,37E+02 UI/ml è stato classificato come “< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log₁₀ UI/ml)”.

Su 2 campioni discrepanti, nessuno apparteneva a soggetti che presentavano una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Calcolato con il test di McNemar.

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

IC = intervallo di confidenza.

La Tabella 41 mostra la concordanza tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV quando viene utilizzata una soglia “5,0E+02 UI/ml” ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Tabella 41 Analisi della concordanza tra i risultati del test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV, applicando la soglia “5,0E+02 UI/ml” nella popolazione HSCT

Valori di partenza 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)	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
< 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%)
Totale	43	24	67	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto)	100,0% (91,8%, 100,0%)	95,8% (78,9%, 99,9%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	98,5% (92,0%, 100,0%)	-	-	-
Valore p ^a	1,0000	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Il campione con il risultato “Target Not Detected” o con una carica virale rilevabile inferiore a 5,0E+02 UI/ml è stato classificato come “< 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log₁₀ UI/ml)”.

Su 1 campione discrepante, nessuno apparteneva a soggetti che presentavano una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Calcolato con il test di McNemar.

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

IC = intervallo di confidenza.

La Tabella 42 mostra la concordanza tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV quando viene utilizzata una soglia “1,8E+03 UI/ml” ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Tabella 42 Analisi della concordanza tra i risultati del test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV, applicando la soglia “1,8E+03 UI/ml” nella popolazione HSCT

Valori di partenza 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)	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
< 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%)
Totale	50	17	67	-
Concordanza colonne (IC 95% esatto)	96,0% (86,3%, 99,5%)	100,0% (80,5%, 100,0%)	-	-
Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	97,0% (89,6%, 99,6%)	-	-	-
Valore p ^a	0,5000	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, ai valori di partenza per i soggetti che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Il campione con il risultato “Target Not Detected” o con una carica virale rilevabile inferiore a 1,8E+03 UI/ml è stato classificato come “< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log₁₀ UI/ml)”.

Su 2 campioni discrepanti, nessuno apparteneva a soggetti che presentavano una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a Calcolato con il test di McNemar.

1,0E+00 UI/ml = 1,1 copie/ml; 1,8E+03 UI/ml = 2000 copie/ml.

IC = intervallo di confidenza.

Analisi di risoluzione dell'episodio di CMV

La Tabella 43 mostra le analisi della concordanza della risoluzione dell'episodio di CMV, in base al punto temporale, per i soggetti con viremia che hanno iniziato la terapia anti-CMV.

Tabella 43 Analisi della concordanza della risoluzione dell'episodio di CMV, in base al punto temporale, per i soggetti HSCT con viremia che hanno iniziato la terapia anti-CMV

Punto temporale	cobas® CMV	TaqMan® CMV Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	TaqMan® CMV Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
Giorno 14	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	0	0	0	NC
Giorno 14	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	0	14	14	100,0% (76,8%, 100,0%)
Giorno 14	Totale	0	14	14	-
Giorno 14	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	NC	100,0% (76,8%, 100,0%)	-	-
Giorno 14	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	100,0% (76,8%, 100,0%)	-	-	-
Giorno 21	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	1	0	1	100,0% (2,5%, 100,0%)
Giorno 21	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	0	12	12	100,0% (73,5%, 100,0%)
Giorno 21	Totale	1	12	13	-

Punto temporale	cobas® CMV	TaqMan® CMV Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	TaqMan® CMV Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	Totale	Concordanza righe (IC 95% esatto)
Giorno 21	Concordanza colonne (IC 95% esatto)	100,0% (2,5%, 100,0%)	100,0% (73,5%, 100,0%)	-	-
Giorno 21	Concordanza percentuale totale (IC 95% esatto)	100,0% (75,3%, 100,0%)	-	-	-
Giorno 28	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	2	0	2	100,0% (15,8%, 100,0%)
Giorno 28	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	0	7	7	100,0% (59,0%, 100,0%)
Giorno 28	Totale	2	7	9	-
Giorno 28	Concordanza colonne	100,0% (15,8%, 100,0%)	100,0% (59,0%, 100,0%)	-	-
Giorno 28	Concordanza percentuale totale	100,0% (66,4%, 100,0%)	-	-	-
Giorno 49	Risoluzione dell'episodio di CMV ^a	3	0	3	100,0% (29,2%, 100,0%)
Giorno 49	Nessuna risoluzione dell'episodio di CMV	0	1	1	100,0% (2,5%, 100,0%)
Giorno 49	Totale	3	1	4	-
Giorno 49	Concordanza colonne	100,0% (29,2%, 100,0%)	100,0% (2,5%, 100,0%)	-	-
Giorno 49	Concordanza percentuale totale	100,0% (39,8%, 100,0%)	-	-	-

Nota: la tabella include soltanto i soggetti con risultati appaiati valutabili per l'analisi della concordanza clinica nel Giorno 14, 21, 28 o 49 dopo l'inizio della terapia anti-CMV, il cui stato di risoluzione doveva essere disponibile per ciascuno dei test corrispondenti. Per 2 soggetti, la risoluzione dell'episodio di CMV era avvenuta nel Giorno 28 con entrambi i test e lo stato di risoluzione era stato spostato al Giorno 49.

Nessuno dei soggetti inclusi in questa analisi presentava una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

^a La risoluzione dell'episodio di CMV è stata definita con 2 campioni consecutivi (preferibilmente prelevati a una settimana di distanza l'uno dall'altro) che sono stati testati al di sotto del valore LLoQ del test TaqMan® CMV (137 UI/ml), coerentemente con le raccomandazioni contenute nelle attuali linee guida, in base alle quali servono 2 campioni "negativi" consecutivi come punto finale della carica virale per il trattamento degli episodi acuti di CMV.

CMV = Citomegalovirus. NC = non calcolabile.

La Tabella 44 mostra le concordanze percentuali totali tra il test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV, ricavate dall'analisi della concordanza della risoluzione dell'episodio di CMV per i soggetti con viremia nel Giorno 14, 21, 28 e 49. È stata stimata una concordanza percentuale totale (*Overall Percent Agreement: OPA*) del 100% per tutti i punti temporali di interesse. È dunque soddisfatto il criterio di accettazione dell'OPA.

Tabella 44 Concordanza percentuale totale, ottenuta dall'analisi della concordanza della risoluzione dell'episodio di CMV per i soggetti HSCT con viremia che hanno iniziato una terapia anti-CMV

Punto temporale	Concordanza percentuale totale non risolta	Concordanza percentuale totale risolta	Concordanza percentuale totale	IC 95% esatto Concordanza percentuale
Giorno 14	100,0% (14/14)	NC	100,0% (14/14)	(76,8%, 100,0%)
Giorno 21	100,0% (12/12)	100,0% (1/1)	100,0% (13/13)	(75,3%, 100,0%)
Giorno 28	100,0% (7/7)	100,0% (2/2)	100,0% (9/9)	(66,4%, 100,0%)
Giorno 49	100,0% (1/1)	100,0% (3/3)	100,0% (4/4)	(39,8%, 100,0%)

Nota: per 2 soggetti, la risoluzione dell'episodio di CMV era avvenuta nel Giorno 28 con entrambi i test e lo stato di risoluzione era stato spostato al Giorno 49. Nessuno dei soggetti inclusi in questa analisi presentava una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La risoluzione dell'episodio di CMV è stata definita con 2 campioni consecutivi (preferibilmente prelevati a una settimana di distanza l'uno dall'altro) che sono stati testati al di sotto del valore LLoQ del test TaqMan® CMV (1,37E+02 UI/ml), coerentemente con le raccomandazioni contenute nelle attuali linee guida, in base alle quali servono 2 campioni "negativi" consecutivi come punto finale della carica virale per il trattamento degli episodi acuti di CMV.

CMV = Citomegalovirus; LLoQ = limite inferiore di quantificazione; NC = non calcolabile.

Concordanza totale in base ai livelli di carica virale

La Tabella 45 mostra la concordanza totale dei risultati della carica virale ottenuti con il test **cobas**® CMV e con il test TaqMan® CMV su tutte le 1367 coppie di campioni incluse nello studio sulla concordanza clinica.

Tabella 45 Concordanza totale dei risultati della carica virale ottenuti con il test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV nella popolazione HSCT

Tutte le coppie di campioni analizzati con il test cobas ® CMV (log ₁₀ UI/ml)	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Target Not Detected	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) < 2,137	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Da 2,137 a < 2,699	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Da 2,699 a < 3,255	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Da 3,255 a < 3,899	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) ≥ 3,899	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Totale
Target Not Detected	918	23	0	0	1	1	943
< 2,137	154	138	9	0	0	0	301
Da 2,137 a < 2,699	0	13	24	5	0	0	42
Da 2,699 a < 3,255	1*	1	17	17	0	0	36
Da 3,255 a 3,899	0	0	0	8	16	1	25
> 3,899	0	0	0	0	10	10	20
Totale	1073	175	50	30	27	12	1367

Nota: la tabella include tutte le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica. Il limite di quantificazione inferiore (LLoQ) è 3,45E+01 UI/ml per il test **cobas**® CMV e 1,37E+02 UI/ml per il test TaqMan® CMV. I risultati sono stati suddivisi in categorie di 5 intervalli di cariche virali, in base al risultato di ciascun test corrispondente, espresso in UI/ml.

La tabella include 7 campioni appartenenti a 3 soggetti che presentavano una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

* Il campione appartiene a un soggetto che presentava una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

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

La Tabella 46 mostra un riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml) per tutte le coppie di campioni nella popolazione HSCT.

Tabella 46 Riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie, per i pazienti HSCT (tutte le coppie di campioni)

Soglia	Concordanza percentuale < soglia IC esatto al 95% (n/N)	Concordanza percentuale ≥ soglia IC esatto al 95% (n/N)	Concordanza percentuale totale IC esatto al 95% (n/N)
Target Not Detected	85,6% (83,3%, 87,6%) (918/1073)	91,5% (87,7%, 94,4%) (269/294)	86,8% (84,9%, 88,6%) (1187/1367)
1,37E+02 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: la tabella include tutte le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica. Il limite di sensibilità (LoD) del test cobas® CMV è 3,45E+01 UI/ml. Il limite di sensibilità (LoD) del test TaqMan® CMV è 1,37E+02 UI/ml.

Gli intervalli di confidenza (IC) al 95% sono stati calcolati con il metodo esatto, presumendo l'indipendenza tra tutti i campioni.

1 UI/ml = 1,1 copie/ml; LoD = limite di sensibilità.

La Tabella 47 mostra la concordanza totale dei risultati della carica virale ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, utilizzando campioni prelevati da pazienti che avevano iniziato la terapia anti-CMV, nei punti temporali di interesse indicati nel protocollo, dopo l'inizio della terapia anti-CMV.

Tabella 47 Concordanza totale tra i risultati della carica virale ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, utilizzando i campioni prelevati dopo l'inizio della terapia anti-CMV, nella popolazione HSCT

Tutti i punti temporali per il test cobas® CMV (log ₁₀ UI/ml)	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Target Not Detected	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) < 2,137	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Da 2,137 a < 2,699	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Da 2,699 a < 3,255	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Da 3,255 a < 3,899	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) ≥ 3,899	Test TaqMan® CMV (log ₁₀ UI/ml) Totale
Target Not Detected	17	1	0	0	0	0	18
< 2,137	10	8	0	0	0	0	18
Da 2,137 a < 2,699	0	0	0	0	0	0	0
Da 2,699 a < 3,255	1*	0	2	2	0	0	5
Da 3,255 a 3,899	0	0	0	2	0	0	2
> 3,899	0	0	0	0	1	1	2
Totale	28	9	2	4	1	1	45

Nota: la tabella include soltanto le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica, nei punti temporali di interesse (Giorno 14, 21, 28 o 49). Il limite di quantificazione inferiore (LLOQ) è 3,45E+01 UI/ml per il test cobas® CMV e 1,37E+02 UI/ml per il test TaqMan® CMV. I risultati sono stati suddivisi in categorie di 5 intervalli di cariche virali, in base al risultato di ciascun test corrispondente, espresso in UI/ml.

* Il campione appartiene a un soggetto che presentava una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

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

La Tabella 48 mostra un riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml) per tutte le coppie di campioni, prelevati dai pazienti HSCT nei punti temporali di interesse dopo l'inizio della terapia anti-CMV.

Tabella 48 Riepilogo della concordanza dei risultati della carica virale, in base a diverse soglie, per i pazienti HSCT (campioni prelevati nei punti temporali di interesse, dopo l'inizio della terapia anti-CMV)

Soglia	Concordanza percentuale < soglia IC esatto al 95% (n/N)	Concordanza percentuale ≥ soglia IC esatto al 95% (n/N)	Concordanza percentuale totale IC esatto al 95% (n/N)
Target Not Detected	60,7% (40,6%, 78,5%) (17/28)	94,1% (71,3%, 99,9%) (16/17)	73,3% (58,1%, 85,4%) (33/45)
1,37E+02 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: la tabella include tutte le coppie di campioni valutabili per l'analisi della concordanza clinica. Il limite di sensibilità (LoD) del test cobas® CMV è 3,45E+01 UI/ml. Il limite di sensibilità (LoD) del test TaqMan® CMV è 1,37E+02 UI/ml.

Gli intervalli di confidenza (IC) al 95% sono stati calcolati con il metodo esatto, presumendo l'indipendenza tra tutti i campioni.

1 UI/ml = 1,1 copie/ml; LoD = limite di sensibilità.

Confronto tra i metodi nella popolazione HSCT

È stato condotto uno studio comparativo dei metodi, per valutare le prestazioni del test **cobas**® CMV rispetto a quelle di un altro test della carica virale di CMV approvato dalla FDA: il test TaqMan® CMV per i pazienti sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche. Per questo studio sono state utilizzate 204 coppie di campioni, costituite da 107 campioni positivi per CMV ottenuti da uno studio clinico di fase 2 riguardante la profilassi anti-CMV (vedere riferimento in un paragrafo precedente); 97 campioni creati artificialmente, arricchendo il plasma negativo ottenuto da pazienti HSCT con un virus CMV coltivato (ceppo Merlin).

La Tabella 49 presenta le stime dei parametri, ottenute con la regressione di Deming, tra le cariche virali (\log_{10} UI/ml) ottenute con il test **cobas**® CMV e con il test TaqMan® CMV, suddivise per tipo di campione.

Tabella 49 Stime dei parametri, ottenute con la regressione di Deming, tra le cariche virali (\log_{10} UI/ml) ottenute con il test **cobas**® CMV e con il test TaqMan® CMV nella popolazione HSCT in base al tipo di campione

Tipo di campione	N. di coppie di campioni	Parametro	Stima del parametro	Errore standard	IC 95% ^a IC 95% di bootstrap ^b	r
Clinici e arricchiti	204	Intercetta	0,145 0,172*	0,041	(0,064, 0,227) (0,132, 0,219)	0,99
Clinici e arricchiti	204	Pendenza	0,990 0,982*	0,009	(0,972, 1,008) (0,972, 0,990)	0,99
Clinici	107	Intercetta	-0,146 -0,188*	0,106	(-0,356, 0,064) (-0,462, -0,008)	0,96
Clinici	107	Pendenza	1,110 1,125*	0,034	(1,041, 1,178) (1,066, 1,217)	0,96
Arricchiti	97	Intercetta	-0,097 N/A	0,063	(-0,223, 0,028) N/A	0,99
Arricchiti	97	Pendenza	1,025 N/A	0,012	(1,000, 1,049) N/A	0,99

Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La tabella include soltanto le coppie di campioni, clinici e arricchiti, con risultati compresi nell'intervallo lineare comune ai 2 test: da 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml.

^a Indipendenza presunta tra tutti i campioni.

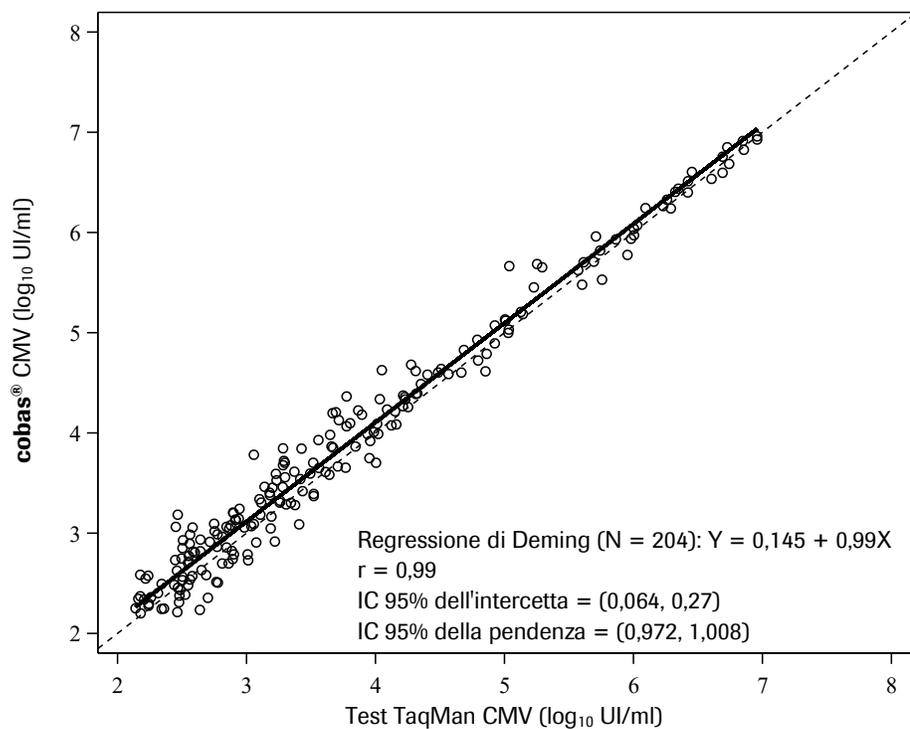
^b Correlazione aggiustata tra i campioni ottenuti dallo stesso soggetto, in base al metodo bootstrap con 500 iterazioni.

* Denota il 50° percentile della distribuzione dei parametri stimati, in base al metodo bootstrap.

IC = intervallo di confidenza; **cobas**® CMV = **cobas**® CMV per l'uso sui **cobas**® 6800/8800 Systems; NA = non applicabile; r = coefficiente di correlazione.

La Figura 12 presenta il diagramma della regressione di Deming relativo ai risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, da campioni combinati clinici e arricchiti.

Figura 12 Diagramma della regressione lineare di Deming, relativo alle cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione HSCT (campioni clinici e arricchiti)

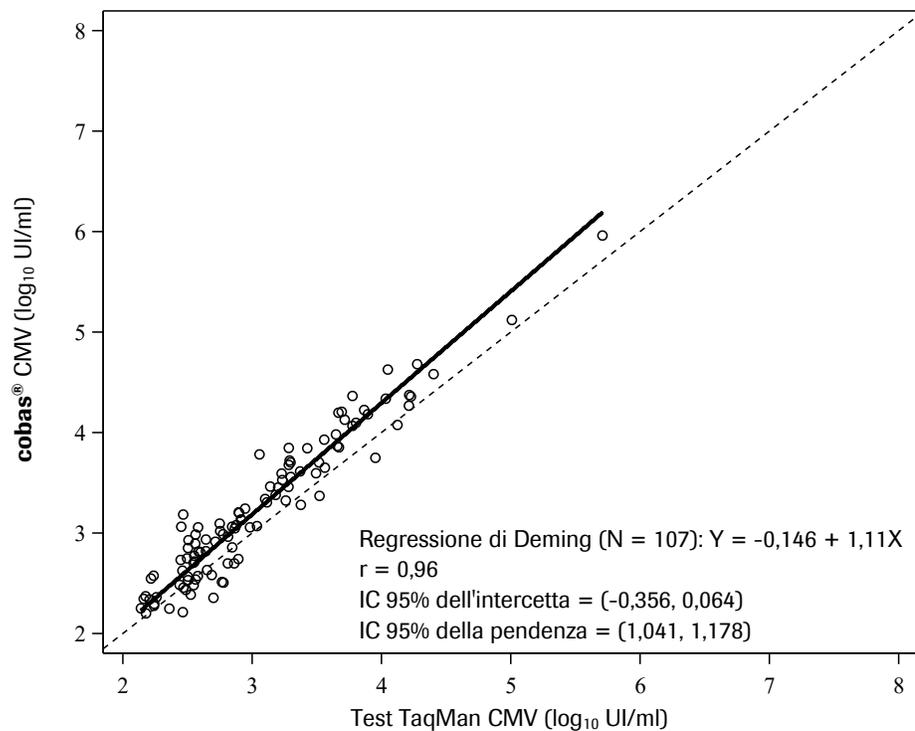


Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

IC = intervallo di confidenza; r = coefficiente di correlazione.

La Figura 13 presenta il diagramma di regressione di Deming relativo ai risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, da campioni clinici.

Figura 13 Diagramma della regressione lineare di Deming, relativo alle cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione HSCT (campioni clinici)

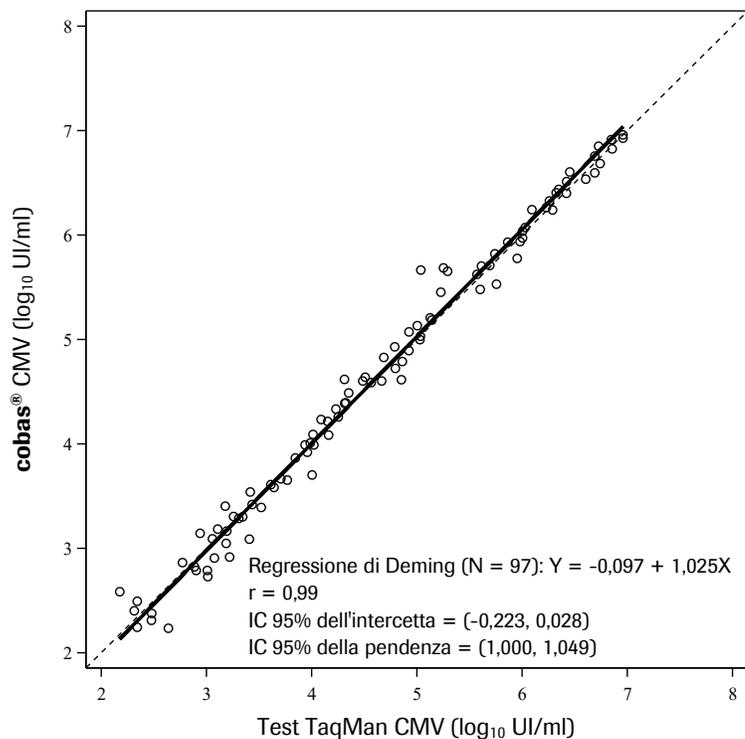


Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

IC = intervallo di confidenza; r = coefficiente di correlazione.

La Figura 14 presenta il diagramma di regressione di Deming relativo ai risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, da campioni arricchiti.

Figura 14 Diagramma della regressione lineare di Deming, relativo alle cariche virali (\log_{10} UI/ml) nella popolazione HSCT (campioni arricchiti)



IC = intervallo di confidenza; r = coefficiente di correlazione.

Errore sistematico ai livelli di carica virale selezionati

La Tabella 50 presenta l'errore sistematico (bias) tra il test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV, ai 5 livelli di carica selezionati, compresi tra 2,14 log₁₀ UI/ml e 7,00 log₁₀ UI/ml, con gli equivalenti non trasformati associati.

Tabella 50 Errore sistematico tra il test **cobas**® CMV e il test TaqMan® CMV (log₁₀ UI/ml) ai 5 livelli di carica virale selezionati nella popolazione HSCT (campioni clinici e arricchiti)

Tipo di campione	Livello di carica virale (in base al test TaqMan® CMV)	Differenza sistematica tra il test cobas® CMV e il test TaqMan® CMV
Clinici e arricchiti	2,137 log ₁₀ UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,124 log ₁₀ IU/ml (4,51E+01 UI/ml)
Clinici e arricchiti	2,699 log ₁₀ UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,118 log ₁₀ IU/ml (1,56E+02 UI/ml)
Clinici e arricchiti	3,255 log ₁₀ UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,112 log ₁₀ IU/ml (5,32E+02 UI/ml)
Clinici e arricchiti	4,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,105 log ₁₀ IU/ml (2,74E+03 UI/ml)
Clinici e arricchiti	7,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,075 log ₁₀ IU/ml (1,89E+06 UI/ml)
Clinici	2,137 log ₁₀ UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,089 log ₁₀ IU/ml (3,12E+01 UI/ml)
Clinici	2,699 log ₁₀ UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,151 log ₁₀ IU/ml (2,08E+02 UI/ml)
Clinici	3,255 log ₁₀ UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,212 log ₁₀ IU/ml (1,13E+03 UI/ml)
Clinici	4,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,294 log ₁₀ IU/ml (9,68E+03 UI/ml)
Clinici	7,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,624 log ₁₀ IU/ml (3,21E+07 UI/ml)
Arricchiti	2,137 log ₁₀ UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	-0,044 log ₁₀ IU/ml (-1,31E+01 UI/ml)
Arricchiti	2,699 log ₁₀ UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	-0,030 log ₁₀ IU/ml (-3,29E+01 UI/ml)
Arricchiti	3,255 log ₁₀ UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	-0,016 log ₁₀ IU/ml (-6,36E+01 UI/ml)
Arricchiti	4,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,003 log ₁₀ IU/ml (6,93E+01 UI/ml)
Arricchiti	7,000 log ₁₀ UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,078 log ₁₀ IU/ml (1,97E+06 UI/ml)

Media delle differenze tra coppie di campioni

La Tabella 51 mostra la stima dell'errore sistematico (bias) come media osservata delle differenze di carica virale tra le coppie di campioni, per tipo di campione. È stato stimato un errore sistematico totale (bias) di 0,107 log₁₀ UI/ml di media, lungo l'intervallo lineare comune per i campioni combinati clinici e arricchiti. La tabella mostra inoltre la stima dell'errore sistematico (bias) stratificata in base ai limiti decisionali rappresentativi.

Tabella 51 Media delle differenze di carica virale delle coppie di campioni (log₁₀ UI/ml) ottenute con il test **cobas®** CMV e con il test TaqMan® CMV, in corrispondenza dei limiti decisionali (UI/ml) nella popolazione HSCT in base al tipo di campione

Tipo di campione	Limiti decisionali rappresentativi (UI/ml) ^a	N	Media delle differenze tra coppie di campioni (log ₁₀ UI/ml)	SE delle differenze tra coppie di campioni (log ₁₀ UI/ml)	IC 95% (log ₁₀ UI/ml)
Clinici e arricchiti	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	98	0,126	0,023	(0,080, 0,171)
Clinici e arricchiti	Da 2,0E+03 a < 2,0E+04	49	0,121	0,032	(0,058, 0,184)
Clinici e arricchiti	Da 2,0E+04 a < 1,0E+05	16	0,061	0,033	(-0,009, 0,131)
Clinici e arricchiti	Da 1,0E+05 a 9,1E+06	41	0,062	0,024	(0,013, 0,110)
Clinici e arricchiti	Generale	204	0,107	0,014	(0,078, 0,135)
Clinici	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	77	0,170	0,024	(0,122, 0,219)
Clinici	Da 2,0E+03 a < 2,0E+04	27	0,241	0,041	(0,157, 0,326)
Clinici	Da 2,0E+04 a < 1,0E+05	1	0,178	-	-
Clinici	Da 1,0E+05 a 9,1E+06	2	0,181	0,070	(-0,705, 1,068)
Clinici	Generale	107	0,188	0,021	(0,148, 0,229)
Arricchiti	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	21	-0,037	0,043	(-0,127, 0,053)
Arricchiti	Da 2,0E+03 a < 2,0E+04	22	-0,027	0,025	(-0,079, 0,025)
Arricchiti	Da 2,0E+04 a < 1,0E+05	15	0,053	0,034	(-0,020, 0,126)
Arricchiti	Da 1,0E+05 a 9,1E+06	39	0,056	0,025	(0,006, 0,106)
Arricchiti	Generale	97	0,017	0,016	(-0,015, 0,048)

Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La tabella include soltanto le coppie di campioni, clinici e arricchiti, con risultati compresi nell'intervallo lineare comune ai 2 test: da 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml. I risultati appaiati sono stati suddivisi in categorie con rilevanza medica, in base al risultato del test TaqMan® CMV (UI/ml).

IC = intervallo di confidenza; N = numero di coppie di campioni; SE = errore standard.

^a Limiti decisionali rappresentativi equivalenti (UI/ml): da 1,37E+02 a < 2,0E+03 (UI/ml) = da 2,137 a < 3,301 (log₁₀ UI/ml), da 2,0E+03 a < 2,0E+04 (UI/ml) = da 3,301 a < 4,301 (log₁₀ UI/ml), da 2,0E+04 a < 1,0E+05 (UI/ml) = da 4,301 a < 5,000 (log₁₀ UI/ml) e ≥ 1,0E+05 (UI/ml) = ≥ 5,000 (log₁₀ UI/ml).

Differenza totale ammissibile

La Tabella 52 mostra la percentuale dei risultati compresi negli intervalli basso, medio e alto della zona ATD (*Allowable Total Difference*: differenza totale ammissibile), per tipo di campione.

Tabella 52 Percentuale dei risultati compresi nei limiti basso, medio e alto della zona ATD, nella popolazione HSCT in base al tipo di campione

Tipo di campione	Categoria intervallo	Intervallo (UI/ml) ^a	Percentuale di campioni entro la zona ATD
Clinici e arricchiti	Bassi	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	98,9% (88/89)
Clinici e arricchiti	Medi	Da 2,0E+03 a < 8,0E+03	93,9% (31/33)
Clinici e arricchiti	Alti	Da 8,0E+03 a 9,1E+06	98,8% (81/82)
Clinici e arricchiti	Generale	-	98,0% (200/204)
Clinici	Bassi	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	98,5% (65/66)
Clinici	Medi	Da 2,0E+03 a < 8,0E+03	91,3% (21/23)
Clinici	Alti	Da 8,0E+03 a 9,1E+06	100,0% (18/18)
Clinici	Generale	-	97,2% (104/107)
Arricchiti	Bassi	Da 1,37E+02 a < 2,0E+03	100,0% (23/23)
Arricchiti	Medi	Da 2,0E+03 a < 8,0E+03	100,0% (10/10)
Arricchiti	Alti	Da 8,0E+03 a 9,1E+06	98,4% (63/64)
Arricchiti	Generale	-	99,0% (96/97)

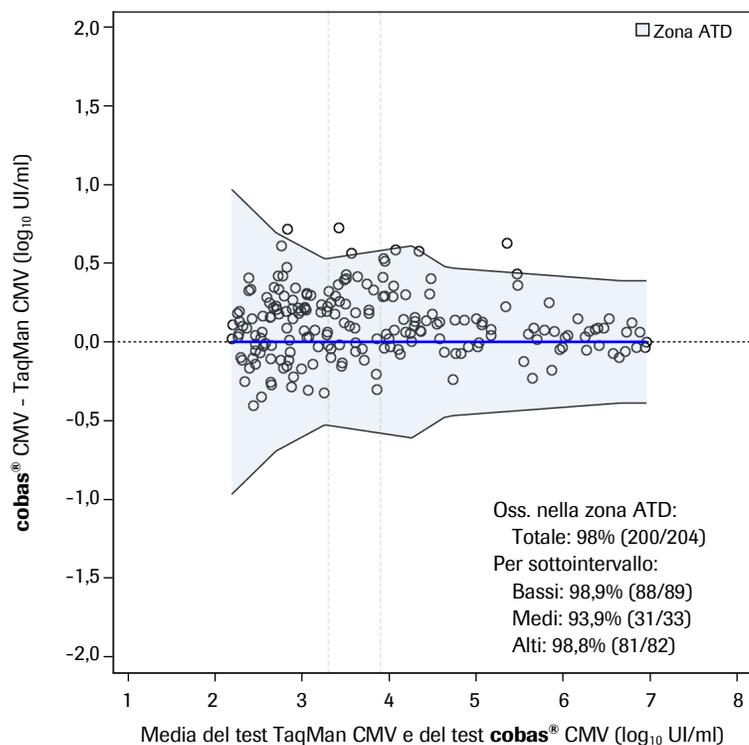
Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante. La tabella include soltanto le coppie di campioni con risultati compresi nell'intervallo lineare comune ai 2 test: da 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml. I risultati appaiati sono stati suddivisi in categorie di intervalli, in base al risultato del test TaqMan® CMV (UI/ml).

ATD = differenza totale ammissibile.

^a Le equivalenze con rilevanza medica (UI/ml) per gli intervalli da 1,37E+02 a < 2,0E+03, da 2,0E+03 a < 8,0E+03 e da 8,0E+03 a 9,1E+06 in log₁₀ UI/ml sono, rispettivamente: da 2,137 a < 3,301, da 3,301 a < 3,903 e da 3,903 a 6,959.

La Figura 15 presenta il diagramma della differenza totale ammissibile, relativo ai risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, da campioni combinati clinici e arricchiti.

Figura 15 Diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo alla differenza di carica virale (\log_{10} UI/ml) nella popolazione HSCT (campioni clinici e arricchiti)

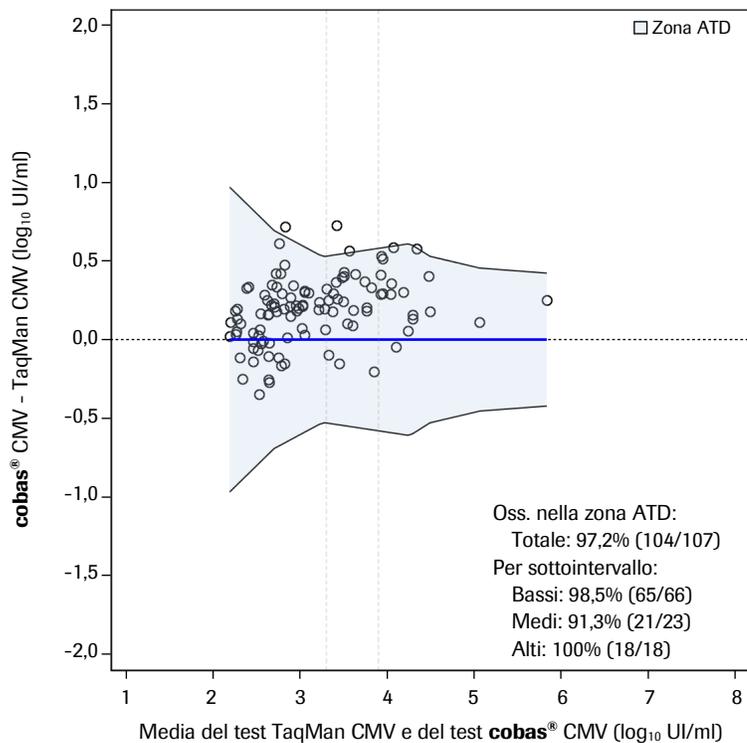


Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

ATD = differenza totale ammissibile; Oss. = osservazioni.

La Figura 16 presenta il diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo ai risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, da campioni clinici.

Figura 16 Diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo alla differenza di carica virale (\log_{10} UI/ml) nella popolazione HSCT (campioni clinici)

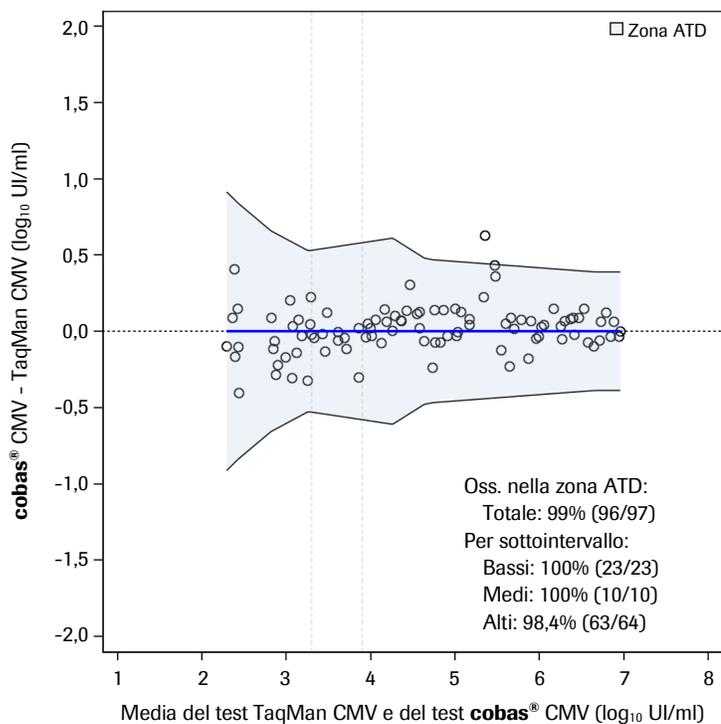


Nota: dalle analisi di comparazione tra metodi sono stati esclusi 7 campioni appartenenti a 3 soggetti, a causa di una discrepanza (mismatch) della sequenza impattante.

ATD = differenza totale ammissibile; Oss. = osservazioni.

La Figura 17 presenta il diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo ai risultati della carica virale (\log_{10} UI/ml) ottenuti con il test cobas® CMV e con il test TaqMan® CMV, da campioni arricchiti.

Figura 17 Diagramma della differenza totale ammissibile (ATD), relativo alla differenza di carica virale (\log_{10} UI/ml) nella popolazione HSCT (campioni arricchiti)



ATD = differenza totale ammissibile; Oss. = osservazioni.

Concordanza con i campioni negativi

Con ogni test sono stati analizzati 30 campioni negativi per le IgG di CMV, ottenuti da pazienti HSCT. I risultati sono riportati nella Tabella 53.

Tabella 53 Risultati dei campioni negativi per le IgG di CMV analizzati con il test **cobas**® CMV e con il test TaqMan® CMV

cobas ® CMV	TaqMan ® CMV Target Not Detected	TaqMan ® CMV < 1,37E+02 UI/ml	TaqMan ® CMV ≥ 1,37E+02 UI/ml	Totale
Target Not Detected	30	0	0	30
< 1,37E+02 UI/ml	0	0	0	0
≥ 1,37E+02 UI/ml	0	0	0	0
Totale	30	0	0	30

Nota: il limite di quantificazione inferiore (LLoQ) è 34,5 UI/ml per il test **cobas**® CMV e 1,37E+02 UI/ml per il test TaqMan® CMV.

IgG = immunoglobuline G.

Conclusioni

Il test **cobas**® CMV consente di quantificare il livello di DNA di CMV in plasma EDTA con una buona concordanza rispetto al test TaqMan® CMV approvato dalla FDA. I risultati di questi studi dimostrano la concordanza clinica dei test **cobas**® CMV e TaqMan® CMV quando vengono impiegati per il monitoraggio del trattamento nei pazienti destinatari di trapianto di organo solido o di trapianto di cellule staminali ematopoietiche.

Equivalenza dei sistemi / confronto tra sistemi

L'equivalenza tra i **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 e **cobas**® 8800 Systems è stata dimostrata attraverso alcuni studi sulle prestazioni.

I risultati presentati nelle Istruzioni per l'uso dimostrano l'equivalenza delle prestazioni tra tutti i sistemi.

Informazioni supplementari

Caratteristiche del test

Tipo di campione	Plasma EDTA
Quantità minima di campione richiesta	525 µl*
Volume di analisi del campione	350 µl
Sensibilità analitica	34,5 UI/ml
Intervallo lineare	34,5 UI/ml - 1E+07 UI/ml
Specificità	100%
Genotipi identificati	CMV Glicoproteina B Genotipo 1-4
Campioni di CMV resistenti ai farmaci rilevati	Campioni di CMV resistenti ai farmaci Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir

* Il volume morto per le provette secondarie **cobas omni** è di 0,175 ml. Altre provette compatibili con i **cobas**® 5800/6800/8800 Systems (vedere l'Assistenza Utente) potrebbero prevedere un volume morto diverso e necessitare di un volume minimo maggiore o minore.

Simboli

I seguenti simboli appaiono su tutte le confezioni dei prodotti diagnostici PCR di Roche.

Tabella 54 Simboli sulle etichette dei prodotti Roche per la diagnostica PCR

 Age/DOB Età o data di nascita	 Dispositivo non idoneo ai test POC	 QS IU/PCR UI QS per reazione PCR; utilizzare le unità internazionali (UI) QS per la reazione PCR nel calcolo dei risultati.
 SW Software ausiliario	 Dispositivo non idoneo all'autodiagnosi	 SN Numero di serie
 Assigned Range [copies/mL] Intervallo assegnato (copie/ml)	 Distributore <i>(Nota: il paese e/o la regione applicabili potrebbero essere indicati sotto il simbolo.)</i>	 Site Laboratorio
 Assigned Range [IU/mL] Intervallo assegnato (UI/ml)	 Non riutilizzare	 Procedure Standard Procedura standard
 EC REP Mandatario nella Comunità Europea	 Femmina	 STERILE EO Sterilizzazione con ossido di etilene
 BARCODE Foglio di dati del barcode	 Solo per valutazione delle prestazioni IVD	 Conservare al buio
 LOT Codice del batch	 GTIN Global Trade Item Number	 Limiti di temperatura
 Rischio biologico	 Importatore	 File di definizione del test TDF
 REF Numero di catalogo	 IVD Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>	 Alto
 CE Contrassegno di conformità CE: questo dispositivo è conforme ai requisiti pertinenti del marchio CE relativamente ai dispositivi medico-diagnostici <i>in vitro</i>	 LLR Limite inferiore dell'intervallo assegnato	 Procedure UltraSensitive Procedura ultrasensibile
 Collect Date Data di raccolta	 Maschio	 UDI Identificazione univoca del dispositivo
 Consultare le istruzioni per l'uso	 Fabbricante	 ULR Limite superiore dell'intervallo assegnato
 Contenuto sufficiente per <n> test	 CONTROL - Controllo negativo	 Urine Fill Line Riga di riempimento urina
 CONTENT Contenuto del kit	 Non sterile	 Rx Only Solo USA: la legge federale statunitense limita la vendita di questo dispositivo ai medici o su presentazione di prescrizione medica.
 CONTROL Controllo	 Nome del paziente	 Utilizzare entro la data
 Data di produzione	 Numero del paziente	
 Dispositivo idoneo ai test POC	 Staccare qui	
 Dispositivo idoneo all'autodiagnosi	 CONTROL + Controllo positivo	
	 QS copies / PCR Copie QS per reazione PCR; usare le copie QS per reazione PCR nel calcolo dei risultati.	

Assistenza tecnica

Per richiedere assistenza tecnica, contattare la nostra filiale locale:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produttore e importatore

Tabella 55 Produttore e importatore

Fabbricato negli USA



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

Made in USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marchi e brevetti

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

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

16. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS*. 1997;11:889-93. PMID: 9189214.
17. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-87. PMID: 11919489.
18. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68. PMID: 19178413.
19. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev*. 2002;2:155-167.
20. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant*. 2005;5:218-27. PMID: 15643981.
21. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8. PMID: 2227421.
22. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93. PMID: 7845459.
23. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78. PMID: 7697717.
24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
26. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>. Accessed March 8, 2021.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf. Accessed December 2, 2020.
28. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP21-A: Estimation of total analytical error for clinical laboratory methods; approved guideline. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.

Revisione del documento

Informazioni sulla revisione del documento	
Doc Rev. 2.0 04/2022	<p>Aggiornamento agli Operatori Economici correnti.</p> <p>Aggiunta di informazioni sul sistema cobas® 5800.</p> <p>Aggiornamento della pagina dei simboli armonizzati.</p> <p>Aggiornamento delle condizioni di conservazione dei campioni.</p> <p>Aggiornamento dei riferimenti bibliografici.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>
Doc Rev. 3.0 09/2022	<p>Aggiornamento della prima pagina, della Tabella 2 e della Tabella 3 con inserimento dei numeri di parte (P/N) dei kit di controllo.</p> <p>Aggiornamento della sezione Marchi e brevetti, collegamento incluso.</p> <p>Per ulteriori domande e chiarimenti, è possibile rivolgersi al rappresentante Roche locale.</p>

Per prendere visione del report sintetico sulla sicurezza e sulle prestazioni, utilizzare il seguente collegamento:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.