

# **cobas**<sup>®</sup> **CMV**

---

## **Teste quantitativo de ácidos nucleicos para utilização com os cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems**

Para diagnóstico *in vitro*

**cobas**<sup>®</sup> **CMV**

P/N: 07001029190

**cobas**<sup>®</sup> **CMV Control Kit**

P/N: 07001037190

**cobas**<sup>®</sup> **NHP Negative Control Kit**

P/N: 07002220190

# Índice

<b>Utilização prevista .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumo e explicação do teste .....</b>	<b>4</b>
<b>Reagentes e materiais .....</b>	<b>7</b>
Reagentes e controlos do <b>cobas®</b> CMV.....	7
Reagentes <b>cobas</b> <b>omni</b> para preparação da amostra .....	10
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes .....	11
Materiais adicionais necessários.....	12
Equipamentos e software necessários.....	12
<b>Precauções e requisitos de manuseamento .....</b>	<b>13</b>
Advertências e precauções .....	13
Manuseamento de reagentes.....	13
Boas práticas de laboratório.....	14
<b>Colheita, transporte e armazenamento de amostras .....</b>	<b>14</b>
Amostras.....	14
<b>Instruções de utilização .....</b>	<b>16</b>
Notas do procedimento .....	16
Execução do <b>cobas®</b> CMV.....	16
<b>Resultados .....</b>	<b>17</b>
Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	17
Interpretação dos resultados.....	18
Limitações do procedimento .....	18
<b>Avaliação do desempenho não clínico .....</b>	<b>19</b>
Características principais do desempenho.....	19
Limite de deteção (LoD) .....	19
Intervalo linear .....	20
Precisão – intralaboratorial .....	21
Verificação de genótipos.....	21
Verificação de amostras do CMV resistentes a fármacos.....	22
Especificidade.....	23
Especificidade analítica .....	23

Especificidade analítica – substâncias interferentes.....	24
Desempenho comparado com o teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.....	25
Falha global do sistema .....	26
Contaminação cruzada .....	26
<b>Desempenho clínico.....</b>	<b>27</b>
Reprodutibilidade clínica .....	27
Avaliação do desempenho clínico: população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS) .....	28
Concordância clínica na população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS).....	29
Concordância na linha de base .....	29
Análise de resolução por dia.....	32
Concordâncias gerais entre diferentes níveis de cargas virais .....	35
Comparação de métodos na população de transplante de órgãos sólidos (TOS).....	39
Viés a níveis de carga viral selecionados.....	43
Diferença emparelhada média .....	44
Diferença total permissível (DTP).....	45
Concordância com amostras negativas.....	48
Avaliação do desempenho clínico: população de pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT) .....	49
Concordância clínica na população de HSCT .....	50
Comparação de métodos na população de pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT) .....	59
Conclusão.....	69
<b>Informações adicionais .....</b>	<b>70</b>
Características principais do teste.....	70
Símbolos .....	71
Apoio técnico .....	72
Fabricante.....	72
Marcas comerciais e patentes .....	72
Direitos de autor.....	72
Bibliografia .....	73
Revisão do documento .....	75

## Utilização prevista

O **cobas**® CMV é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a quantificação do ADN de citomegalovírus (CMV) em plasma EDTA humano.

O **cobas**® CMV destina-se a ser utilizado como um auxiliar no diagnóstico e gestão do CMV em pacientes de transplante de órgãos sólidos e em pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas. O teste pode ser utilizado nestas populações para avaliar a necessidade de iniciar um tratamento antiviral. Em pacientes que estão a receber terapia anti-CMV, podem ser utilizadas medidas de ADN em série para avaliar a resposta viral ao tratamento.

Os resultados do **cobas**® CMV devem ser interpretados no contexto de todos os resultados clínicos e laboratoriais relevantes.

## Resumo e explicação do teste

### Fundamentos

O citomegalovírus humano (CMV) é um patógeno viral humano pertencente à família dos vírus da herpes, omnipresente em comunidades a nível mundial.<sup>1,2</sup> Em hospedeiros imunocompetentes, as infeções com CMV são muitas vezes assintomáticas mas a infeção lítica primária pode estar presente como uma síndrome aguda semelhante a mononucleose. Uma vez contraído, o CMV persiste normalmente como uma infeção vitalícia latente que pode ser reativada de forma intermitente. As células mononucleares do sangue periférico (mas não linfócitos) e as células epiteliais são os principais locais de infeção de CMV.<sup>3</sup> O CMV mantém-se numa fase latente nos monócitos/macrófagos em humanos.<sup>2</sup>

Os indivíduos com infeção latente poderão por vezes excretar o vírus assintomaticamente pelos fluidos corporais (por ex., urina, saliva) e infectar terceiros. Indivíduos imuno-comprometidos, incluindo recém-nascidos, recetores de transplantes e pacientes com HIV correm um risco elevado de desenvolverem infeções de CMV primárias ou reativações de CMV latente que levam a uma elevada taxa de morbilidade e mortalidade.<sup>4</sup> Manifestações graves da doença por CMV incluem retinite, gastroenterite, hepatite, encefalite, esofagite, enterocolite, pancreatite, nefrite, rejeição do órgão do dador, pneumonite e síndrome viral de CMV.<sup>5-7</sup>

Os nossos conhecimentos atuais relativos aos limites clinicamente relevantes para o desenvolvimento da doença por CMV têm origem em vários estudos utilizando tecnologias, populações de estudo e valores finais diferentes.<sup>8-15</sup> Em geral, as cargas virais elevadas estão mais associadas ao risco de desenvolvimento de uma doença por CMV. A relação entre a viremia e a doença é sigmoide, ou seja, o risco de doença por CMV aumenta significativamente após a carga viral de CMV atingir um “limite crítico”. Por exemplo, ao utilizar um ensaio de ADN do CMV de sangue total desenvolvido em laboratório para testar recetores de transplantes de fígado, o limite crítico era  $\geq 5 \log_{10}$  cópias/ml de ADN do CMV.<sup>13</sup> Em pacientes com SIDA/HIV, os níveis de ADN do CMV foram relacionados com o risco de doença por CMV e mortalidade geral.<sup>16-19</sup>

No entanto, os métodos atuais desenvolvidos em laboratório para quantificação de ADN do CMV estão limitados por uma escassez de resultados padronizados, o que pode levar a uma elevada variabilidade interlaboratorial e interensaios.<sup>20</sup> Validar a reprodutibilidade da carga viral de ADN do CMV é crucial para garantir a consistência de resultados para a gestão de pacientes com doença por CMV. As diretrizes atuais com base na precisão de testes PCR sugerem que as alterações nas medições de carga viral em série devem ser, no mínimo, 3 vezes ( $0,5 \log_{10}$ ) para representar alterações biológicas importantes. Uma vez que a variabilidade é maior em concentrações baixas, as alterações de carga viral podem

ter de ser superiores a 5 vezes ( $0,7 \log_{10}$ ) quando os valores de título são próximos do limite inferior de quantificação do ensaio para serem consideradas significativas.<sup>11,12</sup>

Enquanto que o limite exato ainda é tema de debate devido a variabilidade de ensaio para ensaio, o conceito de limite crítico é válido e tem sido registado em estudos de história natural que mostram que os valores de carga viral mais elevados estão relacionados com o aumento do risco de desenvolvimento de doenças por CMV.<sup>8-14</sup> Um estudo desenvolvido com teste COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR determinou um cutoff para prever a doença entre 2000 e 5000 cópias/ml em recetores de transplante de fígado infetados com CMV.<sup>10</sup>

## Fundamentos dos testes NAT

Os métodos laboratoriais de diagnóstico de infeção disseminada e doença visceral ativa causada pelo CMV humano, incluem o isolamento do vírus por cultura de leucócitos de sangue periférico (PBL), avaliação histológica de biopsias, métodos serológicos, medição por antigenemia pp65 e deteção do ADN do CMV por métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR).<sup>21</sup> A serologia só tem valor para determinar se um paciente foi previamente infetado com CMV e se corre risco de reativação. Os métodos de cultura apresentam um valor de previsão baixo, requerem um tempo de execução superior a 48 horas e o seu uso em pacientes imuno-comprometidos é limitado. O ensaio de antigenemia pp65 é trabalhoso e exige que o sangue seja processado no prazo de 6 horas após a colheita devido à diminuição da antigenemia durante o armazenamento.<sup>22</sup> O ensaio pp65 é também difícil de realizar em doentes com neutropenia. A deteção direta de ADN do CMV através de métodos de PCR em tempo real oferece uma vasta gama dinâmica, precisão e elevada sensibilidade.

## Explicação do teste

O cobas® CMV é um teste quantitativo que é executado no cobas® 6800 System e no cobas® 8800 System. O cobas® CMV permite a deteção e quantificação do ADN do CMV em plasma EDTA de pacientes infetados. A carga viral é quantificada em comparação com um padrão de quantificação de ADN sem CMV (DNA-QS), que é introduzido em cada amostra durante o processamento de amostras. O DNA-QS funciona também para monitorizar toda a preparação de amostras e o processo de amplificação por PCR. Adicionalmente, o teste utiliza três controlos externos: um positivo de título elevado, um positivo de título baixo e um controlo negativo.

## Princípios do procedimento

O cobas® CMV baseia-se numa preparação de amostras totalmente automática (extração e purificação de ácidos nucleicos), seguida de amplificação por PCR e deteção. Os cobas® 6800/8800 Systems são constituídos pelo módulo de abastecimento de amostras, o módulo de transferência, o módulo de processamento e o módulo analítico. A gestão automática de dados é executada pelo software cobas® 6800/8800, que atribui resultados a todos os testes. As diferentes possibilidades de resultados são: “Target Not Detected” (alvo não detetado), ADN do CMV detetado < LLoQ (limite inferior de quantificação), ADN do CMV detetado > ULoQ (limite superior de quantificação) ou um valor no intervalo linear  $LLoQ < x < ULoQ$ . Os resultados podem ser revistos diretamente no ecrã do sistema e podem ser exportados e impressos como um relatório.

O ácido nucleico de amostras de pacientes e moléculas lambda DNA-QS adicionadas são extraídas em simultâneo. Em resumo, os ácidos nucleicos virais são libertados ao adicionar proteinase e reagente de lise à amostra. Os ácidos nucleicos libertados ligam-se à superfície de sílica das partículas de vidro magnéticas adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os

posteriores passos com reagente de lavagem e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro com tampão de eluição a alta temperatura.

A amplificação seletiva dos ácidos nucleicos alvo da amostra é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos do vírus-alvo que são selecionados de regiões altamente conservadas do gene de polimerase (UL54) de ADN do CMV. A amplificação seletiva de DNA-QS é conseguida através da utilização de primers senso e anti-senso específicos da sequência-alvo que são selecionados para que não tenham qualquer homologia com o genoma do CMV. É utilizada uma enzima de polimerase do ADN termoestável para a amplificação. As sequências-alvo e de DNA-QS são amplificadas simultaneamente utilizando um perfil de amplificação por PCR universal com passos e número de ciclos de temperatura predefinidos. A mistura principal inclui trifosfato de desoxiuridina (dUTP) em vez de trifosfato de desoxitimidina (dTTP), que é incorporado no ADN acabado de sintetizar (amplicon).<sup>23-25</sup> Quaisquer amplicons contaminantes de corridas de PCR anteriores são eliminados pela enzima AmpErase, que é incluída na mistura de PCR, quando aquecida no primeiro passo do ciclo térmico. No entanto, os amplicons acabados de formar não são eliminados, uma vez que a enzima AmpErase fica inativa quando exposta a temperaturas acima dos 55 °C.

A mistura principal do **cobas**® CMV contém uma sonda de deteção específica para as sequências-alvo de CMV e uma para o DNA-QS. As sondas estão marcadas com corantes sinalizadores fluorescentes específicos do alvo que permitem a deteção simultânea de alvo de CMV e de DNA-QS em dois canais-alvo diferentes.<sup>26,27</sup> O sinal fluorescente da sonda intacta é suprimido pelo corante de supressão. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização da sonda com o ADN alvo específico, em cadeia simples, resulta na sua clivagem, pela atividade nuclease 5' a 3' da polimerase do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Com cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas, aumentando concomitantemente o sinal cumulativo do corante sinalizador. A deteção e a discriminação em tempo real dos produtos da PCR são conseguidas medindo a fluorescência dos corantes sinalizadores libertados para os alvos virais e para o DNA-QS.

# Reagentes e materiais



## Reagentes e controlos do cobas® CMV

Todos os reagentes e controlos não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na Tabela 1 até à Tabela 4.

**Tabela 1** cobas® CMV

<b>cobas® CMV</b>		
Conservar entre 2 e 8 °C		
Cassete de 96 testes (P/N 07001029190)		
<b>Componentes do kit</b>	<b>Ingredientes dos reagentes</b>	<b>Quantidade por kit 96 testes</b>
<b>Solução de proteinase (PASE)</b>	Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% de proteinase  EUH210: Ficha de segurança fornecida a pedido. EUH208: Contém subtilisina. Pode desencadear uma reação alérgica.	13 ml
<b>Padrão de quantificação de ADN (DNA-QS)</b>	Tampão Tris, < 0,05% EDTA, < 0,001% estrutura de ADN não CMV contendo uma região de ligação de primer não CMV e uma região de sonda única (ADN não infeccioso), < 0,002% de ARN de Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	13 ml
<b>Tampão de Eluição (EB)</b>	Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	13 ml
<b>Reagente Master Mix 1 (MMX-R1)</b>	Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida sódica	5,5 ml
<b>Reagente Master Mix 2 de CMV (CMV MMX-R2)</b>	Tampão de tricina, acetato de potássio, < 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de primers senso e anti-senso do CMV primers, < 0,01% de primers senso e anti-senso do padrão de quantificação, < 0,01% de sondas de oligonucleótido marcadas com fluorescência específicas do CMV e do padrão de quantificação do CMV, < 0,01% aptâmero oligonucleotídico, < 0,1% de polimerase do ADN Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	6 ml

Tabela 2 cobas® CMV Control Kit

<b>cobas® CMV Control Kit</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 07001037190)			
<b>Componentes do kit</b>	<b>Ingredientes dos reagentes</b>	<b>Quantidade por kit</b>	<b>Símbolo e advertência de segurança*</b>
<b>Controlo positivo baixo CMV (CMV L(+))C)</b>	< 0,001% de ADN do CMV sintético (plasmídeo) encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN do CMV não detetável por métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p><b>ADVERTÊNCIA</b></p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Mistura de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1)</p>
<b>Controlo positivo alto CMV (CMV H(+))C)</b>	< 0,001% de ADN do CMV sintético (plasmídeo) encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN do CMV não detetável por métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p><b>ADVERTÊNCIA</b></p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho. P280: Usar luvas de proteção. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar. P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada. 55965-84-9 Mistura de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1)</p>


\* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

\*\* Substância perigosa

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

Conservar entre 2 e 8 °C

(P/N 07002220190)


Componentes do kit	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança*
<b>Controlo negativo de plasma humano normal (NHP-NC)</b>	Plasma humano normal, ADN do CMV não detetável por métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p><b>ADVERTÊNCIA</b></p> <p>H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea.  P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis.  P272: A roupa de trabalho contaminada não pode sair do local de trabalho.  P280: Usar luvas de proteção.  P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico.  P362 + P364: Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.  P501: Eliminar o conteúdo/recipiente numa instalação de eliminação de resíduos aprovada.</p> <p>55965-84-9 Mistura de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolina-3-ona [n.º EC 247-500-7] e 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º EC 220-239-6] (3:1)</p>

\* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

\*\* Substância perigosa

## Reagentes cobas omni para preparação da amostra

**Tabela 4** Reagentes **cobas omni** para preparação da amostra\*

Reagentes	Ingredientes dos reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança**
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997546190)	Partículas de vidro magnéticas, Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida sódica	480 testes	Não aplicável
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997511190)	Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida sódica	4 x 875 ml	Não aplicável
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> Conservar entre 2 e 8 °C (P/N 06997538190)	43% (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5% (p/v) de polidocanol***, 2% (p/v) de ditiotreitól***, citrato de sódio dihidratado	4 x 875 ml	 <p><b>PERIGO</b></p> <p>H302 + H332: Nocivo por ingestão e por inalação. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H412: Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. P261: Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial. P303 + P361 + P353: SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água. P304 + P340 + P310: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. P305 + P351 + P338 + P310: SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continue a enxaguar. Contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> Conservar entre 15 e 30 °C (P/N 06997503190)	Citrato de sódio dihidratado, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo	4,2 l	Não aplicável

\* Estes reagentes não estão incluídos no kit do teste **cobas**® CMV. Consulte a lista dos materiais adicionais necessários (Tabela 7).

\*\* A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE

\*\*\* Substância perigosa

## Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes

Os reagentes deverão ser armazenados e manuseados conforme especificado na Tabela 5 e Tabela 6.

Quando os reagentes não estiverem nos cobas® 6800/8800 Systems, armazene-os à temperatura correspondente especificada na Tabela 5.

**Tabela 5** Armazenamento de reagentes (quando o reagente não se encontra no sistema)

Reagente	Temperatura de armazenamento
cobas® CMV – 96	2 a 8 °C
cobas® CMV Control Kit	2 a 8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2 a 8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2 a 8 °C
cobas omni MGP Reagent	2 a 8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2 a 8 °C
cobas omni Wash Reagent	15 a 30 °C

Os reagentes carregados nos cobas® 6800/8800 Systems são armazenados a temperaturas apropriadas e as datas de validade são controladas pelo sistema. Os cobas® 6800/8800 Systems apenas permitem que os reagentes sejam utilizados se todas as condições indicadas na Tabela 6 forem satisfeitas. O sistema impede automaticamente a utilização de reagentes expirados. A Tabela 6 permite ao utilizador compreender as condições de manuseamento de reagentes impostas pelos cobas® 6800/8800 Systems.

**Tabela 6** Condições de manuseamento de reagentes exigidas pelos cobas® 6800/8800 Systems

Reagente	Prazo de validade do kit	Estabilidade do kit aberto	Número de corridas para as quais este kit pode ser usado	Estabilidade a bordo do equipamento (tempo acumulado a bordo do equipamento fora do frigorífico)
cobas® CMV – 96	Prazo não ultrapassado	30 dias desde a primeira utilização	Máx. 10 corridas	Máx. 8 horas
cobas® CMV Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável	Não aplicável	Máx. 8 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	Prazo não ultrapassado	Não aplicável	Não aplicável	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni MGP Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Specimen Diluent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável
cobas omni Wash Reagent	Prazo não ultrapassado	30 dias desde o carregamento*	Não aplicável	Não aplicável

\* O tempo é medido a partir da primeira vez que o reagente é carregado nos cobas® 6800/8800 Systems.

## Materiais adicionais necessários

**Tabela 7** Material e consumíveis para utilizar nos **cobas®** 6800/8800 Systems

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Saco de resíduos sólidos	07435967001
Reservatório de resíduos sólidos	07094361001

## Equipamentos e software necessários

O software **cobas®** 6800/8800 e o pacote de análise **cobas®** CMV deverão estar instalados no(s) equipamento(s). O servidor IG (Instrument Gateway) será fornecido com o sistema.

**Tabela 8** Equipamentos

Equipamento	P/N
<b>cobas®</b> 6800 System (opção móvel)	05524245001 e 06379672001
<b>cobas®</b> 6800 System (fixo)	05524245001 e 06379664001
<b>cobas®</b> 8800 System	05412722001
Módulo de abastecimento de amostras	06301037001

Para mais informações sobre os tubos primários e secundários aceites nos equipamentos, consulte o Manual do Operador dos **cobas®** 6800/8800 Systems.

Nota: contacte o representante local da Roche para uma lista detalhada de racks de amostras, racks para pontas obstruídas e suportes de racks aceites nos equipamentos.

# Precauções e requisitos de manuseamento

## Advertências e precauções

À semelhança do que sucede com qualquer procedimento de teste, boas práticas de laboratório são essenciais para um desempenho adequado deste teste. Em virtude da elevada sensibilidade deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes e as misturas de amplificação livres de contaminação.

- Apenas para diagnóstico *in vitro*.
- O **cobas**® CMV não foi avaliado para utilização como teste de rastreio para a presença de CMV em sangue ou em produtos sanguíneos.
- Todas as amostras de pacientes devem ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas laboratoriais, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no Documento M29-A4 do CLSI.<sup>28,29</sup> Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do **cobas**® CMV e dos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. Se ocorrer derrame, desinfete imediatamente com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,5% em água destilada ou desionizada (lixívia doméstica diluída a 1:10) ou siga os procedimentos apropriados do laboratório.
- O **cobas**® CMV Control Kit e o **cobas**® NHP Negative Control Kit contêm plasma derivado do sangue humano. O material de origem foi submetido a testes por métodos de PCR e não foi detetado nenhum ADN do CMV. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- **Não congele sangue total ou quaisquer amostras armazenadas em tubos primários.**
- Para garantir o desempenho ideal do teste, utilize apenas os materiais consumíveis necessários fornecidos ou especificados.
- Estão disponíveis Folhas de Dados de Segurança (SDS, Safety Data Sheets) que podem ser solicitadas ao representante local da Roche.
- Para garantir que o teste é executado corretamente, siga rigorosamente os procedimentos e diretrizes fornecidos. Qualquer desvio destes procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se, durante o manuseamento e processamento das amostras, o carryover de amostras não for controlado adequadamente.

## Manuseamento de reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Inspeccione visualmente todas as cassetes de reagente, diluentes, reagente de lise e reagente de lavagem, antes dos mesmos serem utilizados, para se certificar de que não existem quaisquer sinais de fugas. Se existir algum indício de derrame, não utilize esse material para testes.
- O **cobas** **omni** Lysis Reagent contém tiocianato de guanidina, um produto químico potencialmente perigoso. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras.

- Os kits de teste **cobas**® CMV, o **cobas omni** MGP Reagent e o **cobas omni** Specimen Diluent contêm azida sódica como conservante. Evite o contacto dos reagentes com a pele, os olhos ou com membranas mucosas. Em caso de contacto, lave imediatamente a zona afetada com água abundante para evitar queimaduras. No caso de derrame destes reagentes, dilua com água antes de passar com um pano para secar.
- Não permita que **cobas omni** Lysis Reagent, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de sódio (lixívia). Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.
- Elimine todos os materiais que tenham entrado em contacto com amostras e reagentes, de acordo com regulamentações nacionais, estaduais e locais.

## Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não coma, não beba nem fume nas áreas de trabalho.
- Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes. Para evitar contaminação, as luvas devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e o manuseamento de kits **cobas**® CMV e reagentes **cobas omni**. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controlos.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução preparada de fresco de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada (diluir lixívia doméstica a 1:10). Em seguida esfregue a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Se ocorrer um derrame nos equipamentos **cobas**® 6800/8800, siga as instruções do Manual do Operador dos **cobas**® 6800/8800 Systems para limpar e descontaminar corretamente as superfícies do(s) equipamento(s).

## Colheita, transporte e armazenamento de amostras

**Nota: manuseie todas as amostras e controlos tendo em conta a possibilidade de transmitirem agentes infecciosos.**

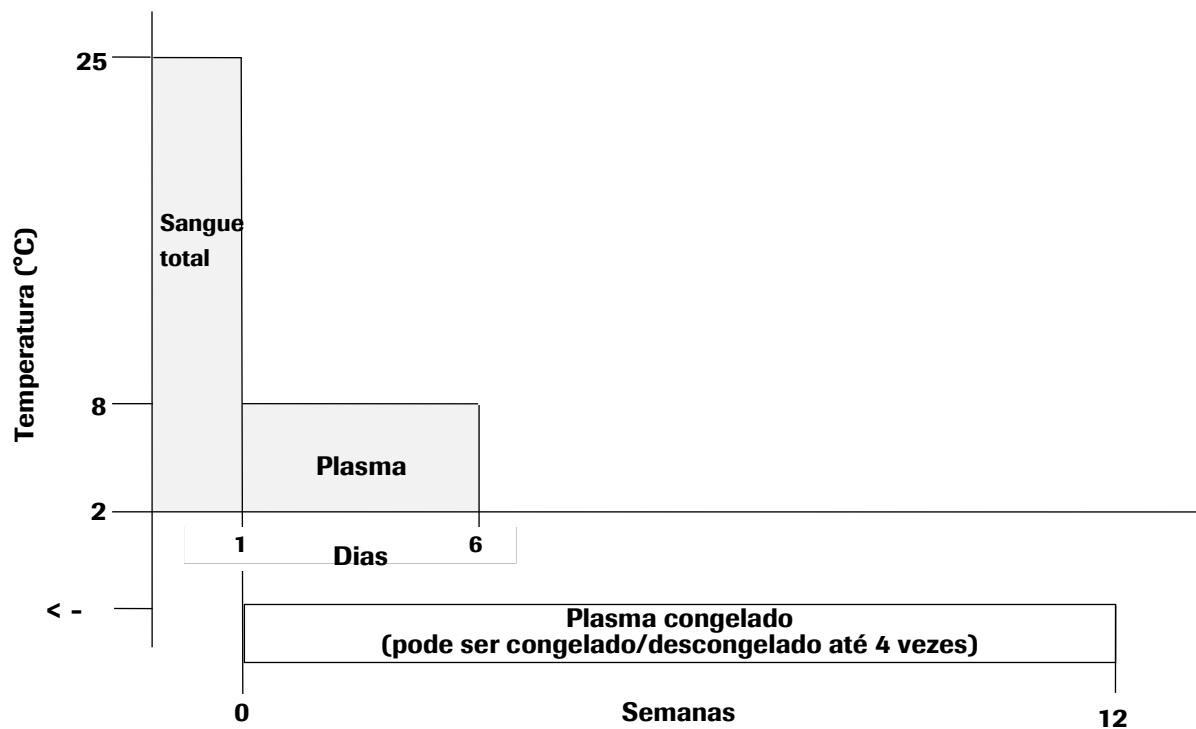
Armazene todas as amostras às temperaturas especificadas.

A estabilidade das amostras é afetada por altas temperaturas.

Se utilizar amostras congeladas em tubos secundários, coloque as amostras à temperatura ambiente (entre 15 e 30 °C) até ficarem completamente descongeladas e, em seguida, misture rapidamente (por ex., com agitação forte durante 3 a 5 segundos) e centrifugue para colher todo o volume de amostra no fundo do tubo.

## Amostras

- O sangue deve ser colhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante. Siga as instruções do fabricante dos tubos de amostra. Consulte a Figura 1.
- O sangue total recolhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante pode ser armazenado e/ou transportado durante até 24 horas entre 2 e 25 °C antes da preparação do plasma. A centrifugação deve ser desempenhada de acordo com as instruções do fabricante.
- Após a separação, as amostras de plasma podem ser armazenadas em tubos secundários durante 6 dias entre os 2 °C e os 8 °C ou até 12 semanas a  $\leq -18$  °C.
- As amostras de plasma são estáveis até quatro ciclos de congelamento/descongelamento a  $\leq -18$  °C.

**Figura 1** Condições de armazenamento de amostras

- Caso seja necessário expedir amostras, estas devem ser embaladas e rotuladas em conformidade com os regulamentos locais e/ou internacionais aplicáveis ao transporte de amostras e agentes etiológicos.

**Nota:** em alternativa, o sangue total recolhido em tubos de preparação de plasma para métodos de teste de diagnóstico molecular BD Vacutainer® PPT™ ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante pode ser armazenado e/ou transportado durante até 36 horas entre 2 °C e 25 °C antes da preparação do plasma mas, nesse caso, o plasma separado não pode ser armazenado por mais tempo e deve ser analisado diretamente.

# Instruções de utilização

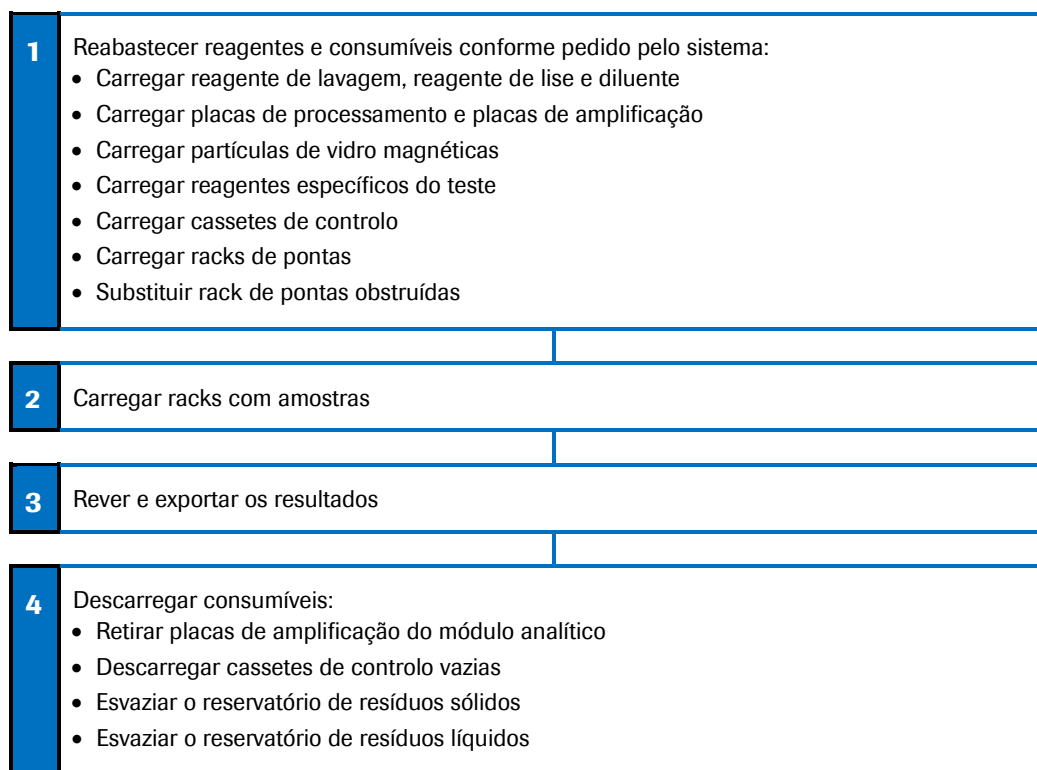
## Notas do procedimento

- Não utilize reagentes do **cobas**® CMV, do **cobas**® CMV Control Kit, do **cobas**® NHP Negative Control Kit ou do **cobas** **omni** depois de expirados os respetivos prazos de validade.
- Não reutilize consumíveis. Os consumíveis são para uma única utilização.
- Para a manutenção adequada dos equipamentos, consulte o Manual do Operador dos **cobas**® 6800/8800 Systems.

## Execução do **cobas**® CMV

O **cobas**® CMV pode ser executado com um volume de amostra necessário de 500 µl. O procedimento de teste é descrito detalhadamente no Manual do Operador dos **cobas**® 6800/8800 Systems. A Figura 2 a seguir resume o procedimento.

**Figura 2** Procedimento do **cobas**® CMV



## Resultados

Os cobas® 6800/8800 Systems determinam automaticamente a concentração de ADN de CMV das amostras e dos controlos. A concentração de ADN de CMV é indicada em Unidades Internacionais por mililitro (UI/ml).

### Controlo de qualidade e validade dos resultados

- São processados com cada batch um controlo negativo [(-) C] e dois controlos positivos, controlo positivo baixo de [CMV L(+)]C e um controlo positivo alto de [CMV H(+)]C.
- No software cobas® 6800/8800 e/ou nos relatórios, verifique os alarmes e os resultados associados, para se certificar da validade do batch.
- O batch é válido se não ocorrerem alarmes nos três controlos, que incluem um controlo negativo e dois controlos positivos: CMV L(+)]C, CMV H(+)]C. O resultado do controlo negativo é exibido como (-) C e os resultados do controlo positivo baixo e do controlo positivo alto são exibidos como CMV L(+)]C e CMV H(+)]C.

A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo software cobas® 6800/8800, com base na falha de algum controlo positivo ou negativo.

### Alarmes de controlos

**Tabela 9** Alarmes de controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Alarme	Resultado	Interpretação
(-) C	Q02 (Controlo do batch, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo negativo não é negativo.
Controlo positivo	Alarme	Resultado	Interpretação
CMV L(+)]C	Q02 (Controlo do batch, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo baixo não está dentro do intervalo atribuído.
CMV H(+)]C	Q02 (Controlo do batch, falhou)	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de titulação calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído.

Se o batch for inválido, repita os testes de todo o batch, incluindo todas as amostras e controlos.

## Interpretação dos resultados

Para um batch válido, verifique todas as amostras individuais relativamente a alarmes no software **cobas**® 6800/8800 e/ou nos relatórios. A interpretação do resultado deverá ser como se segue:

- Um batch válido pode incluir resultados válidos e inválidos.

**Tabela 10** Interpretação dos resultados de amostras

Resultados	Interpretação
Target Not Detected	ADN de CMV não detetado. Reportar resultados como “CMV não detetado”.
< Titer Min	O título calculado está abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do ensaio. Reportar resultados como “CMV detetado, inferior a (título mín.)”. Título mín. = 34,5 UI/ml
Titer	O título calculado está dentro do intervalo linear do ensaio – superior ou igual ao título mín. e inferior ou igual ao título máx. Reportar resultados como “(Título) de CMV detetado”.
> Titer Max <sup>a</sup>	O título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULoQ) do ensaio. Reportar resultados como “CMV detetado, superior a (título máx.)”. Título máx. = 1,0E+07 UI/ml

<sup>a</sup> Um resultado de amostra “> Titer Max” refere-se às amostras positivas de CMV detetadas com títulos acima do limite superior de quantificação (ULoQ). Caso se pretenda um resultado quantitativo, a amostra original deverá ser diluída com plasma-EDTA humano negativo para o CMV e o teste deve ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição.

## Limitações do procedimento

- O **cobas**® CMV foi avaliado apenas para utilização em combinação com o **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 para utilização nos **cobas**® 6800/8800 Systems.
- A obtenção de resultados fiáveis está dependente de procedimentos corretos de colheita, armazenamento e manuseamento da amostra.
- Este teste foi validado apenas para utilização com plasma EDTA. Testar outros tipos de amostras com o **cobas**® CMV pode originar resultados imprecisos. As medições de carga viral de plasma não são diretamente comparáveis com as de outros tipos de amostra.
- A quantificação de ADN do CMV pode ser afetada pelos métodos de recolha de amostras, fatores de paciente (ou seja, idade, presença de sintomas) e/ou fase de infeção.
- Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas de um gene de polimerase de ADN do CMV (UL54) abrangidas pelo **cobas**® CMV, podem afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou insucesso na deteção da presença do vírus.
- Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudarem de uma tecnologia para outra, os utilizadores realizem estudos de correlação de métodos nos seus laboratórios, para qualificar as diferenças tecnológicas. Os utilizadores deverão seguir as suas políticas e procedimentos específicos.
- O **cobas**® CMV não se destina à utilização como teste de rastreio da presença de CMV em sangue ou em produtos sanguíneos e não foi avaliado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção com CMV.

# Avaliação do desempenho não clínico

## Características principais do desempenho

### Limite de detecção (LoD)

#### Padrão Internacional da OMS

O limite de detecção do **cobas**® CMV foi determinado pela análise de diluições em série do 1.º padrão internacional da OMS para ADN de citomegalovírus humano para ensaios de técnicas de amplificação de ácido nucleico (1.º padrão internacional da OMS para HCMV) obtido a partir de NIBSC, em plasma EDTA humano negativo para o CMV. Foram testados painéis de oito níveis de concentração e ainda um branco com três lotes de reagentes **cobas**® CMV, corridas múltiplas, dias, operadores e equipamentos.

Os resultados de plasma EDTA são exibidos na Tabela 11. O estudo demonstra que o **cobas**® CMV detetou ADN do CMV numa concentração de 23 UI/ml ou superior com uma taxa de positividade  $\geq 95\%$ .

**Tabela 11** Limite de detecção em plasma EDTA

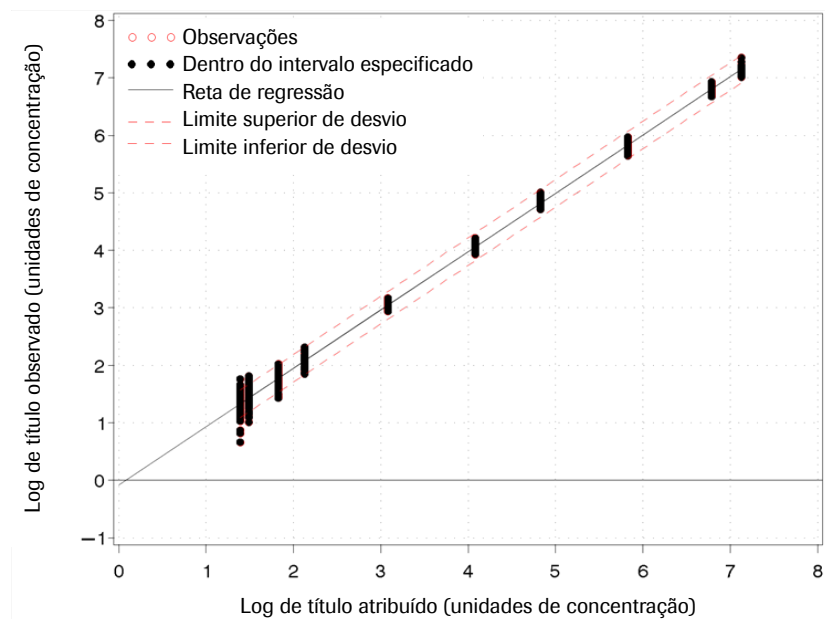
Concentração de título de entrada (ADN do CMV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	189	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
LoD por PROBIT com taxa de positividade de 95%	20,6 UI/ml Intervalo de confiança de 95%: 17,9-24,3 UI/ml		

## Intervalo linear

A linearidade do cobas® CMV foi avaliada utilizando uma série de diluições composta por 10 membros do painel com concentrações de ADN do CMV de genótipo gB-1 DNA abrangendo o intervalo linear do ensaio ( $2,45E+01$  UI/ml a  $1,34E+07$  UI/ml). Cada membro do painel foi testado em 48 réplicas com três lotes de reagentes de teste cobas® CMV e os resultados do estudo são apresentados na Figura 3.

O cobas® CMV demonstrou ser linear de  $2,45E+01$  UI/ml a  $1,34E+07$  UI/ml.

**Figura 3** Determinação do intervalo linear em plasma EDTA



## Precisão – intralaboratorial

A precisão do **cobas**® CMV foi determinada pela análise de diluições em série de vírus de cultura de título elevado (Merlin, genótipo gb-1) em plasma EDTA negativo para o CMV. Foram testados dez níveis de diluição em 48 réplicas para cada nível em três lotes de reagentes de teste **cobas**® CMV utilizando três equipamentos e três operadores num período de 12 dias. Cada amostra foi analisada de forma totalmente automática seguindo todo o procedimento do teste **cobas**® CMV em **cobas**® 6800/8800 Systems. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos na Tabela 12.

O **cobas**® CMV apresentou elevada precisão para os três lotes de reagentes testados num intervalo de concentração de 2,45E+01 UI/ml a 1,34+07 UI/ml.

**Tabela 12** Precisão intra-laboratório do **cobas**® CMV

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Plasma EDTA			
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
		DP	DP	DP	DP em 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

## Verificação de genótipos

O desempenho do **cobas**® CMV em genótipos CMV de glicoproteína B foi avaliado por:

- Verificação do limite de deteção dos genótipos 2 a 4 da glicoproteína B
- Verificação do intervalo linear dos genótipos 2 a 4

### Verificação do limite de deteção dos genótipos gB-2, gB-3 e gB-4 da glicoproteína B

Foram diluídos sobrenadantes de culturas celulares CMV para três tipos diferentes de genótipos de glicoproteína B (gB-2, gB-3 e gB-4) para três níveis de concentração diferentes em plasma EDTA negativo do CMV. A determinação da taxa de positividade foi realizada com 63 réplicas para cada nível. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes **cobas**® CMV. Os resultados são exibidos na Tabela 13. Estes resultados demonstram que o **cobas**® CMV detetou ADN do CMV de 3 genótipos diferentes a concentrações de 34,5 UI/ml com uma taxa de positividade  $\geq 95\%$ .

**Tabela 13** Verificação do genótipo do ADN do CMV do limite de detecção

Genótipo	17,25 UI/ml			34,5 UI/ml			51,75 UI/ml		
	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (95% IC*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (95% IC*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (95% IC*)
gB-2	63	61	96,8 (99,6%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-3	63	57	90,5 (96,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-4	63	55	87,3 (94,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

\* Intervalo de confiança superior unilateral de 95%

### Verificação do intervalo linear para genótipos gB-2, gB-3 e gB-4

As séries de diluições utilizadas na verificação do estudo de linearidade de genótipos do **cobas**® CMV consistiram em sete membros de painel abrangendo o intervalo linear do ensaio. Os testes foram efetuados com dois lotes de reagentes **cobas**® CMV; foram testadas 16 réplicas por nível em plasma EDTA.

O intervalo linear do **cobas**® CMV foi verificado para todos os 3 genótipos (gB-2, gB-3 e gB-4).

### Verificação de amostras de CMV resistentes a fármacos

O desempenho do **cobas**® CMV em amostras de CMV resistentes a fármacos foi avaliado por:

- Verificação do limite de detecção para amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir ou Foscarnet)
- Verificação do intervalo linear para amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir ou Foscarnet)

### Verificação do limite de detecção para as amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Foscarnet ou Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir)

Sobrenadantes de cultura celulares de duas amostras diferentes de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Foscarnet ou Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir) foram diluídas em três diferentes níveis de concentração em plasma EDTA negativo do CMV. A determinação da taxa de positividade foi realizada com 63 réplicas para cada nível. Os testes foram efetuados com três lotes de reagentes **cobas**® CMV. Os resultados são exibidos na Tabela 14. Estes resultados demonstram que o **cobas**® CMV detetou ADN do CMV para duas amostras diferentes resistentes a Foscarnet ou Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir em concentrações de 34,5 UI/ml com uma taxa de positividade de  $\geq 95\%$ .

**Tabela 14** Verificação de amostras de CMV resistentes a fármacos do limite de detecção

Resistência a fármacos	Local de mutação em UL54	17,25 UI/ml			34,5 UI/ml			51,75 UI/ml		
		N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (95% IC*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (95% IC*)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em % (95% IC*)
Foscarnet	E756Q	63	58	92,1 (97,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	L545S	63	59	93,7 (98,2%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

\* Intervalo de confiança superior unilateral de 95%

### Verificação do intervalo linear para as amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Foscarnet ou Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir)

As séries de diluições utilizadas na verificação do estudo de linearidade de amostras de CMV resistentes a fármacos do **cobas**® CMV consistiram em sete membros do painel abrangendo o intervalo linear do ensaio. Os testes foram efetuados com dois lotes de reagentes **cobas**® CMV; foram testadas 16 réplicas por nível em plasma EDTA.

O intervalo linear do **cobas**® CMV foi verificado para as duas amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Foscarnet ou Ganciclovir, Valganciclovir e Cidofovir).

### Especificidade

A especificidade do **cobas**® CMV foi determinada por análise de amostras de plasma EDTA negativo para o CMV de dadores individuais. Foram testadas 608 amostras de plasma EDTA individuais com dois lotes de reagentes do **cobas**® CMV. Todas as amostras tiveram resultado negativo relativamente a ADN do CMV. No painel de teste a especificidade do **cobas**® CMV foi 100% (limite de confiança inferior unilateral de 95%: 99,5%).

### Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas**® CMV foi avaliada através da diluição de um painel de micro-organismos para uma concentração de 1,00E+06 partículas, cópias, UI, equivalentes genómicos ou CFU/ml com ADN do CMV positivo e ADN do CMV negativo em amostras de plasma EDTA. A Tabela 15 apresenta uma lista dos micro-organismos específicos. Cada membro do painel foi avaliado com **cobas**® CMV. Nenhum dos agentes patogénicos não CMV interferiu com o desempenho do teste.

**Tabela 15** Microrganismos testados relativamente a reatividade cruzada

<b>Vírus</b>	<b>Bactérias</b>	<b>Leveduras</b>
Adenovírus tipo 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Poliomavírus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Vírus de Epstein Barr	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus da hepatite B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Vírus da hepatite C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Vírus do herpes simples tipo 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Vírus do herpes simples tipo 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Vírus do herpes humano tipo 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Vírus do herpes humano tipo 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Vírus do herpes humano tipo 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Vírus da imunodeficiência humana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Vírus da imunodeficiência humana 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Vírus do papiloma humano	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Vírus JC	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
Parvovírus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Vírus Varicella-Zoster	-	-

### Especificidade analítica – substâncias interferentes

Níveis elevados de triglicéridos (34,5 g/l), de bilirrubina conjugada (0,25 g/l), de bilirrubina não conjugada (0,25 g/l), de albumina (58,7 g/l), de hemoglobina (2,9 g/l) e de ADN humano (2 mg/l) nas amostras foram testados na presença e ausência de ADN de CMV. Foi demonstrado que as substâncias endógenas testadas não interferem com o desempenho do teste **cobas**® CMV.

O impacto da presença de doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistémico (LES), artrite reumatoide (AR) e anticorpos antinucleares também foi avaliado na presença e ausência de ADN do CMV. Além disso, os fármacos listados na Tabela 16 foram testados com o triplo da  $C_{max}$  na presença e ausência de ADN de CMV.

Foi demonstrado que todas substâncias potencialmente interferentes não interferem com o desempenho do teste.

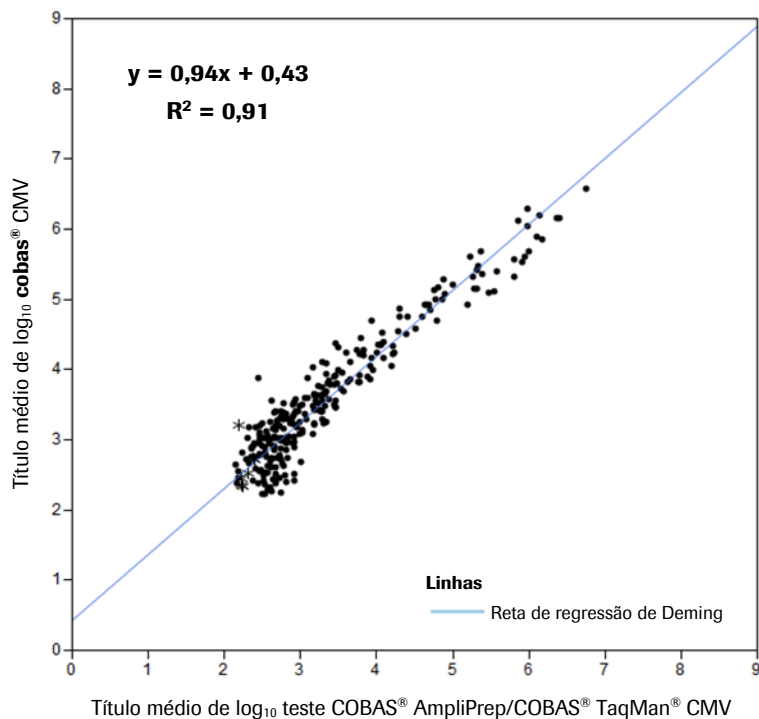
**Tabela 16** Fármacos testados relativamente à interferência com a quantificação de ADN do CMV pelo cobas® CMV

Classe do fármaco	Nome genérico do fármaco	
Antimicrobiano	Cefotetano	Sulfametoxazol
	Clavulanato de potássio	Ticarcilina dissódica
	Fluconazole	Trimetoprim
	Piperacilina	Vancomicina
	Tazobactam sódico	-
Compostos para o tratamento do vírus Herpes	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
Imunossuppressores	Azatioprina	Prednisona
	Ciclosporina	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Micofenolato de mofetil	-
	Ácido micofenólico	-

## Desempenho comparado com o teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV

O desempenho do teste cobas® CMV e do teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV foram comparados por análise de amostras de plasma EDTA de pacientes infetados com CMV. Um total de 275 amostras de plasma EDTA testadas em duplicado e representando todos os génotipos do CMV foram válidas e encontravam-se dentro do intervalo de quantificação de ambos os testes. Foi realizada uma análise de regressão de Deming.

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 4.

**Figura 4** Análise de regressão do cobas® CMV vs. teste quantitativo CAP/CTM CMV

## Falha global do sistema

Determinou-se a taxa de falha global do sistema do cobas® CMV testando 100 réplicas de plasma EDTA adulterado com uma amostra clínica positiva do CMV. Estas amostras foram testadas com uma concentração de aproximadamente 3 vezes o LoD.

Os resultados do estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o alvo de CMV, originando uma taxa de falha do sistema global de 0% (95% intervalo de confiança 0–3,6%).

## Contaminação cruzada

A taxa de resíduos para o cobas® CMV foi determinada testando 240 réplicas de uma amostra de plasma EDTA humano com CMV negativo normal e 225 réplicas de uma amostra de CMV de título elevado a 1,00E+06 UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de “tabuleiro de xadrez”.

Todas as 240 réplicas da amostra negativa eram negativas, originando uma taxa de resíduos de 0% (95% intervalo de confiança 0–1,5%).

## Desempenho clínico

### Reprodutibilidade clínica

A reprodutibilidade do cobas® CMV foi avaliada em plasma EDTA no cobas® 6800 System. Foram executados testes de reprodutibilidade e de variabilidade lote a lote em 3 centros de teste, utilizando 3 lotes de reagente. 2 operadores em cada centro testaram cada lote de reagente durante 6 dias (3 dias o operador 1 e 3 dias o operador 2). Foram executadas 2 corridas em cada dia; em cada corrida, foram executadas 3 réplicas de cada membro do painel. Para calcular a variação total, foram analisados dados utilizando um modelo misto. Os resultados da avaliação estão resumidos na Tabela 17 até à Tabela 19 a seguir.

Tabela 17 a seguir indica a reprodutibilidade clínica do ensaio a pontos ao longo do intervalo linear. São indicadas as contribuições relativas dos diferentes fatores para a variação observada.

**Tabela 17** Percentagem atribuível da variação total, desvio padrão, desvio padrão da precisão total e CV (%) lognormal da concentração do ADN do CMV ( $\log_{10}$  UI/ml) por membro do painel positivo

Concentração de ADN do CMV ( $\log_{10}$ UI/ml)		Número de testes <sup>b</sup>	Percentagem de contribuição para a variação total (CV (%) lognormal)					Precisão total	
Esperado	Média observada <sup>a</sup>		Lote	Centro	Operador/Dia	Execução	Dentro da corrida	DP <sup>d</sup>	CV (%) lognormal <sup>e</sup>
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: a tabela inclui apenas resultados com carga viral detetável.

<sup>a</sup> Calculada utilizando o procedimento SAS MIXED.

<sup>b</sup> Número de testes válidos com carga viral detetável.

<sup>c</sup> Calculado utilizando o componente de variação do procedimento SAS MIXED.

<sup>d</sup> Calculado utilizando a variabilidade total do procedimento SAS MIXED.

<sup>e</sup> CV (%) lognormal =  $\sqrt{10^{[DP^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100\%$ .

CMV = citomegalovírus; CV (%) = percentagem do coeficiente de variação; DP = desvio padrão; sqrt = raiz quadrada.

Tabela 18 a seguir indica diferença estimada de carga viral detetável de cada membro do painel positivo. A diferença detetável de vezes pode ser utilizada para avaliar alterações estatisticamente significativas na carga viral de um paciente quando medida em série.

**Tabela 18** Diferença de carga viral detetável pelo membro do painel positivo

Concentração de ADN do CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)						
Esperado	Média observada	N.º de testes <sup>a</sup>	Desvio padrão da precisão total (log <sub>10</sub> UI/ml)	Desvio padrão da diferença entre duas medições <sup>b</sup>	Limite de confiança de 95% <sup>c</sup> (±log <sub>10</sub> UI/ml)	Diferença detetável de vezes <sup>d</sup>
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: a tabela inclui apenas resultados com carga viral detetável. O limite inferior de quantificação (LLOQ) do ensaio é de 3,45E+01 UI/ml, e o limite superior de quantificação (ULOQ) é de 1,0E+07 UI/ml.

<sup>a</sup> Número de testes válidos com carga viral detetável.

<sup>b</sup> Desvio padrão da diferença entre duas medições =  $\sqrt{2 \times (\text{desvio padrão da precisão total})^2}$ .

<sup>c</sup> LC de 95% =  $1,96 \times \text{desvio padrão da diferença entre duas medições}$ .

<sup>d</sup> Diferença detetável de vezes =  $10^{(1,96 \times \sqrt{2 \times (\text{desvio padrão total})^2})}$ .

LC = limite de confiança; CMV = citomegalovírus; N.º = número; sqrt = raiz quadrada.

Tabela 19 a seguir apresenta os resultados do membro do painel negativo para o cobas® 6800 System.

**Tabela 19** Resultados de reprodutibilidade do membro do painel negativo

Concentração de ADN do CMV esperada	Número de testes válidos	Resultados positivos	Resultados negativos	Concordância na percentagem de negativos <sup>a</sup>	IC de 95% exato <sup>b</sup>
Negativo	323	0	323	100,00	(98,86, 100,00)

<sup>a</sup> Concordância na percentagem de negativos =  $(\text{número de resultados negativos} \div \text{total de testes válidos no membro do painel negativo}) \times 100\%$ .

<sup>b</sup> Calculada usando o método de intervalo de confiança binomial exata de Clopper-Pearson.

IC = intervalo de confiança; CMV = citomegalovírus.

## Avaliação do desempenho clínico: população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS)

Este estudo destina-se a avaliar a concordância clínica entre o cobas® CMV e o teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV numa população de pacientes de transplante de órgãos sólidos. Foram testadas amostras residuais congeladas de plasma EDTA, colhidas prospectivamente de receptores de transplante de rim, participantes num estudo aleatório de fase 2a em dupla ocultação, controlado por placebo, de um regime profilático anti-CMV. As regiões alvo do ensaio foram sequenciadas para amostras com um offset > 0,5 log<sub>10</sub> UI/ml entre os dois ensaios, assim como um conjunto representativo de amostras sem um offset medido. As sequências associadas a um offset médio > 0,9 log<sub>10</sub> UI/ml foram definidas como “sem impacto”. Só foram identificadas sequências sem impacto que afetaram os alvos do teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

As características demográficas da população de pacientes são apresentadas na Tabela 20.

**Tabela 20** Características clínicas demográficas e de linha de base dos sujeitos de transplante de órgãos sólidos (TOS)

<b>Características</b>	<b>Estatísticas</b>
<b>Total, N</b>	107
<b>Idade (anos)</b>	
Média ± DP	49 ± 13,6
Mediana	50
Intervalo	18-76
<b>Sexo, n (%)</b>	
Homem	74 (69,2%)
Mulher	33 (30,8%)
<b>Etnia, n (%)</b>	
Hispânico/Latino	10 (9,3%)
Não hispânico/Não latino	91 (85,0%)
Desconhecido	6 (5,6%)
<b>Raça, n (%)</b>	
Asian	1 (0,9%)
Negro/Afro-americano	16 (15,0%)
Branco	88 (82,2%)
Outra	2 (1,9%)
<b>Indução de imunossupressão, n (%)</b>	
Sim	26 (24,3%)
Não	81 (75,7%)
<b>Sector de estudo, n (%)</b>	
Regime profilático anti-CMV	53 (49,5%)
Placebo	54 (50,5%)
<b>Estado sorológico para o CMV, n (%)</b>	
Dador positivo, recetor negativo	107 (100,0%)

Nota: categoria desconhecida indica sujeitos dos quais as informações correspondentes não estão disponíveis ou não foram reportadas.

CMV = citomegalovírus, DP = desvio padrão.

## Concordância clínica na população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS)

### Concordância na linha de base

Tabela 21 até à Tabela 24 a seguir apresentam os resultados da análise de concordância entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV utilizando os limiares: Target Not Detected, < 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, respetivamente de amostras avaliáveis colhidas no dia da iniciação do tratamento ou no dia imediatamente anterior.

**Tabela 21** Análise de concordância de resultados do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV, utilizando o limiar “Target Not Detected” (amostras emparelhadas na iniciação da terapia anti-CMV na linha de base) na população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS)

Base	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato) <sup>a</sup>
	Target Not Detected	Detected		
<b>cobas®</b> CMV				
Target Not Detected	9	0	9	100,0% (66,4%, 100,0%)
Detected	2	60	62	96,8% (88,8%, 99,6%)
Total	11	60	71	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	81,8% (48,2%, 97,7%)	100,0% (94,0%, 100,0%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	97,2% (90,2%, 99,7%)	-	-	-
Valor de p <sup>b</sup>	0,5000	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base.

<sup>a</sup> Assumida independência entre todas as amostras.

<sup>b</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

**Tabela 22** Análise de concordância de resultados do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV, utilizando o limiar 1,37E+02 UI/ml (amostras emparelhadas na iniciação da terapia anti-CMV na linha de base) na população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS)

Base	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato) <sup>a</sup>
	< 1,37E+02 UI/ml ( < 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	≥ 1,37E+02 UI/ml ( ≥ 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)		
<b>cobas®</b> CMV				
< 1,37E+02 UI/ml ( < 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	24	1	25	96,0% (79,6%, 99,9%)
≥ 1,37E+02 UI/ml ( ≥ 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	5*	41	46	89,1% (76,4%, 96,4%)
Total	29	42	71	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	82,8% (64,2%, 94,2%)	97,6% (87,4%, 99,9%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	91,5% (82,5%, 96,8%)	-	-	-
Valor de p <sup>b</sup>	0,2188	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base.

As amostras com um resultado “Target Not Detected” ou uma carga viral detetável inferior a 1,37E+02 UI/ml foram categorizadas como “< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log<sub>10</sub> UI/ml)”.

\* De entre os 5 sujeitos com amostras discordantes, foi observado que 2 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Assumida independência entre todas as amostras.

<sup>b</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

**Tabela 23** Análise de concordância de resultados do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV, utilizando o limiar 5,00E+02 UI/ml (amostras emparelhadas na iniciação da terapia anti-CMV na linha de base) na população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS)

Base <b>cobas®</b> CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato) <sup>a</sup>
	< 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	≥ 5,00E+02 UI/ml (≥ 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)		
< 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	33	2	35	94,3% (80,8%, 99,3%)
≥ 5,00E+02 UI/ml (≥ 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	7*	29	36	80,6% (64,0%, 91,8%)
Total	40	31	71	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	82,5% (67,2%, 92,7%)	93,5% (78,6%, 99,2%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	87,3% (77,3%, 94,0%)	-	-	-
Valor de p <sup>b</sup>	0,1797	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base.

As amostras com um resultado “Target Not Detected” ou uma carga viral detetável inferior a 5,00E+02 UI/ml foram categorizadas como “< 5,00E+02 UI/ml (< 2,699 log<sub>10</sub> UI/ml)”.

\* De entre os 7 sujeitos com amostras discordantes, foi observado que 3 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Assumida independência entre todas as amostras.

<sup>b</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

**Tabela 24** Análise de concordância de resultados do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV, utilizando o limiar 1,8E+03 UI/ml (amostras emparelhadas na iniciação da terapia anti-CMV na linha de base) na população de pacientes de transplante de órgãos sólidos (TOS)

Base <b>cobas®</b> CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato) <sup>a</sup>
	< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)		
< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	48	0	48	100,0% (92,6%, 100,0%)
≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	4*	19	23	82,6% (61,2%, 95,0%)
Total	52	19	71	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	92,3% (81,5%, 97,9%)	100,0% (82,4%, 100,0%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato) <sup>a</sup>	94,4% (86,2%, 98,4%)	-	-	-
Valor de p <sup>b</sup>	0,1250	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base.

As amostras com um resultado “Target Not Detected” ou uma carga viral detetável inferior a 1,8E+03 UI/ml foram categorizadas como “< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log<sub>10</sub> UI/ml)”.

\* De entre os 4 sujeitos com amostras discordantes, foi observado que 1 sujeito tinha discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Assumida independência entre todas as amostras.

<sup>b</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

1 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

## Análise de resolução por dia

Tabela 25 apresenta uma análise de concordância de resolução de episódio de CMV para sujeitos de TOS ao dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 e dia 49 após a iniciação da terapia anti-CMV.

**Tabela 25** Análise de concordância de resolução de episódio de CMV para sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV na população de TOS

Ponto no tempo após iniciação de terapia Anti-CMV	cobas® CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
		Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV		
Dia 14	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	0	0	0	NC
	Não resolução de episódio de CMV	0	40	40	100,0% (91,2%, 100,0%)
	Total	0	40	40	
	Concordância na coluna (IC de 95% exato)	NC	100,0% (91,2%, 100,0%)	-	-
	Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	100,0% (91,2%, 100,0%)	-	-	-
	Valor de p <sup>b</sup>	NC	-	-	-

Nota: de entre os sujeitos incluídos na tabela do dia 14, foi observado que 2 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto

Ponto no tempo após iniciação de terapia Anti-CMV	cobas® CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
		Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV		
Dia 21	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	0	0	0	NC
	Não resolução de episódio de CMV	1	50	51	98,0% (89,6%, 100,0%)
	Total	1	50	51	-
	Concordância na coluna (IC de 95% exato)	0,0% (0,0%, 97,5%)	100,0% (92,9%, 100,0%)	-	-
	Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	98,0% (89,6%, 100,0%)	-	-	-
	Valor de p <sup>b</sup>	NC	-	-	-

Nota: de entre os sujeitos incluídos na tabela do dia 21, foi observado que 2 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto.

Ponto no tempo após iniciação de terapia Anti-CMV	cobas® CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
		Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV		
Dia 28	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	6	0	6	100,0% (54,1%, 100,0%)
	Não resolução de episódio de CMV	4	46	50	92,0% (80,8%, 97,8%)
	Total	10	46	56	-
	Concordância na coluna (IC de 95% exato)	60,0% (26,2%, 87,8%)	100,0% (92,3%, 100,0%)	-	-
	Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	92,9% (82,7%, 98,0%)	-	-	-
	Valor de p <sup>b</sup>	0,1250	-	-	-

Nota: de entre os sujeitos incluídos na tabela do dia 28, foi observado que 3 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto.

Ponto no tempo após iniciação de terapia Anti-CMV	cobas® CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
		Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV		
Dia 35	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	16	1	17	94,1% (71,3%, 99,9%)
	Não resolução de episódio de CMV	8	31	39	79,5% (63,5%, 90,7%)
	Total	24	32	56	-
	Concordância na coluna (IC de 95% exato)	66,7% (44,7%, 84,4%)	96,9% (83,8%, 99,9%)	-	-
	Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	83,9% (71,7%, 92,4%)	-	-	-
	Valor de p <sup>b</sup>	0,0391	-	-	-

Nota: de entre os sujeitos incluídos na tabela do dia 35, foi observado que 3 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto.

Ponto no tempo após iniciação de terapia Anti-CMV	Teste TaqMan® CMV			Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
	cobas® CMV	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV		
Dia 49	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	38	0	38	100,0% (90,7%, 100,0%)
	Não resolução de episódio de CMV	7	12	19	63,2% (38,4%, 83,7%)
	Total	45	12	57	-
	Concordância na coluna (IC de 95% exato)	84,4% (70,5%, 93,5%)	100,0% (73,5%, 100,0%)	-	-
	Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	87,7% (76,3%, 94,9%)	-	-	-
	Valor de p <sup>b</sup>	0,0156	-	-	-

Nota: de entre os sujeitos incluídos nesta tabela, foi observado que 4 sujeitos tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> “Resolução de episódio de CMV” foi definido como 2 amostras consecutivas (de preferência colhidas com 1 semana de diferença) que foram testadas abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do teste TaqMan® CMV (137 UI/ml), que é consistente com o que é recomendado em diretrizes atuais; ou seja, 2 amostras “negativas” consecutivas foram recomendadas como um valor final de carga viral para o tratamento de episódios de CMV agudos.

<sup>b</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

IC = intervalo de confiança; NC = não calculável; TOS = transplante de órgão sólido

Quando utilizado como auxiliar na determinação da resolução de episódios virêmicos ao dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 e dia 49 (após iniciação de terapia anti-CMV), a CPG entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV variou entre 83,9% e 100% (Tabela 26).

**Tabela 26** Concordância na percentagem geral por estado de resolução (não resolvido/resolvido) para sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV na população de TOS

Ponto no tempo	Concordância não resolvida	Concordância resolvida	Concordância na percentagem geral	IC exacto de 95% Concordância na percentagem geral
Dia 14	100,0% (40/40)	NC	100,0% (40/40)	(91,2%, 100,0%)
Dia 21	100,0% (50/50)	0,0% (0/1)	98,0% (50/51)	(89,6%, 100,0%)
Dia 28	100,0% (46/46)	60,0% (6/10)	92,9% (52/56)	(82,7%, 98,0%)
Dia 35	96,9% (31/32)	66,7% (16/24)	83,9% (47/56)	(71,7%, 92,4%)
Dia 49	100,0% (12/12)	84,4% (38/45)	87,7% (50/57)	(76,3%, 94,9%)

Nota: resolução de episódio de CMV foi definido como 2 amostras consecutivas (de preferência colhidas com 1 semana de diferença) que foram testadas abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do teste TaqMan® CMV (137 UI/ml), que é consistente com o que é recomendado em diretrizes atuais; ou seja, 2 amostras “negativas” consecutivas foram recomendadas como um valor final de carga viral para o tratamento de episódios de CMV agudos.

Foi observado que 2 do total de 40 amostras ao dia 14 eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

Foi observado que 2 do total de 51 amostras ao dia 21 eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

Foi observado que 3 do total de 56 amostras ao dia 28 eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

Foi observado que 3 do total de 56 amostras ao dia 35 eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

Foi observado que 4 do total de 57 amostras ao dia 49 eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

CMV = citomegalovírus; LLoQ = limite inferior de quantificação; NC = não calculável; TOS = transplante de órgão sólido.

## Concordâncias gerais entre diferentes níveis de cargas virais

Tabela 27 a seguir apresenta a concordância dos resultados de carga viral do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV de todas as 1898 amostras emparelhadas avaliáveis na população de TOS do estudo de concordância clínica.

**Tabela 27** Resumo da análise de concordância (todas as amostras emparelhadas) na população de TOS

Todas as amostras emparelhadas	Teste TaqMan® CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)						Total
	Target Not Detected	< 2,137	2,137 a < 2,699	2,699 a < 3,255	3,255 a < 3,899	≥ 3,899	
cobas® CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)	Target Not Detected	1.022	8	0	0	0	1.030
	< 2,137	168	193	6	0	0	367
	2,137 a < 2,699	3 <sup>a</sup>	76	61	8	0	148
	2,699 a < 3,255	0	12 <sup>c</sup>	73	63	1	149
	3,255 a < 3,899	1 <sup>b</sup>	5 <sup>d</sup>	8 <sup>e</sup>	44	58	116
	≥ 3,899	0	0	3 <sup>f</sup>	1 <sup>b</sup>	45	88
	Total	1.194	294	151	116	104	1.898

Nota: todas as 1898 amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica foram incluídas nesta tabela.

O limite inferior de quantificação (LLoQ) é de 3,45E+01 UI/ml para o cobas® CMV e de 1,37E+02 UI/ml para o teste TaqMan® CMV.

log<sub>10</sub> (1,37E+02) = 2,137; log<sub>10</sub> (5,0E+02) = 2,699; log<sub>10</sub> (1,8E+03) = 3,255; log<sub>10</sub> (7,943E+03) = 3,899.

<sup>a</sup> Estas amostras discrepantes foram sequenciadas e foi observado que 2 das 3 amostras continham uma mutação de impacto significativo.

<sup>b</sup> Esta amostra discrepante foi sequenciada e foi observado que continha uma mutação de impacto significativo.

<sup>c</sup> 8 das 12 amostras discrepantes derivavam de 5 sujeitos e todas as 8 amostras foram sequenciadas e foi observado que continham uma mutação de impacto significativo.

<sup>d</sup> Estas 5 amostras discrepantes derivavam de 3 sujeitos; foram sequenciadas e foi observado que todas as 5 amostras continham uma mutação de impacto significativo.

<sup>e</sup> 7 das 8 amostras discrepantes derivavam de 3 sujeitos e todas as 7 amostras foram sequenciadas e foi observado que tinham uma mutação de impacto significativo.

<sup>f</sup> Estas 3 amostras discrepantes derivavam de 2 sujeitos; foram sequenciadas e foi observado que todas as 3 amostras continham uma mutação de impacto significativo.

Tabela 28 a seguir apresenta o resumo da concordância dos resultados de carga viral por diferentes limiares (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml) de todas as amostras emparelhadas na população de TOS.

**Tabela 28** Resumo da concordância dos resultados de carga viral por diferentes limiares de todas as amostras emparelhadas na população de TOS

	<b>Concordância na percentagem &lt; Limiar</b> IC de 95% (n/N)	<b>Concordância na percentagem ≥ Limiar (n/N)</b> IC de 95% (n/N)	<b>Concordância na percentagem geral</b> IC de 95% (n/N)
<b>Target Not Detected</b>	<b>85,6%</b> 83,5%, 87,5% (1022/1194)	<b>98,9%</b> 97,8%, 99,5% (696/704)	<b>90,5%</b> 89,1%, 91,8% (1718/1898)
<b>137 UI/ml (2,1 log<sub>10</sub> UI/ml*)</b>	<b>93,5%</b> 92,1%, 94,7% (1391/1488)	<b>98,5%</b> 96,8%, 99,5% (404/410)	<b>94,6%</b> 93,5%, 95,5% (1795/1898)
<b>500 UI/ml (2,7 log<sub>10</sub> UI/ml**)</b>	<b>93,8%</b> 92,5%, 94,9% (1537/1639)	<b>96,9%</b> 94,0%, 98,7% (251/259)	<b>94,2%</b> 93,1%, 95,2% (1788/1898)
<b>1800 UI/ml (3,3 log<sub>10</sub> UI/ml***)</b>	<b>96,5%</b> 95,5%, 97,3% (1693/1755)	<b>99,3%</b> 96,2%, 100,0% (142/143)	<b>96,7%</b> 95,8%, 97,4% (1835/1898)

Nota: apenas amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica foram incluídas nesta tabela.

As amostras com resultados “Target Not Detected” (alvo não detectado) foram categorizadas como “< valor limiar em UI/ml”.

\* Log<sub>10</sub> de 2,137 abreviado como 2,1 log<sub>10</sub> UI/ml.

\*\* Log<sub>10</sub> de 2,699 abreviado como 2,7 log<sub>10</sub> UI/ml.

\*\*\* Log<sub>10</sub> de 3,255 abreviado como 3,3 log<sub>10</sub> UI/ml.

Intervalo de confiança (IC) de 95% calculado por método exato assumindo independência entre todas as amostras.

Tabela 29 a seguir apresenta a concordância dos resultados de carga viral do **cobas**® CMV e do teste TaqMan® CMV de todas as 272 amostras emparelhadas avaliáveis ao dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 ou dia 49 após iniciação de terapia anti-CMV na população de TOS.

**Tabela 29** Resumo de análises de concordância (amostras emparelhadas a pontos no tempo de interesse após iniciação de terapia anti-CMV) na população de TOS

Todos os pontos no tempo de interesse	Teste TaqMan® CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)						Total
	Target Not Detected	< 2,137	2,137 a < 2,699	2,699 a < 3,255	3,255 a < 3,899	≥ 3,899	
Target Not Detected	24	3	0	0	0	0	27
< 2,137	36	42	1	0	0	0	79
2,137 a < 2,699	0	27	18	0	0	0	45
2,699 a < 3,255	0	4 <sup>a</sup>	25	16	0	0	45
3,255 a < 3,899	0	2 <sup>b</sup>	1 <sup>c</sup>	21	12	0	36
≥ 3,899	0	0	2 <sup>b</sup>	0	26	12	40
Total	60	78	47	37	38	12	272

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica aos pontos no tempo de interesse (dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 ou dia 49 após iniciação de terapia anti-CMV).

O limite inferior de quantificação (LLoQ) é de 3,45E+01 UI/ml para o **cobas**® CMV e de 1,37E+02 UI/ml para o teste TaqMan® CMV.

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

<sup>a</sup> Estas 4 amostras foram sequenciadas e foi observado que 2 das 4 amostras discrepantes continham uma mutação de impacto significativo.

<sup>b</sup> Estas 2 amostras discrepantes foram sequenciadas e foi observado que ambas as amostras continham uma mutação de impacto significativo.

<sup>c</sup> A amostra discrepante foi sequenciada e foi observado que continha uma mutação de impacto significativo.

Tabela 30 a seguir apresenta o resumo da concordância dos resultados de carga viral por diferentes limiares (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml) de todas as amostras emparelhadas avaliáveis ao dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 ou dia 49 após iniciação de terapia anti-CMV na população de TOS.

**Tabela 30** Resumo da concordância dos resultados de carga viral por diferentes limiares das amostras emparelhadas ao dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 ou dia 49 após iniciação de terapia anti-CMV na população de TOS

	<b>Concordância na percentagem &lt; Limiar</b> IC de 95% (n/N)	<b>Concordância na percentagem ≥ Limiar (n/N)</b> IC de 95% (n/N)	<b>Concordância na percentagem geral</b> IC de 95% (n/N)
<b>Target Not Detected</b>	<b>40,0%</b> 27,6%, 53,5% (24/60)	<b>98,6%</b> 95,9%, 99,7% (209/212)	<b>85,7%</b> 80,9%, 89,6% (233/272)
<b>137 UI/ml (2,1 log<sub>10</sub> UI/ml*)</b>	<b>76,1%</b> 68,1%, 82,9% (105/138)	<b>99,3%</b> 95,9%, 100,0% (133/134)	<b>87,5%</b> 83,0%, 91,2% (238/272)
<b>500 UI/ml (2,7 log<sub>10</sub> UI/ml**)</b>	<b>81,6%</b> 75,3%, 86,9% (151/185)	<b>100,0%</b> 95,8%, 100,0% (87/87)	<b>87,5%</b> 83,0%, 91,2% (238/272)
<b>1800 UI/ml (3,3 log<sub>10</sub> UI/ml***)</b>	<b>88,3%</b> 83,3%, 92,2% (196/222)	<b>100,0%</b> 92,9%, 100,0% (50/50)	<b>90,4%</b> 86,3%, 93,7% (246/272)

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica ao dia 14, dia 21, dia 28, dia 35 e dia 49 após iniciação de terapia anti-CMV.

As amostras com resultados “Target Not Detected” (alvo não detetado) foram categorizadas como “< valor limiar em UI/ml”.

\* Log<sub>10</sub> de 2,137 abreviado como 2,1 log<sub>10</sub> UI/ml.

\*\* Log<sub>10</sub> de 2,699 abreviado como 2,7 log<sub>10</sub> UI/ml.

\*\*\* Log<sub>10</sub> de 3,255 abreviado como 3,3 log<sub>10</sub> UI/ml.

Intervalo de confiança (IC) de 95% calculado por método exato assumindo independência entre todas as amostras.

## Comparação de métodos na população de transplante de órgãos sólidos (TOS)

Foi realizado um estudo de comparação de métodos para avaliar o desempenho do **cobas**® CMV quando comparado com outro teste de carga viral de CMV aprovado pela FDA, o teste TaqMan® CMV. O estudo utilizou 543 amostras emparelhadas incluindo 381 amostras positivas de CMV do estudo aleatório de fase 2a em dupla ocultação, controlado por placebo, de um regime profilático anti-CMV referido atrás, suplementado por 64 amostras remanescentes de pacientes de transplante e 98 amostras artificiais feitas adicionando CMV de cultura (estirpe Merlin) a plasma EDTA negativo para o CMV.

Tabela 31 juntamente com a Figura 5 até à Figura 7 apresentam os resultados da regressão Deming da carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do **cobas**® CMV e do teste TaqMan® CMV de todos os centros de teste combinados para a população de pacientes de transplante de órgãos sólidos.

**Tabela 31** Estimativas de parâmetros da regressão de Deming entre cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (**cobas**® CMV versus teste TaqMan® CMV)

Amostras	Número de amostras emparelhadas	Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão	IC de 95% <sup>a</sup> IC de 95% <sup>b</sup>	r
Clínicas e adicionadas	543	Interceção	0,348 0,407*	0,033	(0,283, 0,413) (0,356, 0,462)	0,98
		Declive	0,961 0,945*	0,009	(0,944, 0,979) (0,933, 0,957)	
Clínicas	445	Interceção	0,193 0,229*	0,037	(0,120, 0,266) (0,160, 0,301)	0,97
		Declive	1,023 1,010*	0,010	(1,002, 1,044) (0,992, 1,030)	
Adicionadas	98	Interceção	0,012 N/A	0,063	(-0,114, 0,138) N/A	0,99
		Declive	0,985 N/A	0,013	(0,960, 1,010) N/A	

Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A tabela inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de  $1,37E+02$  UI/ml a  $9,1E+06$  UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios.

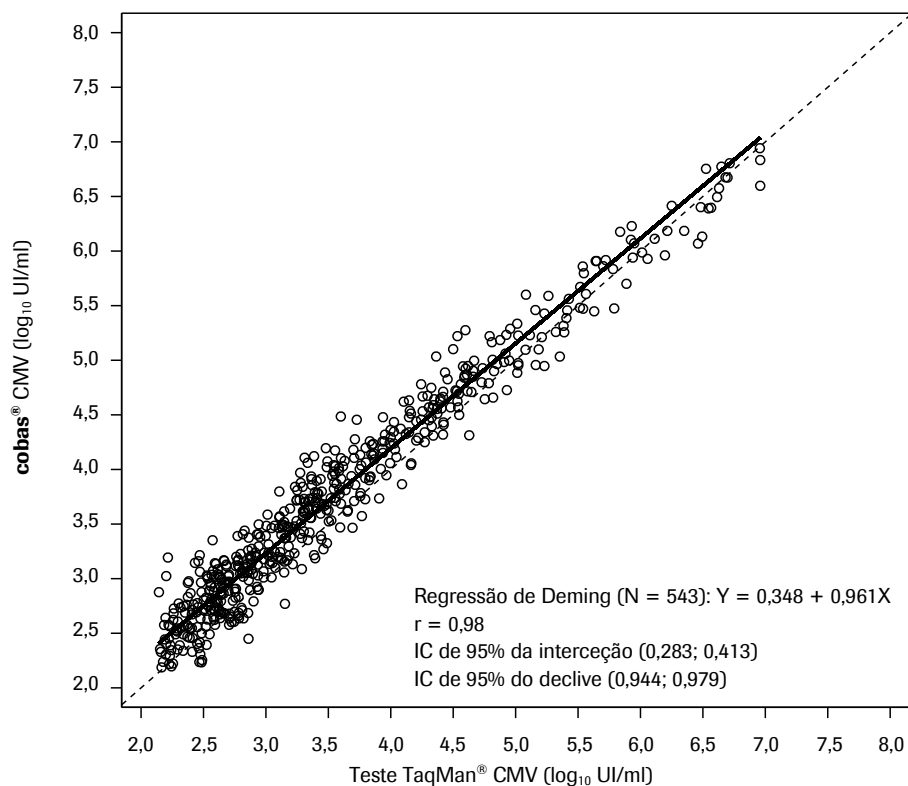
<sup>a</sup> Assumida independência entre todas as amostras.

<sup>b</sup> Correlação ajustada entre amostras dos mesmos sujeitos pelo método de bootstrap com 500 iterações.

\* Designa o 50º percentil da distribuição bootstrap das estimativas do parâmetro.

IC = intervalo de confiança; N/A = não aplicável; r = coeficiente de correlação.

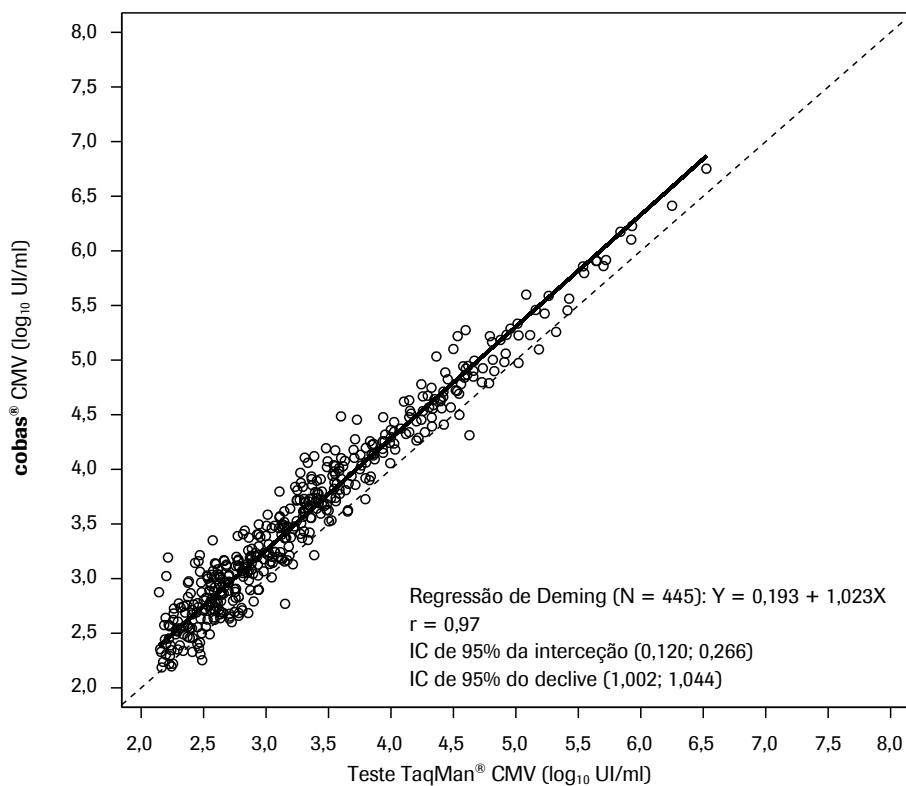
**Figura 5** Representação gráfica da regressão linear de Deming de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV; amostras clínicas e adicionadas)



Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A figura inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de  $1,37E+02$  UI/ml a  $9,1E+06$  UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios.

IC = intervalo de confiança;  
r = coeficiente de correlação.

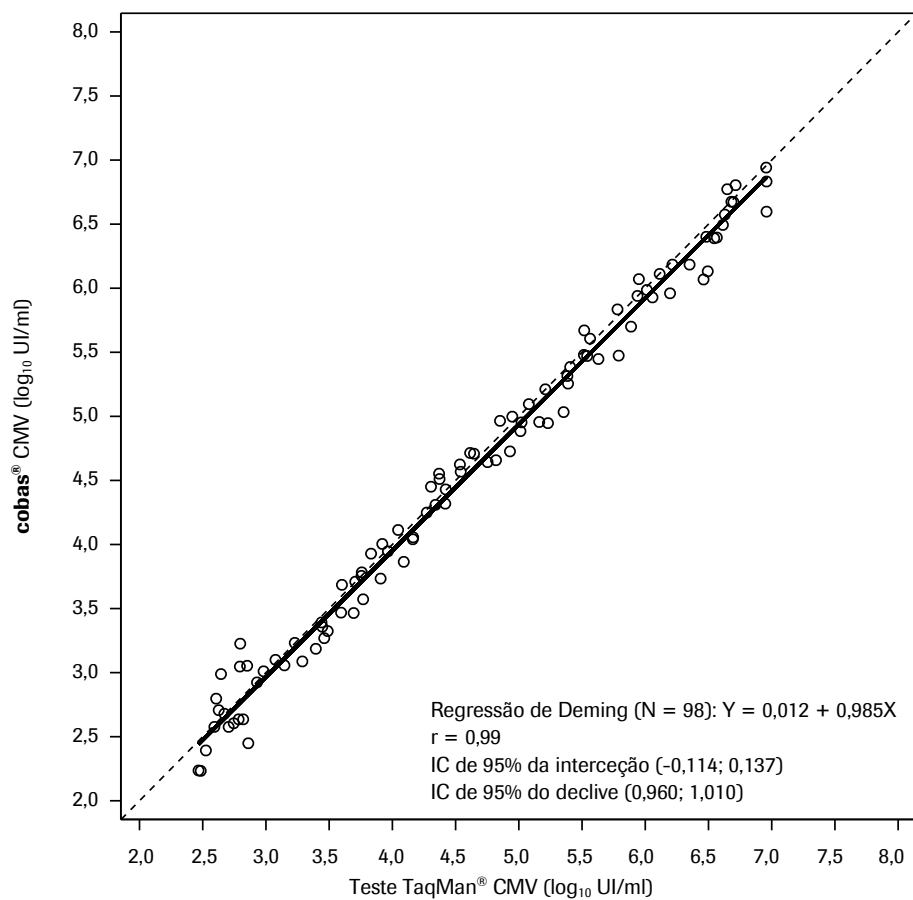
**Figura 6** Representação gráfica da regressão linear de Deming de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV; amostras clínicas)



Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A figura inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de  $1,37E+02$  UI/ml a  $9,1E+06$  UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios.

IC = intervalo de confiança;  
r = coeficiente de correlação.

**Figura 7** Representação gráfica da regressão linear de Deming de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV; amostras adicionadas)



Nota: IC = intervalo de confiança;  
r = coeficiente de correlação.

## Viés a níveis de carga viral selecionados

Tabela 32 a seguir apresenta o viés entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV a 5 níveis de carga viral selecionados, de 2,14 log<sub>10</sub> UI/ml a 7,00 log<sub>10</sub> UI/ml com equivalentes não transformados associados.

**Tabela 32** Viés entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV (log<sub>10</sub> UI/ml) a 5 níveis de carga viral selecionados (amostras clínicas e adicionadas)

Amostras	Nível de carga viral (Pelo teste TaqMan® CMV)	Diferença sistemática
Clínicas e adicionadas	2,137 log <sub>10</sub> UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,265 log <sub>10</sub> UI/ml (1,15E+02 UI/ml)
	2,699 log <sub>10</sub> UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,243 log <sub>10</sub> UI/ml (3,74E+02 UI/ml)
	3,255 log <sub>10</sub> UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,221 log <sub>10</sub> UI/ml (1,19E+03 UI/ml)
	4,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,192 log <sub>10</sub> UI/ml (5,56E+03 UI/ml)
	7,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,075 log <sub>10</sub> UI/ml (1,89E+06 UI/ml)
Clínicas	2,137 log <sub>10</sub> UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,242 log <sub>10</sub> UI/ml (1,02E+02 UI/ml)
	2,699 log <sub>10</sub> UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,255 log <sub>10</sub> UI/ml (4,00E+02 UI/ml)
	3,255 log <sub>10</sub> UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,268 log <sub>10</sub> UI/ml (1,53E+03 UI/ml)
	4,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,285 log <sub>10</sub> UI/ml (9,28E+03 UI/ml)
	7,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,354 log <sub>10</sub> UI/ml (1,26E+07 UI/ml)
Adicionadas	2,137 log <sub>10</sub> UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	-0,020 log <sub>10</sub> UI/ml (-6,19E+00 UI/ml)
	2,699 log <sub>10</sub> UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	-0,028 log <sub>10</sub> UI/ml (-3,17E+01 UI/ml)
	3,255 log <sub>10</sub> UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	-0,037 log <sub>10</sub> UI/ml (-1,46E+02 UI/ml)
	4,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	-0,048 log <sub>10</sub> UI/ml (-1,05E+03 UI/ml)
	7,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	-0,093 log <sub>10</sub> UI/ml (-1,93E+06 UI/ml)

<sup>a</sup> Diferença em UI/ml calculada como 10(estimativa cobas® CMV log<sub>10</sub> UI/ml) - 10(nível de carga viral do teste TaqMan® CMV log<sub>10</sub> UI/ml).

## Diferença emparelhada média

Tabela 33 a seguir apresenta a diferença média emparelhada entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV a limiares representativos e ICs de 95% associados calculados utilizando o teste t emparelhado.<sup>30</sup>

**Tabela 33** Média das diferenças de carga viral emparelhada do cobas® CMV menos teste TaqMan® CMV ( $\log_{10}$  UI/ml) a intervalos de decisão representativos (UI/ml) na população de TOS

Amostras	Intervalos de decisão representativos <sup>a</sup> (UI/ml)	N	Média de diferença emparelhada ( $\log_{10}$ UI/ml)	EP da média de diferença emparelhada ( $\log_{10}$ UI/ml)	IC de 95% ( $\log_{10}$ UI/ml)
Clínicas e adicionadas	1,37E+02 a < 2,0E+03	275	0,234	0,013	(0,208, 0,260)
	2,0E+03 a < 2,0E+04	143	0,260	0,019	(0,223, 0,296)
	2,0E+04 a < 1,0E+05	62	0,195	0,025	(0,145, 0,245)
	≥ 1,0E+05	63	0,012	0,025	(-0,039, 0,062)
	Global	543	0,211	0,010	(0,191, 0,230)
Clínicas	1,37E+02 a < 2,0E+03	253	0,256	0,013	(0,230, 0,282)
	2,0E+03 a < 2,0E+04	122	0,317	0,016	(0,285, 0,350)
	2,0E+04 a < 1,0E+05	47	0,251	0,027	(0,196, 0,305)
	≥ 1,0E+05	23	0,201	0,030	(0,139, 0,262)
	Global	445	0,269	0,009	(0,251, 0,288)
Adicionadas	1,37E+02 a < 2,0E+03	22	-0,017	0,044	(-0,108, 0,074)
	2,0E+03 a < 2,0E+04	21	-0,074	0,024	(-0,125, -0,024)
	2,0E+04 a < 1,0E+05	15	0,021	0,031	(-0,045, 0,086)
	≥ 1,0E+05	40	-0,097	0,022	(-0,141, -0,053)
	Global	98	-0,056	0,015	(-0,087, -0,025)

Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A tabela inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios. Os resultados emparelhados dentro do intervalo linear em ambos os ensaios foram categorizados em intervalos de decisão representativos com base nos resultados do teste TaqMan® CMV (UI/ml).

<sup>a</sup> Intervalos de decisão representativos equivalentes (UI/ml) para 1,37E+02 a < 2,0E+03 (UI/ml) = 2,137 a < 3,301 ( $\log_{10}$  UI/ml), 2,0E+03 a < 2,0E+04 (UI/ml) = 3,301 a < 4,301 ( $\log_{10}$  UI/ml), 2,0E+04 a < 1,0E+05 (UI/ml) = 4,301 a < 5,000 ( $\log_{10}$  UI/ml) e ≥ 1,0E+05 (UI/ml) = ≥ 5,000 ( $\log_{10}$  UI/ml).

N = número de amostras emparelhadas; EP = erro padrão; IC = intervalo de confiança.

## Diferença total permissível (DTP)

Tabela 34 juntamente com a Figura 8 até à Figura 10 a seguir, apresentam os resultados da DTP utilizando as diferenças emparelhadas individuais entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV versus as respetivas médias a limiares representativos e calcula a percentagem de resultados emparelhados na zona de DTP.

**Tabela 34** Percentagem de amostras na população de TOS que fica em intervalos (UI/ml) da zona de Diferença total permissível (DTP) (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV)

Amostras	Categoria de intervalo	Extensão do intervalo <sup>a</sup> (UI/ml)	Percentagem de amostras emparelhadas dentro da zona de DTP % (n/N)
Clínicas e adicionadas	Baixo	1,37E+02 a < 2,0E+03	95,6% (239/250)
	Médio	2,0E+03 a < 8,0E+03	89,6% (103/115)
	Alto	8,0E+03 a 9,10E+06	95,5% (170/178)
	Global	-	94,3% (512/543)
Clínicas	Baixo	1,37E+02 a < 2,0E+03	95,2% (216/227)
	Médio	2,0E+03 a < 8,0E+03	88,2% (90/102)
	Alto	8,0E+03 a 9,10E+06	93,1% (108/116)
	Global	-	93,0% (414/445)
Adicionadas	Baixo	1,37E+02 a < 2,0E+03	100,0% (23/23)
	Médio	2,0E+03 a < 8,0E+03	100,0% (13/13)
	Alto	8,0E+03 a 9,10E+06	100,0% (62/62)
	Global	-	100,0% (98/98)

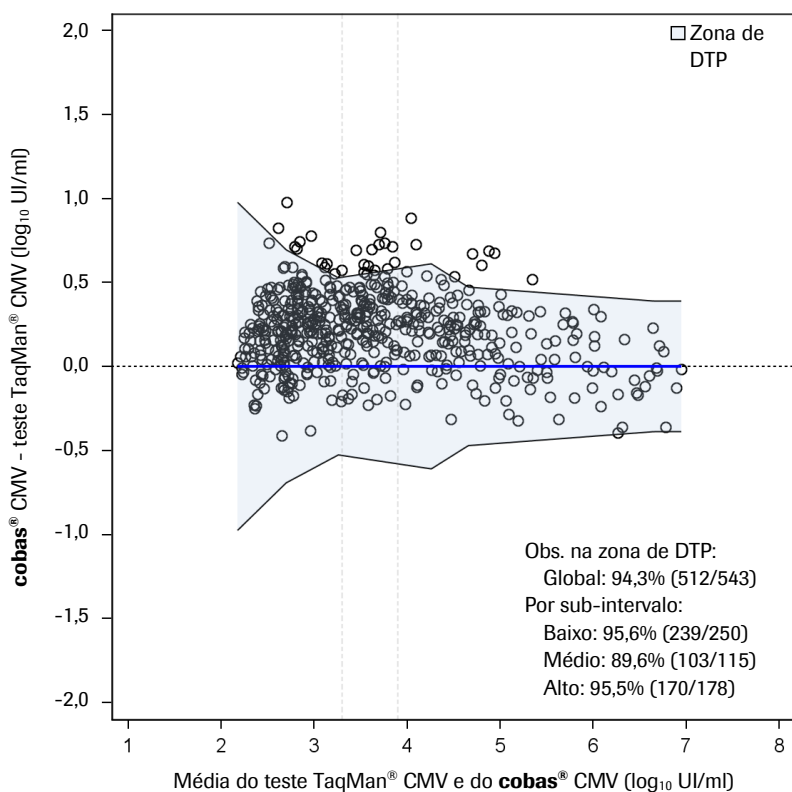
Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A tabela inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de 1,37E+02 UI/ml a 9,1E+06 UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios. Os resultados emparelhados foram categorizados em intervalos de carga viral com base nos resultados do teste TaqMan® CMV (UI/ml). Zona de DTP = Zona de Diferença total permissível.

<sup>a</sup> Os intervalos (UI/ml) relevantes medicamente equivalentes para 1,37E+02 a < 2,0E+03, 2,0E+03 a < 8,0E+03 e 8,0E+03 a 9,1E0 em log<sub>10</sub> UI/ml são, respetivamente, 2,137 a < 3,301, 3,301 a < 3,903 e 3,903 a 6,959.

N = número total de amostras emparelhadas dentro do intervalo apropriado.

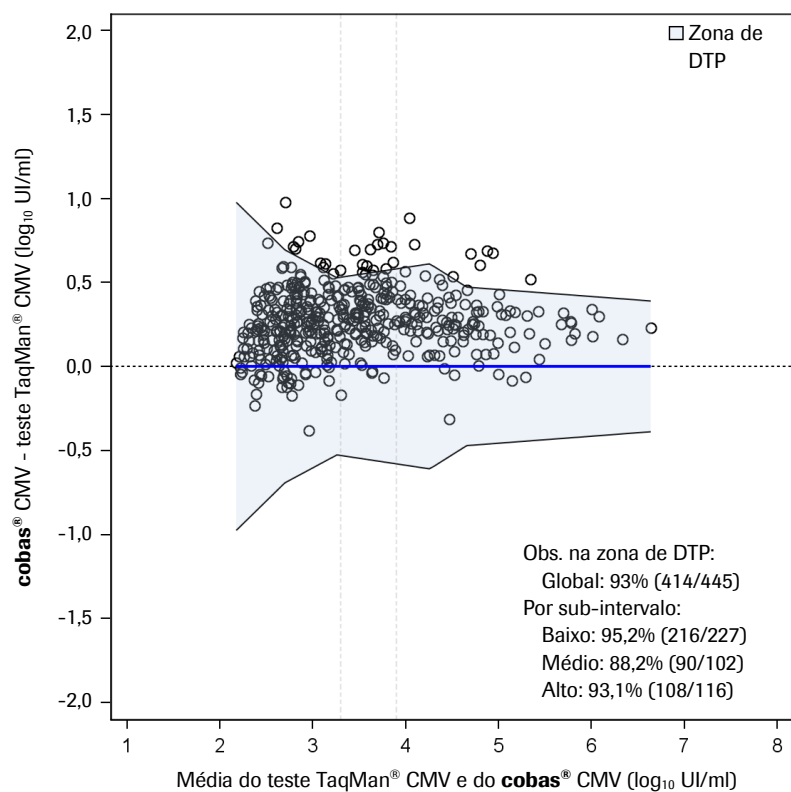
n = número de amostras emparelhadas incluídas na zona de DTP.

**Figura 8** Representação gráfica da diferença total permissível (DTP) de diferenças de carga viral individuais versus as respectivas médias ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV; amostras clínicas e adicionadas)



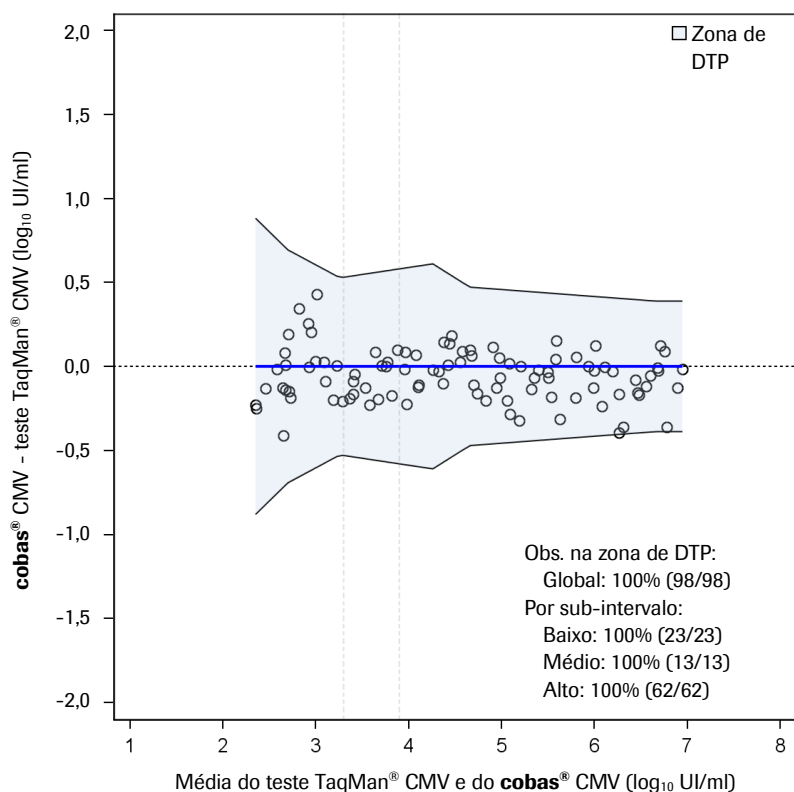
Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A figura inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de  $1,37E+02$  UI/ml a  $9,1E+06$  UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios. Os resultados emparelhados foram categorizados em intervalos de carga viral com base nos resultados do teste TaqMan® CMV (UI/ml).

**Figura 9** Representação gráfica da diferença total permissível (DTP) de diferenças de carga viral individuais versus as respectivas médias ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV; amostras clínicas)



Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 26 amostras de 9 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A figura inclui apenas amostras emparelhadas com resultados emparelhados que estavam dentro de  $1,37E+02$  UI/ml a  $9,1E+06$  UI/ml, o intervalo linear sobreposto de ambos os ensaios. Os resultados emparelhados foram categorizados em intervalos de carga viral com base nos resultados do teste TaqMan® CMV (UI/ml).

**Figura 10** Representação gráfica da diferença total permissível (DTP) de diferenças de carga viral individuais versus as respectivas médias ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de TOS (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV; amostras adicionadas)



## Concordância com amostras negativas

Foram testadas 30 amostras negativas para o CMV IgG em cada ensaio, e os resultados são apresentados na Tabela 35.

**Tabela 35** Resultados de amostras negativas para o CMV IgG (cobas® CMV versus teste TaqMan® CMV)

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

Nota: o limite inferior de quantificação (LLoQ) é de 1,37E+02 UI/ml para o teste TaqMan® CMV.

CMV = citomegalovírus; IgG = imunoglobulina G.

## Avaliação do desempenho clínico: população de pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT)

O estudo destina-se a avaliar a concordância entre o cobas® CMV e o teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV numa população de pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT). Foram testadas amostras residuais de um estudo aleatório multicêntrico de fase 2 em dupla ocultação, controlado por placebo, do brincidofovir para profilaxia do CMV<sup>2</sup>.

Todas as amostras avaliáveis testadas foram colhidas ao longo do tempo a partir de um total de 258 sujeitos. As regiões alvo do ensaio eram amostras sequenciadas com um offset > 0,5 log<sub>10</sub> UI/ml entre os dois ensaios, assim como um conjunto representativo de amostras sem um offset medido. As sequências associadas a um offset médio > 0,9 log<sub>10</sub> UI/ml foram definidas como “sem impacto”. Só foram identificadas sequências sem impacto que afetaram os alvos do teste COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV.

Tabela 36 a seguir resume as características demográficas e clínicas de linha de base dos 258 sujeitos.

**Tabela 36** Características demográficas e clínicas de linha de base de sujeitos de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT)

Características	Estatísticas
<b>Total, N</b>	258
<b>Idade (anos)</b>	
Média ± DP	51 ± 12,3
Mediana	51
Intervalo	21-71
<b>Sexo, n (%)</b>	
Homem	144 (55,8%)
Mulher	114 (44,2%)
<b>Etnia, n (%)</b>	
Hispânico/Latino	24 (9,3%)
Não hispânico/Não latino	230 (89,1%)
Desconhecido	4 (1,6%)
<b>Raça, n (%)</b>	
Asian	15 (5,8%)
Negro/Afro-americano	10 (3,9%)
Branco	228 (88,4%)
Outra	5 (1,9%)
<b>Sector de estudo, n (%)</b>	
Regime profilático anti-CMV	164 (63,6%)
Placebo	61 (23,6%)
Falha de rastreio	33 (12,8%)

Nota: um sujeito cujas informações não estavam disponíveis ou não foram reportadas, foi categorizado como “Desconhecido” para a característica correspondente. As seguintes coortes estão incluídas na categoria do regime profilático anti-CMV para o sector de estudo: CMX001 Coorte de tratamento 1, CMX001 Coorte de tratamento 2, CMX001 Coorte de tratamento 3 e CMX001 Coorte de tratamento 4.

CMV = citomegalovírus; DP = desvio padrão.

## Concordância clínica na população de HSCT

### Concordância na linha de base com base em limiares de carga viral

Tabela 37 apresenta a concordância entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV utilizando um limiar “Target Not Detected” na linha de base para sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV.

**Tabela 37** Análise de concordância de resultados do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV utilizando um limiar “Target Not Detected” (alvo não detectado) na população de HSCT

Base	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
	Target Not Detected	Detected		
cobas® CMV				
Target Not Detected	11	0	11	100,0% (71,5%, 100,0%)
Detected	8*	48	56	85,7% (73,8%, 93,6%)
Total	19	48	67	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato)	57,9% (33,5%, 79,7%)	100,0% (92,6%, 100,0%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	88,1% (77,8%, 94,7%)	-	-	-
Valor de p <sup>a</sup>	0,0078	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base de sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV.

\* 1 das 8 amostras discrepantes era de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

IC = intervalo de confiança.

Tabela 38 apresenta a concordância entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV utilizando um limiar de 1,37E+02 UI/ml na linha de base para sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV.

**Tabela 38** Análise de concordância de resultados do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV utilizando um limiar de 1,37E+02 UI/ml na população de HSCT

Base	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
	< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	≥ 1,37E+02 UI/ml (≥ 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)		
cobas® CMV				
< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	36	1	37	97,3% (85,8%, 99,9%)
≥ 1,37E+02 UI/ml (≥ 2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	1	29	30	96,7% (82,8%, 99,9%)
Total	37	30	67	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato)	97,3% (85,8%, 99,9%)	96,7% (82,8%, 99,9%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	97,0% (89,6%, 99,6%)	-	-	-
Valor de p <sup>a</sup>	1,0000	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base de sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV. As amostras com um resultado “Target Not Detected” ou uma carga viral detetável inferior a 1,37E+02 UI/ml foram categorizadas como “< 1,37E+02 UI/ml (< 2,137 log<sub>10</sub> UI/ml)”.

0 das 2 amostras discrepantes eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

1,0E+00 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

IC = intervalo de confiança.

Tabela 39 apresenta a concordância entre o **cobas**® CMV e o teste TaqMan® CMV utilizando um limiar de 5,0E+02 UI/ml na linha de base para sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV.

**Tabela 39** Análise de concordância de resultados do **cobas**® CMV e do teste TaqMan® CMV utilizando um limiar de 5,0E+02 UI/ml na população de HSCT

Base	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
	< 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	≥ 5,0E+02 UI/ml (≥ 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)		
cobas® CMV				
< 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	43	1	44	97,7% (88,0%, 99,9%)
≥ 5,0E+02 UI/ml (≥ 2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	0	23	23	100,0% (85,2%, 100,0%)
Total	43	24	67	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato)	100,0% (91,8%, 100,0%)	95,8% (78,9%, 99,9%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	98,5% (92,0%, 100,0%)	-	-	-
Valor de p <sup>a</sup>	1,0000	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base de sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV. As amostras com um resultado “Target Not Detected” ou uma carga viral detetável inferior a 5,0E+02 UI/ml foram categorizadas como “< 5,0E+02 UI/ml (< 2,699 log<sub>10</sub> UI/ml)”.

0 de 1 amostra discrepante eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

1,0E+00 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

IC = intervalo de confiança.

Tabela 40 apresenta a concordância entre o **cobas**® CMV e o teste TaqMan® CMV utilizando um limiar de 1,8E+03 UI/ml na linha de base para sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV.

**Tabela 40** Análise de concordância de resultados do **cobas**® CMV e do teste TaqMan® CMV utilizando um limiar de 1,8E+03 UI/ml na população de HSCT

Base  <b>cobas</b> ® CMV	Teste TaqMan® CMV		Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
	< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)		
< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	48	0	48	100,0% (92,6%, 100,0%)
≥ 1,8E+03 UI/ml (≥ 3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	2	17	19	89,5% (66,9%, 98,7%)
Total	50	17	67	-
Concordância na coluna (IC de 95% exato)	96,0% (86,3%, 99,5%)	100,0% (80,5%, 100,0%)	-	-
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	97,0% (89,6%, 99,6%)	-	-	-
Valor de p <sup>a</sup>	0,5000	-	-	-

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica na linha de base de sujeitos que iniciaram terapia anti-CMV. As amostras com um resultado “Target Not Detected” ou uma carga viral detetável inferior a 1,8E+03 UI/ml foram categorizadas como “< 1,8E+03 UI/ml (< 3,255 log<sub>10</sub> UI/ml)”.

0 das 2 amostras discrepantes eram de sujeitos que tinham discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Calculado utilizando o teste de McNemar.

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

IC = intervalo de confiança.

## Resolução de análise de episódio de CMV

Tabela 41 a seguir apresenta a análise de concordância da resolução de episódio de CMV por ponto no tempo para sujeitos virêmicos que iniciaram terapia anti-CMV.

**Tabela 41** Análise de concordância da resolução de episódio de CMV por ponto no tempo para sujeitos de HSCT virêmicos que iniciaram terapia anti-CMV

Ponto no tempo		Teste TaqMan® CMV				
	cobas® CMV	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV	Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)	
Dia 14	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	0	0	0	NC	
	Não resolução de episódio de CMV	0	14	14	100,0% (76,8%, 100,0%)	
	Total	0	14	14	-	
	Concordância na coluna (IC de 95% exato)	NC	100,0% (76,8%, 100,0%)	-	-	
	Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)	100,0% (76,8%, 100,0%)	-	-	-	
	<hr/>					
	Dia 21	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	1	0	1	100,0% (2,5%, 100,0%)
Não resolução de episódio de CMV		0	12	12	100,0% (73,5%, 100,0%)	
Total		1	12	13	-	
Concordância na coluna (IC de 95% exato)		100,0% (2,5%, 100,0%)	100,0% (73,5%, 100,0%)	-	-	
Concordância na percentagem geral (IC de 95% exato)		100,0% (75,3%, 100,0%)	-	-	-	
<hr/>						
<hr/>						

Ponto no tempo	Teste TaqMan® CMV				
	cobas® CMV	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV	Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
Dia 28	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	2	0	2	100,0% (15,8%, 100,0%)
	Não resolução de episódio de CMV	0	7	7	100,0% (59,0%, 100,0%)
	Total	2	7	9	-
	Concordância na coluna	100,0% (15,8%, 100,0%)	100,0% (59,0%, 100,0%)	-	-
	Concordância na percentagem geral	100,0% (66,4%, 100,0%)	-	-	-

Ponto no tempo	Teste TaqMan® CMV				
	cobas® CMV	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	Não resolução de episódio de CMV	Total	Concordância bruta (IC de 95% exato)
Dia 49	Resolução de episódio de CMV <sup>a</sup>	3	0	3	100,0% (29,2%, 100,0%)
	Não resolução de episódio de CMV	0	1	1	100,0% (2,5%, 100,0%)
	Total	3	1	4	-
	Concordância na coluna	100,0% (29,2%, 100,0%)	100,0% (2,5%, 100,0%)	-	-
	Concordância na percentagem geral	100,0% (39,8%, 100,0%)	-	-	-

Nota: só foram incluídos nesta tabela sujeitos com resultados emparelhados avaliáveis para análise de concordância clínica ao dia 14, dia 21, dia 28 ou dia 49 após iniciação de terapia anti-CMV e com um estado de resolução disponível para cada respetivo ensaio. 2 sujeitos tiveram resolução de episódio de CMV em ambos os ensaios ao dia 28, e os respetivos estados de resolução foram transportados para o dia 49. Nenhum dos sujeitos incluídos nesta análise apresentou discordância na sequência sem impacto.

<sup>a</sup> Resolução de episódio de CMV foi definido como 2 amostras consecutivas (de preferência colhidas com 1 semana de diferença) que foram testadas abaixo do limite inferior de quantificação (LLOQ) do teste TaqMan® CMV (137 UI/ml), que é consistente com o que é recomendado em diretrizes atuais; ou seja, 2 amostras “negativas” consecutivas foram recomendadas como um valor final de carga viral para o tratamento de episódios de CMV agudos.

CMV = citomegalovírus.

Tabela 42 a seguir apresenta as concordâncias nas percentagens gerais da análise de concordância da resolução de episódio de CMV entre o **cobas®** CMV e o teste TaqMan® CMV de sujeitos virêmicos ao dia 14, dia 21, dia 28 e dia 49. A CPG foi estimada como sendo 100% para todos os pontos no tempo de interesse. Por conseguinte, foram satisfeitos os critérios de aceitação da CPG.

**Tabela 42** Concordância na percentagem geral da análise de concordância da resolução de episódio de CMV de sujeitos de HSCT virêmicos que iniciaram terapia anti-CMV

Ponto no tempo	Concordância na percentagem geral Não resolvida	Concordância na percentagem geral Resolvida	Concordância na percentagem geral	IC de 95% exato Concordância na percentagem geral
Dia 14	100,0% (14/14)	NC	100,0% (14/14)	(76,8%, 100,0%)
Dia 21	100,0% (12/12)	100,0% (1/1)	100,0% (13/13)	(75,3%, 100,0%)
Dia 28	100,0% (7/7)	100,0% (2/2)	100,0% (9/9)	(66,4%, 100,0%)
Dia 49	100,0% (1/1)	100,0% (3/3)	100,0% (4/4)	(39,8%, 100,0%)

Nota: 2 sujeitos tiveram resolução de episódio de CMV em ambos os ensaios ao dia 28, e os respetivos estados de resolução foram transportados para o dia 49. Nenhum dos sujeitos incluídos nesta análise apresentou discordância na sequência sem impacto. Resolução de episódio de CMV foi definido como 2 amostras consecutivas (de preferência colhidas com 1 semana de diferença) que foram testadas abaixo do limite inferior de quantificação (LLoQ) do teste TaqMan® CMV (1,37E+02 UI/ml), que é consistente com o que é recomendado em diretrizes atuais; ou seja, 2 amostras “negativas” consecutivas foram recomendadas como um valor final de carga viral para o tratamento de episódios de CMV agudos. CMV = citomegalovírus; LLoQ = limite inferior de quantificação; NC = não calculável.

### Concordância geral a níveis de carga viral

Tabela 43 a seguir apresenta a concordância geral dos resultados de carga viral do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV para todas as 1367 amostras emparelhadas do estudo de concordância clínica.

**Tabela 43** Concordância geral entre os resultados de carga viral do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV na população de HSCT

Todas as amostras emparelhadas	Teste TaqMan® CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)						Total
	Target Not Detected	< 2,137	2,137 a < 2,699	2,699 a < 3,255	3,255 a < 3,899	≥ 3,899	
cobas® CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)							
Target Not Detected	918	23	0	0	1	1	943
< 2,137	154	138	9	0	0	0	301
2,137 a < 2,699	0	13	24	5	0	0	42
2,699 a < 3,255	1*	1	17	17	0	0	36
3,255 a 3,899	0	0	0	8	16	1	25
> 3,899	0	0	0	0	10	10	20
Total	1.073	175	50	30	27	12	1.367

Nota: todas as amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica foram incluídas nesta tabela. O limite inferior de quantificação (LLoQ) é de 3,45E+01 UI/ml para o **cobas®** CMV e 1,37E+02 UI/ml para o teste TaqMan® CMV. Os resultados foram categorizados em um dos cinco intervalos da carga viral baseados no resultado em UI/ml de cada respetivo ensaio.

Estão incluídas nesta tabela 7 amostras de 3 sujeitos com discordância na sequência sem impacto.

\* A amostra é de um sujeito com discordância na sequência sem impacto.

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

Tabela 44 a seguir apresenta o resumo da concordância dos resultados de carga viral de todas as amostras emparelhadas de pacientes de HSCT, utilizando diferentes limiares (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml).

**Tabela 44** Concordância resumida dos resultados de carga viral de pacientes de HSCT utilizando diferentes limiares (todas as amostras emparelhadas)

<b>Limiar</b>	<b>Concordância na percentagem &lt; Limiar</b> IC exacto de 95% (n/N)	<b>Concordância na percentagem ≥ Limiar</b> IC exacto de 95% (n/N)	<b>Concordância na percentagem geral</b> IC exacto de 95% (n/N)
<b>Target Not Detected</b>	<b>85,6%</b> (83,3%, 87,6%) (918/1073)	<b>91,5%</b> (87,7%, 94,4%) (269/294)	<b>86,8%</b> (84,9%, 88,6%) (1187/1367)
<b>1,37E+02 UI/ml (2,137 log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	<b>98,8%</b> (98,0%, 99,3%) (1233/1248)	<b>90,8%</b> (84,1%, 95,3%) (108/119)	<b>98,1%</b> (97,2%, 98,8%) (1341/1367)
<b>5,0E+02 UI/ml (2,699 log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	<b>98,5%</b> (97,7%, 99,1%) (1279/1298)	<b>89,9%</b> (80,2%, 95,8%) (62/69)	<b>98,1%</b> (97,2%, 98,8%) (1341/1367)
<b>1,8E+03 UI/ml (3,255 log<sub>10</sub> UI/ml)</b>	<b>99,4%</b> (98,8%, 99,7%) (1320/1328)	<b>94,9%</b> (82,7%, 99,4%) (37/39)	<b>99,3%</b> (98,7%, 99,6%) (1357/1367)

Nota: todas as amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica foram incluídas nesta tabela. O LoD do teste cobas® CMV é 3,45E+01 UI/ml. O LoD do teste TaqMan® CMV é 1,37E+02 UI/ml.

Os intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculados pelo método exato assumindo independência entre todas as amostras.

1 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

Tabela 45 a seguir apresenta a concordância geral dos resultados de carga viral do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV de amostras de pacientes que tinham iniciado terapia anti-CMV e colhidas a pontos no tempo de interesse definidos por protocolo após iniciação de terapia anti-CMV.

**Tabela 45** Concordância geral entre carga viral do **cobas®** CMV e do teste TaqMan® CMV de amostras a pontos no tempo de interesse após iniciação de terapia anti-CMV na população de HSCT

Todos os pontos no tempo	Teste TaqMan® CMV (log <sub>10</sub> UI/ml)						Total
	Target Not Detected	< 2,137	2,137 a < 2,699	2,699 a < 3,255	3,255 a < 3,899	≥ 3,899	
Target Not Detected	17	1	0	0	0	0	18
< 2,137	10	8	0	0	0	0	18
2,137 a < 2,699	0	0	0	0	0	0	0
2,699 a < 3,255	1*	0	2	2	0	0	5
3,255 a 3,899	0	0	0	2	0	0	2
> 3,899	0	0	0	0	1	1	2
Total	28	9	2	4	1	1	45

Nota: só foram incluídas nesta tabela amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica a pontos no tempo (dia 14, dia 21, dia 28 ou dia 49). O limite inferior de quantificação (LLoQ) é de 3,45E+01 UI/ml para o **cobas®** CMV e 1,37E+02 UI/ml para o teste TaqMan® CMV. Os resultados foram categorizados em um dos cinco intervalos da carga viral baseados no resultado em UI/ml de cada respetivo ensaio.

\* A amostra é de um sujeito com discordância na sequência sem impacto.

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

Tabela 46 a seguir apresenta o resumo da concordância dos resultados de carga viral de amostras emparelhadas a pontos no tempo de interesse após iniciação de terapia anti-CMV de pacientes de HSCT, utilizando diferentes limiares (Target Not Detected, 137 UI/ml, 500 UI/ml e 1800 UI/ml).

**Tabela 46** Resumo da concordância dos resultados de carga viral de pacientes de HSCT utilizando diferentes limiares (amostras a pontos no tempo de interesse após iniciação de terapia anti-CMV)

Limiar	Concordância na percentagem < Limiar IC exacto de 95% (n/N)	Concordância na percentagem ≥ Limiar IC exacto de 95% (n/N)	Concordância na percentagem geral IC exacto de 95% (n/N)
Target Not Detected	<b>60,7%</b> (40,6%, 78,5%) (17/28)	<b>94,1%</b> (71,3%, 99,9%) (16/17)	<b>73,3%</b> (58,1%, 85,4%) (33/45)
<b>1,37E+02 UI/ml</b> (2,137 log <sub>10</sub> UI/ml)	<b>97,3%</b> (85,8%, 99,9%) (36/37)	<b>100,0%</b> (63,1%, 100,0%) (8/8)	<b>97,8%</b> (88,2%, 99,9%) (44/45)
<b>5,0E+02 UI/ml</b> (2,699 log <sub>10</sub> UI/ml)	<b>92,3%</b> (79,1%, 98,4%) (36/39)	<b>100,0%</b> (54,1%, 100,0%) (6/6)	<b>93,3%</b> (81,7%, 98,6%) (42/45)
<b>1,8E+03 UI/ml</b> (3,255 log <sub>10</sub> UI/ml)	<b>95,3%</b> (84,2%, 99,4%) (41/43)	<b>100,0%</b> (15,8%, 100,0%) (2/2)	<b>95,6%</b> (84,9%, 99,5%) (43/45)

Nota: todas as amostras emparelhadas avaliáveis para análise de concordância clínica foram incluídas nesta tabela. O LoD do teste **cobas®** CMV é 3,45E+01 UI/ml. O LoD do teste TaqMan® CMV é 1,37E+02 UI/ml.

Os intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculados pelo método exato assumindo independência entre todas as amostras.

1 UI/ml = 1,1 cópias/ml.

## Comparação de métodos na população de pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT)

Foi realizado um estudo de comparação de métodos para avaliar o desempenho do **cobas**® CMV quando comparado a outro teste de carga viral de CMV aprovado pela FDA, o teste TaqMan® CMV, para a população de pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas (HSCT). O estudo utilizou 204 amostras emparelhadas incluindo 107 amostras positivas de CMV do estudo de profilaxia do CMV de fase 2 referido atrás, suplementadas por 97 amostras adicionadas feitas adicionando plasma negativo de receptores de HSCT com vírus CMV de cultura (estirpe Merlin).

Tabela 47 apresenta as estimativas dos parâmetros da regressão de Deming dos resultados de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) do **cobas**® CMV e do teste TaqMan® CMV, por tipo de amostra.

**Tabela 47** Estimativas de parâmetros da regressão de Deming entre cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) entre o **cobas**® CMV e o teste TaqMan® CMV na população de HSCT, por tipo de amostra

Tipo de amostra	Número de amostras emparelhadas	Parâmetro	Estimativa do parâmetro	Erro padrão	IC de 95% <sup>a</sup> IC de 95% por bootstrap <sup>b</sup>	r
Clínicas e adicionadas	204	Interceção	0,145 0,172*	0,041	(0,064, 0,227) (0,132, 0,219)	0,99
		Declive	0,990 0,982*	0,009	(0,972, 1,008) (0,972, 0,990)	
Clínicas	107	Interceção	-0,146 -0,188*	0,106	(-0,356, 0,064) (-0,462, -0,008)	0,96
		Declive	1,110 1,125*	0,034	(1,041, 1,178) (1,066, 1,217)	
Adicionadas	97	Interceção	-0,097 N/A	0,063	(-0,223, 0,028) N/A	0,99
		Declive	1,025 N/A	0,012	(1,000, 1,049) N/A	

Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A tabela incluiu apenas amostras clínicas e adicionadas emparelhadas com resultados que estavam dentro de  $1,37E+02$  a  $9,1E+06$  UI/ml, o intervalo linear comum de ambos os ensaios.

<sup>a</sup> Assumida independência entre todas as amostras.

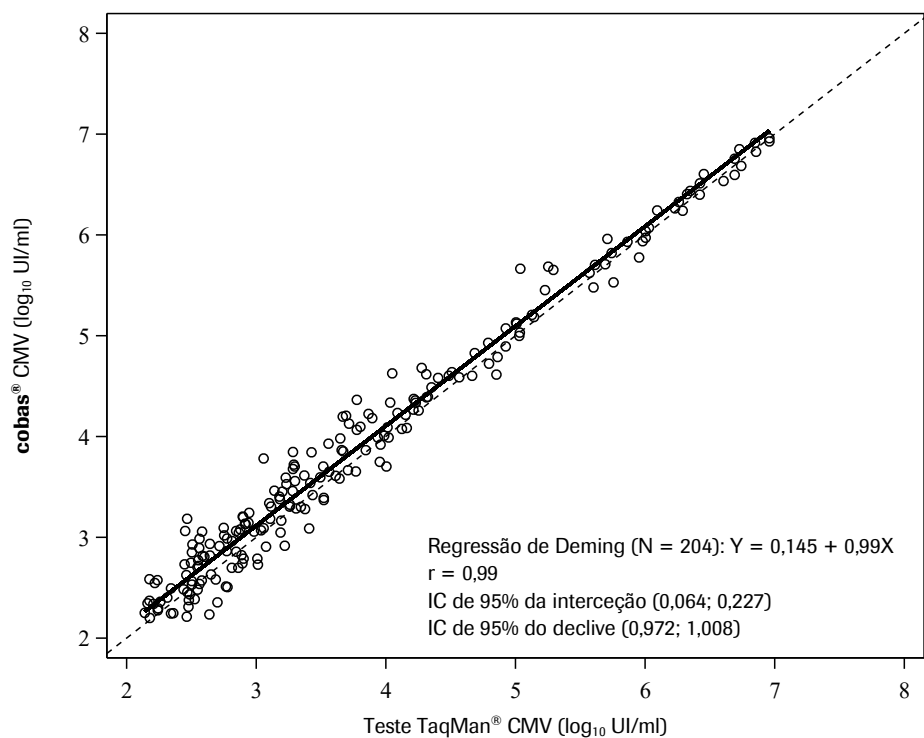
<sup>b</sup> Correlação ajustada entre amostras do mesmo sujeito pelo método de bootstrap com 500 iterações.

\* Designa o 50º percentil da distribuição bootstrap das estimativas do parâmetro.

IC = intervalo de confiança; **cobas**® CMV = **cobas**® CMV para utilização nos **cobas**® 6800/8800 Systems; N/A = não aplicável; r = coeficiente de correlação.

Figura 11 a seguir apresenta a representação gráfica da regressão de Deming dos resultados de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV, de amostras clínicas e adicionadas combinadas.

**Figura 11** Representação gráfica da regressão linear de Deming de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de HSCT (amostras clínicas e adicionadas)

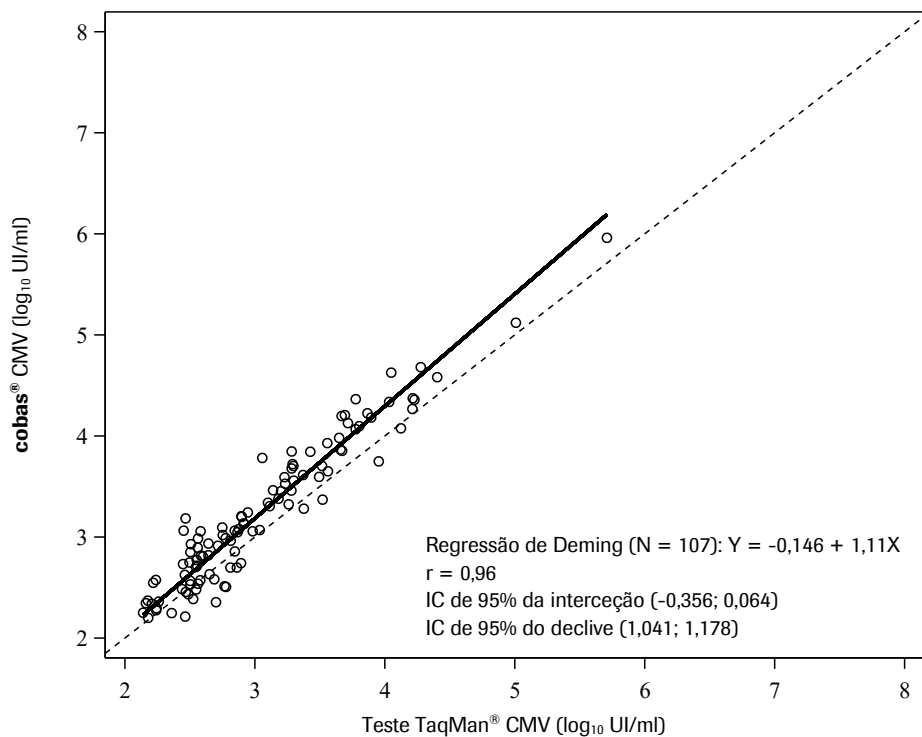


Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto.

IC = intervalo de confiança; r = coeficiente de correlação.

Figura 12 a seguir apresenta a representação gráfica da regressão de Deming dos resultados de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV, de amostras clínicas.

**Figura 12** Representação gráfica da regressão linear de Deming de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de HSCT (amostras clínicas)

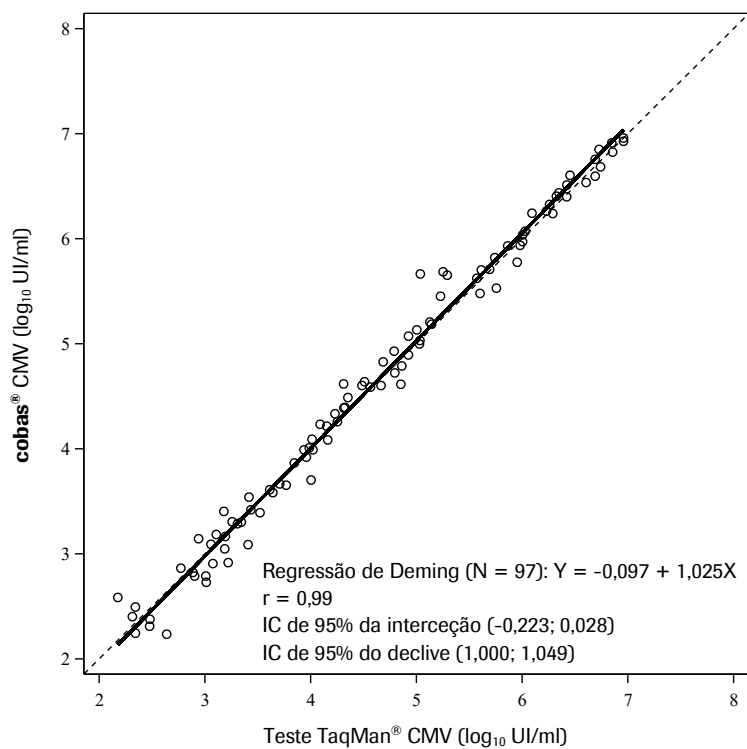


Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto.

IC = intervalo de confiança; r = coeficiente de correlação.

Figura 13 a seguir apresenta a representação gráfica da regressão de Deming dos resultados de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV, de amostras adicionadas.

**Figura 13** Representação gráfica da regressão linear de Deming de cargas virais ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de HSCT (amostras adicionadas)



IC = intervalo de confiança; r = coeficiente de correlação.

## Viés a níveis virais selecionados

Tabela 48 a seguir apresenta o viés entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV a 5 níveis de carga viral selecionados, de 2,14 log<sub>10</sub> UI/ml a 7,00 log<sub>10</sub> UI/ml com equivalentes não transformados associados.

**Tabela 48** Viés entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV (log<sub>10</sub> UI/ml) a 5 níveis de carga viral selecionados na população de HSCT (amostras clínicas e adicionadas)

Tipo de amostra	Nível de carga viral (pelo teste TaqMan® CMV)	Diferença sistemática entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV
Clínicas e adicionadas	2,137 log <sub>10</sub> UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,124 log <sub>10</sub> UI/ml (4,51E+01 UI/ml)
	2,699 log <sub>10</sub> UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,118 log <sub>10</sub> UI/ml (1,56E+02 UI/ml)
	3,255 log <sub>10</sub> UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,112 log <sub>10</sub> UI/ml (5,32E+02 UI/ml)
	4,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,105 log <sub>10</sub> UI/ml (2,74E+03 UI/ml)
	7,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,075 log <sub>10</sub> UI/ml (1,89E+06 UI/ml)
Clínicas	2,137 log <sub>10</sub> UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	0,089 log <sub>10</sub> UI/ml (3,12E+01 UI/ml)
	2,699 log <sub>10</sub> UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	0,151 log <sub>10</sub> UI/ml (2,08E+02 UI/ml)
	3,255 log <sub>10</sub> UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	0,212 log <sub>10</sub> UI/ml (1,13E+03 UI/ml)
	4,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,294 log <sub>10</sub> UI/ml (9,68E+03 UI/ml)
	7,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,624 log <sub>10</sub> UI/ml (3,21E+07 UI/ml)
Adicionadas	2,137 log <sub>10</sub> UI/ml (1,37E+02 UI/ml)	-0,044 log <sub>10</sub> UI/ml (-1,31E+01 UI/ml)
	2,699 log <sub>10</sub> UI/ml (5,00E+02 UI/ml)	-0,030 log <sub>10</sub> UI/ml (-3,29E+01 UI/ml)
	3,255 log <sub>10</sub> UI/ml (1,80E+03 UI/ml)	-0,016 log <sub>10</sub> UI/ml (-6,36E+01 UI/ml)
	4,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+04 UI/ml)	0,003 log <sub>10</sub> UI/ml (6,93E+01 UI/ml)
	7,000 log <sub>10</sub> UI/ml (1,00E+07 UI/ml)	0,078 log <sub>10</sub> UI/ml (1,97E+06 UI/ml)

## Diferença emparelhada média

Tabela 49 a seguir indica a estimativa de viés como a média observada da diferença de carga viral emparelhada, por tipo de amostra. O viés sistemático global foi estimado em 0,107 log<sub>10</sub> UI/ml em média ao longo do intervalo linear comum das amostras clínicas e adicionadas combinadas. A tabela também indica a estimativa de viés estratificada por intervalos de decisão representativos.

**Tabela 49** Média da diferença de carga viral emparelhada (log<sub>10</sub> UI/ml) entre o cobas® CMV e o teste TaqMan® CMV a intervalos de decisão representativos (UI/ml) na população de HSCT, por tipo de amostra

Tipo de amostra	Intervalos de decisão representativos (UI/ml) <sup>a</sup>	N	Média de diferença emparelhada (log <sub>10</sub> UI/ml)	EP da média de diferença emparelhada (log <sub>10</sub> UI/ml)	IC de 95% (log <sub>10</sub> UI/ml)
Clínicas e adicionadas	1,37E+02 a < 2,0E+03	98	0,126	0,023	(0,080, 0,171)
	2,0E+03 a < 2,0E+04	49	0,121	0,032	(0,058, 0,184)
	2,0E+04 a < 1,0E+05	16	0,061	0,033	(-0,009, 0,131)
	1,0E+05 a 9,1E+06	41	0,062	0,024	(0,013, 0,110)
	Global	204	0,107	0,014	(0,078, 0,135)
Clínicas	1,37E+02 a < 2,0E+03	77	0,170	0,024	(0,122, 0,219)
	2,0E+03 a < 2,0E+04	27	0,241	0,041	(0,157, 0,326)
	2,0E+04 a < 1,0E+05	1	0,178	-	-
	1,0E+05 a 9,1E+06	2	0,181	0,070	(-0,705, 1,068)
	Global	107	0,188	0,021	(0,148, 0,229)
Adicionadas	1,37E+02 a < 2,0E+03	21	-0,037	0,043	(-0,127, 0,053)
	2,0E+03 a < 2,0E+04	22	-0,027	0,025	(-0,079, 0,025)
	2,0E+04 a < 1,0E+05	15	0,053	0,034	(-0,020, 0,126)
	1,0E+05 a 9,1E+06	39	0,056	0,025	(0,006, 0,106)
	Global	97	0,017	0,016	(-0,015, 0,048)

Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A tabela incluiu apenas amostras clínicas e adicionadas combinadas emparelhadas com resultados que estavam dentro de 1,37E+02 a 9,1E+06 UI/ml, o intervalo linear comum de ambos os ensaios. Os resultados emparelhados foram categorizados em intervalos relevantes medicamente com base nos resultados do teste TaqMan® CMV (UI/ml).

IC = intervalo de confiança; N = número de amostras emparelhadas; EP = erro padrão.

<sup>a</sup> Intervalos de decisão representativos equivalentes (UI/ml) para 1,37E+02 a < 2,0E+03 (UI/ml) = 2,137 a < 3,301 (log<sub>10</sub> UI/ml), 2,0E+03 a < 2,0E+04 (UI/ml) = 3,301 a < 4,301 (log<sub>10</sub> UI/ml), 2,0E+04 a < 1,0E+05 (UI/ml) = 4,301 a < 5,000 (log<sub>10</sub> UI/ml) e ≥ 1,0E+05 (UI/ml) = ≥ 5,000 (log<sub>10</sub> UI/ml).

## Diferença total permissível

Tabela 50 a seguir indica a percentagem de resultados com intervalos baixo, médio e alto da zona de diferença total permissível, por tipo de amostra.

**Tabela 50** Percentagem de amostras a intervalos baixo, médio e alto dentro da zona de diferença total permissível na população de HSCT, por tipo de amostra

Tipo de amostra	Categoria de intervalo	Extensão do intervalo (UI/ml) <sup>a</sup>	Percentagem de amostras dentro da zona de DTP
Clínicas e adicionadas	Baixo	1,37E+02 a < 2,0E+03	98,9% (88/89)
	Médio	2,0E+03 a < 8,0E+03	93,9% (31/33)
	Alto	8,0E+03 a 9,1E+06	98,8% (81/82)
	Global	-	98,0% (200/204)
Clínicas	Baixo	1,37E+02 a < 2,0E+03	98,5% (65/66)
	Médio	2,0E+03 a < 8,0E+03	91,3% (21/23)
	Alto	8,0E+03 a 9,1E+06	100,0% (18/18)
	Global	-	97,2% (104/107)
Adicionadas	Baixo	1,37E+02 a < 2,0E+03	100,0% (23/23)
	Médio	2,0E+03 a < 8,0E+03	100,0% (10/10)
	Alto	8,0E+03 a 9,1E+06	98,4% (63/64)
	Global	-	99,0% (96/97)

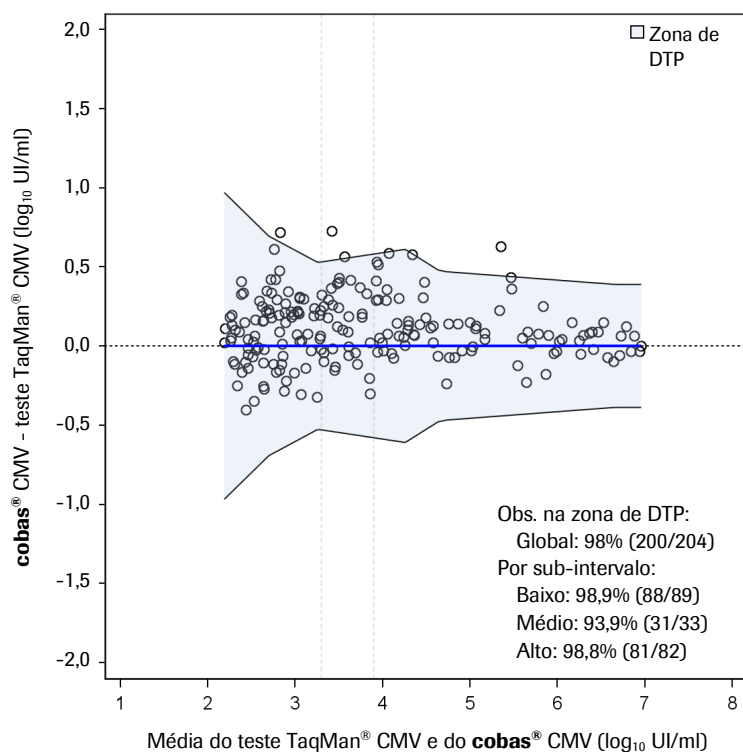
Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto. A tabela incluiu apenas amostras emparelhadas com resultados que estavam dentro de 1,37E+02 a 9,1E+06 UI/ml, o intervalo linear comum de ambos os ensaios. Os resultados emparelhados foram categorizados em intervalos com base nos resultados do teste TaqMan® CMV (UI/ml).

DTP = diferença total permissível.

<sup>a</sup> Os intervalos (UI/ml) relevantes medicamente equivalentes para 1,37E+02 a < 2,0E+03, 2,0E+03 a < 8,0E+03 e 8,0E+03 a 9,1E+06 em log<sub>10</sub> UI/ml são, respetivamente, 2,137 a < 3,301, 3,301 a < 3,903 e 3,903 a 6,959.

Figura 14 a seguir apresenta a representação gráfica da diferença total permissível dos resultados de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV, de amostras clínicas e adicionadas combinadas.

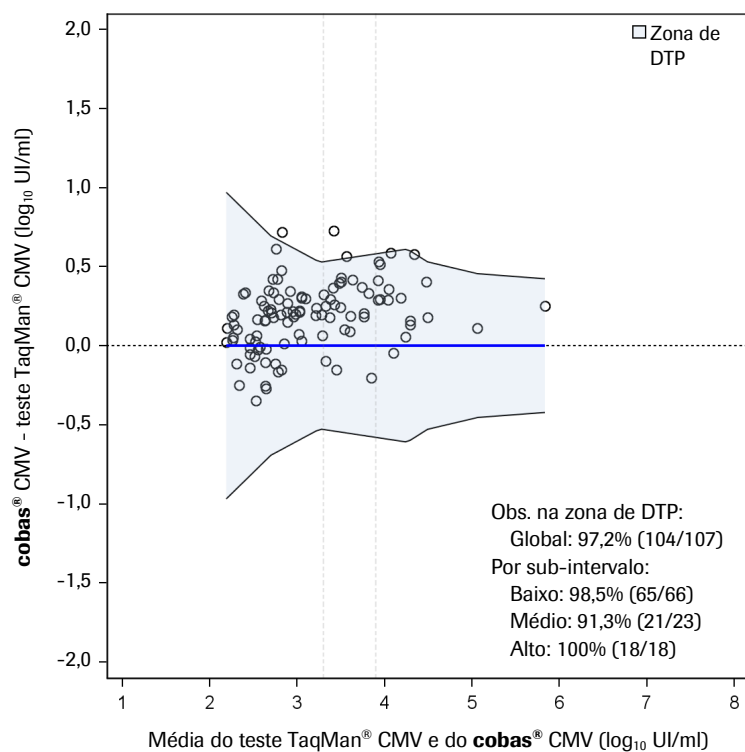
**Figura 14** Representação gráfica da diferença total permissível (DTP) da diferença de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de HSCT (amostras clínicas e adicionadas)



Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto.  
DTP = diferença total permissível; Obs. = resultados emparelhados observados.

Figura 15 a seguir apresenta a representação gráfica da diferença total permissível dos resultados de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV, de amostras clínicas.

**Figura 15** Representação gráfica da diferença total permissível (DTP) da diferença de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de HSCT (amostras clínicas)

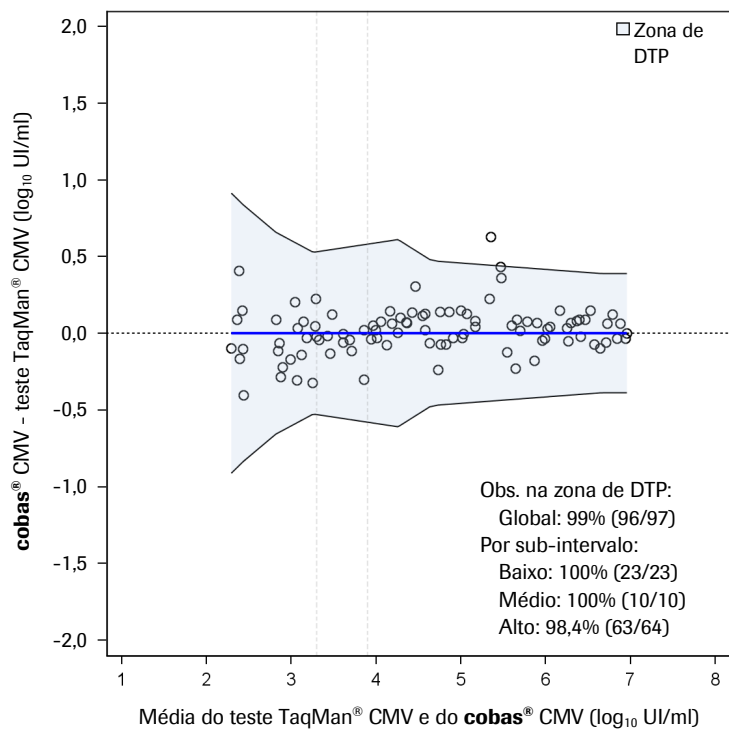


Nota: foram excluídas das análises de comparação de métodos 7 amostras de 3 sujeitos devido a discordância na sequência sem impacto.

DTP = diferença total permissível; Obs. = resultados emparelhados observados.

Figura 16 a seguir apresenta a representação gráfica da diferença total permissível dos resultados de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) do cobas® CMV e do teste TaqMan® CMV, de amostras adicionadas.

**Figura 16** Representação gráfica da diferença total permissível (DTP) da diferença de carga viral ( $\log_{10}$  UI/ml) na população de HSCT (amostras adicionadas)



DTP = diferença total permissível; Obs. = resultados emparelhados observados.

## Concordância com amostras negativas

Foram testadas 30 amostras negativas para o CMV IgG de pacientes de HSCT em cada ensaio, e os respectivos resultados são apresentados na Tabela 51 a seguir.

**Tabela 51** Resultados de amostras negativas para o CMV IgG testadas no cobas® CMV e no teste TaqMan® CMV

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

Nota: o limite inferior de quantificação é de 34,5 UI/ml para o cobas® CMV e 1,37E+02 UI/ml para o teste TaqMan® CMV.

IgG = imunoglobulina G.

## Conclusão

O cobas® CMV quantifica o nível de ADN do CMV em plasma EDTA, com uma boa concordância com o teste TaqMan® CMV aprovado pela FDA. Os resultados destes estudos demonstram a concordância clínica do cobas® CMV com o teste TaqMan® CMV, quando utilizado para monitorização de tratamento em pacientes de transplante de órgãos sólidos e em pacientes de transplante de células estaminais hematopoiéticas.

## Informações adicionais





















































### Características principais do teste

<b>Tipo de amostra</b>	Plasma EDTA
<b>Quantidade de amostra mínima necessária</b>	500 µl
<b>Volume de processamento de amostras</b>	350 µl
<b>Sensibilidade analítica</b>	34,5 UI/ml
<b>Intervalo linear</b>	34,5 UI/ml a 1E+07 UI/ml
<b>Especificidade</b>	100%
<b>Genótipos detetados</b>	Genótipo 1–4 de glicoproteína B do CMV
<b>Detetadas amostras do CMV resistentes a fármacos</b>	Amostras do CMV resistentes a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir e Foscarnet

## Símbolos

Os seguintes símbolos são utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche.

**Tabela 52** Símbolos utilizados em etiquetas de produtos de diagnóstico por PCR da Roche

 Idade ou data de nascimento	 Dispositivo não para testes efetuados próximo dos pacientes	 UI QS por reação PCR, utilize as Unidades Internacionais QS (UI) por reação PCR no cálculo dos resultados.
 Software auxiliar	 Dispositivo não para autotestes	 Número de série
 Intervalo atribuído (cópias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)</i>	 Centro
 Intervalo atribuído (UI/ml)	 Não reutilizar	 Procedimento padrão
 Representante autorizado na Comunidade Europeia	 Mulher	 Esterilizado com óxido de etileno
 Folha de dados de códigos de barras	 Apenas para avaliação do desempenho IVD	 Armazenar no escuro
 Número do lote	 Global Trade Item Number	 Limite de temperatura
 Risco biológico	 Importador	 Ficheiro de definição de teste
 Referência de catálogo	 Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado para cima
 Marcação de conformidade CE; este dispositivo está em conformidade com os requisitos aplicáveis para marcação CE de um dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>	 Limite inferior do intervalo atribuído	 Procedimento ultrasensível
 Data da colheita	 Homem	 Identificação exclusiva do equipamento
 Consulte as instruções de utilização	 Fabricante	 Limite superior do intervalo atribuído
 Conteúdo suficiente para <n> testes	 Controlo negativo	 Linha de enchimento da urina
 Conteúdo do kit	 Não esterilizado	 Apenas nos EUA: a Lei federal dos Estados Unidos restringe a venda deste dispositivo a um profissional licenciado ou a pedido deste.
 Controlo	 Nome do paciente	 Prazo de validade
 Data do fabrico	 Número do paciente	
 Dispositivo para testes efetuados próximo dos pacientes	 Abra aqui	
 Dispositivo para autotestes	 Controlo positivo	
	 Cópias QS por reação PCR, utilize as cópias QS por reação PCR no cálculo dos resultados.	

## Apoio técnico

Para apoio técnico (assistência) entre em contacto com a sua filial local:

[https://www.roche.com/about/business/roche\\_worldwide.htm](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Fabricante

### Tabela 53 Fabricante



Fabricado nos Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany  
[www.roche.com](http://www.roche.com)

Fabricado nos EUA

## Marcas comerciais e patentes

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

## Direitos de autor

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



## Bibliografia

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattson JR, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. 4th ed. London; John Wiley and Sons, 2000: pp. 79-116.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 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. Berlin Heidelberg; Springer-Verlag: 2008, pp. 297-313.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis.* 1983;5:205-215.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser.* 1989;44:507-534.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev.* 1992;5:204-210.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2629-2674.
8. Asberg A, Humar A, Rollag H, et al.; A VICTOR Study Group. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant.* 2007;7:2106-2113.
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;186:829-833.
10. Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al. Clinical utility of quantitative cytomegalovirus viral load determination for predicting cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. *Transplantation.* 1999;68:1305-1311.
11. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010;89(7):779-95.
12. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.; Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation.* 2013;96:333-360.
13. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, Rolles K, Griffiths PD, Emery VC. 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;176:1484-1490.
14. Razonable RR, Emery VC; 11<sup>th</sup> Annual Meeting of the IHMF (International Herpes Management Forum). Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27–29 February 2004. *Herpes.* 2004;11:77-86.
15. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol.* 2008;41:237-241.
16. 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;14:1041-1049.

17. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, Grywacz M, Knight S, Griffiths PD. Quantitative effects of valacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis.* 1999;180:695-701.
18. 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;11:889-893.
19. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS.* 2002;16:877-887.
20. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al.; American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice; Canadian Society of Transplantation. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transpl.* 2009;9:258-268.
21. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clinical and Applied Immunology Reviews.* 2002;2:155-167.
22. 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;5:218-227.
23. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
24. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493.
25. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878.
26. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
27. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
28. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

## Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc. Rev. 5.0 01/2023	Adicionados dados de estudo clinico dos EUA. Secção <b>Marcas comerciais e patentes</b> atualizada, incluindo o link. Secção de <b>Apoio técnico</b> adicionada. Atualizada a página de símbolos harmonizados. Atualização para os atuais Operadores Económicos. Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.