

cobas[®] CMV

**Teste quantitativo de ácidos nucleicos
para utilização no cobas[®] 4800 System**

*Para diagnóstico *in vitro**

cobas[®] CMV	120 Tests	P/N: 07865970190
cobas[®] CMV Control Kit	10 Sets	P/N: 07865988190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests	P/N: 06979513190
	960 Tests	P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests	P/N: 05235863190
	960 Tests	P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests	P/N: 06979530190
	960 Tests	P/N: 06979548190

ÍNDICE

Utilização prevista

Resumo e explicação do teste

Fundamentos	4
Fundamentos dos testes NAT do CMV	5
Explicação do teste	5
Princípios do procedimento	5

Materiais e reagentes

Reagentes	7
Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes	12
Materiais adicionais necessários.....	12
Equipamentos e software necessários mas não fornecidos	12
Tubos de amostra suportados.....	13

Precauções e requisitos de manuseamento

Advertências e precauções	13
Boas práticas de laboratório.....	14
Manuseamento dos reagentes.....	14
Contaminação.....	15
Integridade	15
Eliminação.....	15
Derrames e limpeza.....	15

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

Colheita de amostras.....	16
Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte	16

Instruções de utilização

Execução do teste	17
Tamanho da corrida.....	17
Fluxo de trabalho.....	18

Resultados

Controlo de qualidade e validade dos resultados.....	20
Interpretação dos resultados de controlo.....	20
Interpretação dos resultados.....	21
Lista de alarmes	22
Limitações do procedimento	23

Avaliação não clínica do desempenho

Características principais de desempenho	24
Limite de detecção (LoD).....	24
Padrão internacional da OMS	24
Intervalo linear.....	24
Precisão intra-laboratório	26
Verificação de genótipos	26
Verificação do limite de detecção dos genótipos gB-2, gB-3 e gB-4 da glicoproteína B	26
Verificação do intervalo linear dos genótipos gB-2, gB-3 e gB-4 da glicoproteína B	27
Verificação de amostras de CMV resistentes a fármacos	27
Verificação do limite de detecção de amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir e cidofovir).....	27
Verificação do intervalo linear de amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir e cidofovir).....	27
Especificidade analítica.....	28
Especificidade analítica – substâncias interferentes	29
Falha global do sistema.....	29
Contaminação cruzada.....	29

Avaliação do desempenho clínico

Correlação de métodos	30
Especificidade	30

Informações adicionais

Características principais do teste.....	31
Símbolos	32
Apoio técnico	33
Fabricante e importador.....	33
Marcas comerciais e patentes	33
Direitos de autor.....	33
Bibliografia	34
Revisão do documento	36

Utilização prevista

O **cobas**® CMV é um teste *in vitro* de amplificação de ácidos nucleicos para a medição quantitativa do ADN do 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 agente patogénico viral humano pertencente à família do vírus da herpes, omnipresente em comunidades a nível mundial.^{1,2} Em hospedeiros imunocompetentes, as infeções com CMV são muitas vezes assintomáticas, mas a infeção primária pode apresentar-se 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 da linhagem Myeloid do sangue periférico (mas não linfócitos) e as células endoteliais parecem ser os principais locais de infeção de CMV.³ O CMV permanece numa fase latente nos monócitos/macrófagos em seres humanos.² Os indivíduos com infeção latente poderão expelir o vírus assintomaticamente pelos fluidos corporais (por ex., urina, saliva) e infetar terceiros. Indivíduos imuno-comprometidos, incluindo recém-nascidos, recetores de transplantes e pacientes com SIDA, correm um risco elevado de desenvolverem infeções de CMV primárias graves ou reativações de CMV latente, dando origem a uma elevada taxa de morbilidade e mortalidade.⁴ Manifestações graves da doença por CMV incluem retinite, polirradiculoneuropatia, gastroenterite, hepatite, encefalite, esofagite, enterocolite, pancreatite, nefrite, rejeição do órgão do dador, pneumonite e síndrome viral de CMV.^{2,5,6}

Os nossos conhecimentos atuais relativos aos limiares clinicamente relevantes para o desenvolvimento da doença por CMV, provêm de vários estudos utilizando diferentes tecnologias, populações de estudo e valores finais.⁷⁻¹⁴ Em geral, cargas virais mais elevadas estão mais estreitamente associadas com o risco de contrair 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.¹² Em pacientes com SIDA/HIV, os níveis de ADN do CMV foram relacionados com o risco de doença por CMV e mortalidade geral.¹³⁻¹⁸

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.¹⁷ 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, para o triplo ($0,5 \log_{10}$ cópias/ml) para representar alterações biológicas importantes. Uma vez que a variabilidade é maior em concentrações baixas, os valores de alteração de carga viral próximos do limite inferior de quantificação poderão ter de ser mais do que o quádruplo ($0,7 \log_{10}$ cópias/ml) para serem consideradas significativas.^{9,19}

Embora o limiar exato ainda seja assunto de debate devido à variabilidade de ensaio para ensaio, o conceito de limiar crítico parece válido e tem sido referido em estudos de história natural, indicando que valores de carga viral mais elevados estão correlacionados com um maior risco de contração de doença por CMV.⁷⁻¹² Um estudo utilizando o teste COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR (teste CACM Test, com estado de utilização apenas em pesquisa nos Estados Unidos e com aprovação CE-IVD) determinou um cutoff para prever a doença entre 2000 e 5000 cópias/ml em recetores de transplante de fígado seropositivos para CMV.⁸

Fundamentos dos testes NAT do CMV

Os métodos laboratoriais de diagnóstico de infeção disseminada e doença visceral ativa do 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 detecção do ADN do CMV por métodos de reação em cadeia da polimerase (PCR).¹⁸ 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.²⁰ O ensaio pp65 é também difícil de realizar em doentes com neutropenia. A detecção direta de ADN do CMV, por ex. através de métodos de PCR em tempo real, oferece potencialmente um amplo alcance dinâmico, precisão e alta sensibilidade.

Explicação do teste

O cobas® CMV é um teste quantitativo que é executado no cobas® 4800 System. O cobas® CMV permite a detecção e quantificação do ADN do CMV rastreável, em conformidade com a 1ª padrão internacional da OMS para HCMV, 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. Os controlos externos positivo alto e positivo baixo são fabricados por diluição a partir de material de stock com um título em conformidade com o padrão internacional da OMS para o CMV. Cada lote de kit de amplificação/detecção é calibrado em conformidade com o padrão internacional da OMS para o CMV.

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 detecção. O cobas® 4800 System é constituído pelo cobas® x 480 instrument e o cobas® z 480 analyzer. O cobas® 4800 software efetua a gestão automática dos dados e atribui resultados a todos os testes, sob a forma de: alvo não detetado, < LLoQ (inferior ao limite inferior de quantificação), > ULoQ (superior ao limite superior de quantificação) ou ADN de CMV detetado, um valor no intervalo linear $LLoQ \leq x \leq ULoQ$. Os resultados podem ser revistos diretamente no ecrã do sistema e podem ser exportados e impressos como um relatório.

Os ácidos nucleicos de amostras de pacientes, de controlos externos e de moléculas adicionadas de DNA QS lambda são extraídos simultaneamente. 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 magnéticas de vidro adicionadas. As substâncias não ligadas e impurezas, tais como proteínas desnaturadas, detritos celulares e potenciais inibidores da PCR, são removidas com os posteriores passos de lavagem, e os ácidos nucleicos purificados são eluídos das partículas de vidro magnéticas com tampão de eluição a elevada 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 do alvo e do DNA QS são amplificadas simultaneamente utilizando um perfil universal por amplificação por PCR 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). Qualquer amplicon contaminante de corridas de PCR anteriores é eliminado pela enzima AmpErase, que é incluída na mistura principal da PCR, quando aquecido durante o primeiro passo do ciclo térmico.²¹⁻²³ 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 outra 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 diferentes canais de deteção.^{24, 25} Quando não ligado à sequência-alvo, os sinais fluorescentes das sondas intactas são suprimidos por um corante supressor. Durante o passo de amplificação por PCR, a hibridização das sondas com o ADN alvo específico, em cadeia simples resulta na sua clivagem pela atividade exonuclease 5' a 3' da nuclease do ADN, originando a separação dos corantes de sinalização e de supressão e a geração de um sinal fluorescente. Em cada ciclo da PCR, são geradas quantidades crescentes de sondas clivadas e o sinal cumulativo do corante sinalizador aumenta concomitantemente. A deteção e a discriminação em tempo real dos produtos da PCR são conseguidas medindo a fluorescência dos corantes sinalizadores libertados dos alvos virais e do DNA QS.

Materiais e reagentes

Reagentes

Todos os reagentes e controles não abertos devem ser armazenados conforme recomendado na tabela Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes.

Kit	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
cobas® CMV 120 testes (P/N: 07865970190)	MMX R1 (Reagente 1 de mistura principal cobas®) Acetato de manganês, hidróxido de potássio, < 0,1% de azida sódica	10 × 1,75 ml	N/A
	CMV MMX R2 (Reagente 2 de mistura principal do cobas® CMV) Tampão de tricina, acetato de potássio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% de primers senso e anti-senso de CMV, < 0,01% 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, < 0,01% de aptâmero oligonucleotídico, < 0,01% de polimerase do ADN Z05D (de origem microbiana), < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilase) (de origem microbiana), < 0,1% de azida de sódio	10 × 0,5 ml	N/A
	DNA QS (Padrão de quantificação de ADN cobas®) Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de estrutura de ADN sem 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 de sódio	10 × 1,75 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança ^a
cobas® CMV Control Kit 10 conjuntos (P/N: 07865988190)	CMV L(+)C (Controlo positivo baixo do cobas® CMV) < 0,001% de ADN do CMV sintético (plasmídeo) encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, anticorpos do HBc; ARN do HIV-1, ARN do HIV-2, ARN do HCV, ADN do HBV, ARN do HEV, ARN do WNV e ADN do CMV não detetáveis por métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300	10 × 0,75 ml	  ADVERTÊNCIA 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.
	CMV H(+)C (Controlo positivo alto do cobas® CMV) < 0,001% de ADN do CMV sintético (plasmídeo) de título elevado encapsulado em proteína coberta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, anticorpos do HBc; ARN do HIV-1, ARN do HIV-2, ARN do HCV, ADN do HBV, ARN do HEV, ARN do WNV e ADN do CMV não detetáveis por métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300	10 × 0,75 ml	
	(-)C2 (Controlo negativo 2 cobas®) Plasma humano normal, não-reativo em testes aprovados para anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg; anticorpos do HBc, ARN do HIV-1, ARN do HIV-2, ARN do HCV, ADN do HBV, ARN do HEV, ARN do WNV e ADN do CMV não detetáveis por métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300	10 × 0,75 ml	

^a A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE.

Kit	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 testes (P/N: 06979513190)	MGP 2 (Reagente 2 cobas® 4800 MGP) Partículas de vidro magnéticas, Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida sódica	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (Tampão de Eluição 2 cobas® 4800) Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 testes (P/N: 06979521190)	MGP 2 (Reagente 2 cobas® 4800 MGP) Partículas de vidro magnéticas, Tampão Tris, 0,1% de 4-hidroxibenzoato de metilo, < 0,1% de azida sódica	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (Tampão de Eluição 2 cobas® 4800) Tampão Tris, 0,2% de 4-hidroxibenzoato de metilo	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 testes (P/N: 05235863190)	WB Citrato de sódio desidratado, 0,05% de metil-N isotiazolinona HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 testes (P/N: 05235871190)	WB Citrato de sódio desidratado, 0,05% de metil-N isotiazolinona HCl	10 × 200 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por kit	Símbolo e advertência de segurança ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 testes (P/N: 06979530190)	P 2 (Protease 2 cobas® 4800) Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% (p/v) de proteinase	10 × 1,0 ml	 PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P280: Usar luvas de proteção. P284: Usar proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine
	LYS 2 (Tampão de lise 2 cobas® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sódio dihidratado	10 × 27 ml	 PERIGO H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. 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. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol

^a A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE.

Kit	Componentes e ingredientes reagentes	Quantidade por teste	Símbolo e advertência de segurança ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 testes (P/N: 06979548190)	P 2 (Protease 2 cobas® 4800) Tampão Tris, < 0,05% de EDTA, cloreto de cálcio, acetato de cálcio, 8% (p/v) de proteinase	10 × 1,0 ml	 PERIGO H317: Pode provocar uma reação alérgica cutânea. H334: Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. P261: Evitar respirar as névoas ou vapores. P280: Usar luvas de proteção. P284: Usar proteção respiratória. P304 + P340: EM CASO DE INALAÇÃO: retirar a pessoa para uma zona ao ar livre e mantê-la numa posição que não dificulte a respiração. P333 + P313: Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. P342 + P311: Em caso de sintomas respiratórios: contacte um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS/médico. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serine
	LYS 2 (Tampão de lise 2 cobas® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sódio dihidratado	10 × 84 ml	 PERIGO H302: Nocivo por ingestão. H314: Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. H411: Tóxico para os organismos aquáticos com efeitos duradouros. EUH032: Em contacto com ácidos liberta gases muito tóxicos. EUH071: Corrosivo para as vias respiratórias. P273: Evitar a libertação para o ambiente. P280: Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial/proteção auditiva. 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. P391: Recolher o produto derramado. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol

^a A rotulagem relativa à segurança de produtos baseia-se essencialmente na diretiva GHS da UE.

Requisitos de manuseamento e armazenamento de reagentes

Reagente	Temperatura de armazenamento	Tempo de armazenamento
cobas® CMV	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® CMV Control Kit*	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15 a 25 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2 a 8 °C	Estável até ao fim do prazo de validade indicado

* Armazene a caixa do Control Kit numa posição vertical

Não congelar os reagentes.

Materiais adicionais necessários

Materiais	P/N
Placa de extração (preparação) do cobas® 4800 System 2,0 ml	06884008001
Placa AD (microplaca) do cobas® 4800 System 0,3 ml	05232724001
Aplicador de película vedante	04900383001
Pontas CORE, 1000 µl, rack de 96	04639642001
Reservatório de reagente de 200 ml	05232759001
Reservatório de reagente de 50 ml	05232732001
Suporte de 24 posições	04639502001
Suporte de 32 posições	04639529001
Saco de resíduos sólidos	05530873001 (pequeno) ou 04691989001 (grande)
Manga de Plástico Hamilton STAR	04639669001
Luvas de laboratório, sem pó	São aceitáveis quaisquer luvas de laboratório sem pó.
Misturador de agitação forte (tubo único)	É aceitável qualquer misturador de agitação forte.
Centrífuga equipada com um rotor de cestos oscilantes com um RCF mínimo de 1500	É aceitável qualquer centrífuga apropriada.

Para mais informações relativamente a materiais vendidos em separado, contacte o representante local da Roche.

Equipamentos e software necessários mas não fornecidos

Equipamentos e software necessários, não fornecidos
cobas® 4800 System cobas® x 480 instrument cobas® z 480 analyzer Unidade de controlo
Software de Aplicação (Core) do cobas® 4800 System, versão 2.2 ou superior
cobas® 4800 System cobas® CMV AP v1.2.0 ou superior

Nota: *Contacte o representante local da Roche para uma lista de pedidos detalhada de racks de amostras, racks de pontas, racks de reagentes e suportes de placas aceites nos equipamentos.*

Tubos de amostra suportados

O Teste aceita os tubos de amostra primários e secundários vulgarmente utilizados.

São suportados os seguinte tubos de amostra:

Tubos primários (volume de processamento 400 µl)

Diâmetro nominal (mm)	Volume de entrada de amostra - sangue total processado (centrifugado)	Tubo de plasma EDTA
11-14	1800 µl ou mais	Com ou sem gel
14,5-16	Mais de 4000 µl	Com ou sem gel

Para informações sobre pedidos de tubos de amostra específicos e os volumes de entrada de amostra mínimos para tubos primários específicos, contacte o representante local da Roche.

Tubos secundários (volume de processamento 400 µl)

Diâmetro nominal (mm)	Volume de entrada de amostra
11-16	1000 µl ou mais (alguns tubos secundários específicos têm um volume de entrada mínimo inferior a 1000 µl)

Para informações sobre pedidos de tubos de amostra específicos e os volumes de entrada de amostra mínimos para tubos secundários específicos, contacte o representante local da Roche.

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 analítica deste teste, deverão ser tomadas as devidas precauções para manter os reagentes, as amostras e as misturas de amplificação isentas 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 paciente deverão ser manuseadas como se estivessem infetadas, utilizando boas práticas de laboratório, conforme descrito em Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories e no documento M29-A4 do CLSI.^{26, 27} Este procedimento só deve ser efetuado por pessoal com experiência no manuseamento de material com risco biológico e na utilização do **cobas®** CMV e do **cobas®** 4800 System.
- Todos os materiais de origem humana devem ser considerados potencialmente infecciosos e devem ser manipulados com as precauções universais. O **cobas®** CMV Control Kit contém plasma derivado de sangue humano. O material de origem foi submetido a testes aprovados de anticorpos e considerado como não-reativo para a presença de anticorpos do HCV, anticorpos do HIV-1/2, HBsAg, e anticorpos do HBc. Os testes de plasma humano normal por métodos de PCR não apresentaram quaisquer ARN do HIV-1 (grupos M e O), ARN do HIV-2, ARN do HCV, ADN do HBV, ARN do HEV, ARN do WNV ou ADN do CMV detetáveis. Nenhum método de teste conhecido pode oferecer uma garantia completa de que os produtos derivados do sangue humano não transmitirão agentes infecciosos.
- Evite a exposição de MGP a fontes de campos magnéticos.
- **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 dos procedimentos e diretrizes poderá afetar o desempenho ideal do teste.
- Armazene a caixa do **cobas®** CMV Control Kit numa posição vertical.
- Poderão ocorrer resultados falsos positivos se durante a manipulação e processamento das amostras, o carryover das amostras não for controlado adequadamente.
- Para outras advertências, precauções e procedimentos para reduzir o risco de contaminação do **cobas®** x 480 instrument ou do **cobas®** z 480 analyzer, consulte a Assistência ao utilizador (anteriormente conhecida como Manual do sistema) do **cobas®** 4800 System. Se houver suspeita de contaminação, efetue a limpeza e a manutenção semanal, conforme descrito na Assistência ao utilizador do **cobas®** 4800 System.
- Informe as autoridades competentes locais sobre qualquer incidente grave que possa ocorrer ao utilizar este ensaio.

Nota: Para instruções específicas, consulte "Colheita, transporte e armazenamento de amostras".

Boas práticas de laboratório

- Não efetue pipetagem com a boca.
- Não comer, beber ou fumar em áreas de trabalho laboratorial.
- Lave muito bem as mãos depois de manusear amostras e reagentes do kit, e depois de retirar as luvas.
- Ao manusear quaisquer reagentes, usar sempre proteção para os olhos, bata de laboratório e luvas de laboratório. Evite o contacto destes materiais com a pele, olhos ou membranas mucosas. Se ocorrer contacto, lave imediatamente com água em abundância. Caso não seja efetuado tratamento, podem surgir queimaduras. Se ocorrer derrame, dilua com água antes de secar.
- Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho do laboratório com uma solução recém-preparada de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada (diluir lixívia doméstica a 1:10). A seguir, limpe a superfície com um pano com etanol a 70%.
- Mantenha uma temperatura consistente no laboratório que esteja em conformidade com as especificações ambientais do sistema, conforme indicado na Assistência ao utilizador do **cobas®** 4800 System

Manuseamento dos reagentes

- Para evitar carryover de amostras ou controlos, manipule todos os reagentes, controlos e amostras de acordo com as boas práticas de laboratório.
- Antes de utilizar, inspecione visualmente cada frasco de reagente para se assegurar de que não existem sinais de fugas. Se existir algum indício de fuga, não utilize esse material para testes.
- O Tampão de Lise 2 **cobas®** 4800 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.
- O **cobas®** CMV e o **cobas®** 4800 Sample Preparation Kit 2 contém azida de sódio 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 o Tampão de Lise 2 **cobas®** 4800, que contém tiocianato de guanidina, entre em contacto com solução de hipoclorito de sódio (lixívia). Esta mistura pode produzir um gás altamente tóxico.

Contaminação

- Para evitar contaminação, devem ser usadas luvas que devem ser trocadas entre o manuseamento de amostras e de reagentes do **cobas**® CMV. Evite contaminar as luvas quando manusear amostras e controles. Use luvas de laboratório, bata de laboratório e proteção ocular quando manusear amostras e reagentes do kit.
- Evite a contaminação microbiana e por ribonucleases dos reagentes.
- Poderão ocorrer resultados falsos-positivos se o carryover de amostras não for impedido durante a manipulação das amostras.

Integridade

- Não utilizar kits fora dos prazos de validade.
- Não misturar reagentes.
- Não utilizar produtos descartáveis que tiverem ultrapassado o respetivo prazo de validade.
- Todos os itens descartáveis são para uma única utilização. Não reutilizar.
- Todos os equipamentos devem ser mantidos adequadamente, de acordo com as instruções do fabricante.

Eliminação

- O **cobas**® CMV e o **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 contêm azida de sódio (consulte "**Advertências e precauções**"). A azida sódica pode reagir com tubagens de chumbo e de cobre, produzindo azidas metálicas altamente explosivas. Quando eliminar soluções contendo azida sódica nos lavatórios do laboratório, lave os canos com um grande volume de água fria para impedir a formação de azidas.
- Eliminar os reagentes não utilizados e os resíduos em conformidade com a legislação local.

Nota: *Para a eliminação de resíduos líquidos, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.*

Derrames e limpeza

- O Tampão de Lise 2 **cobas**® 4800 contém tiocianato de guanidina. Caso ocorra derramamento de líquido que contenha tiocianato de guanidina, limpar com detergente laboratorial adequado e água. Se o líquido derramado contiver agentes potencialmente infecciosos, limpar PRIMEIRO a área afetada com detergente laboratorial e água e em seguida com hipoclorito de sódio a 0,5%.
- Se o derrame ocorrer no **cobas**® x 480 instrument, siga as instruções de limpeza apresentadas na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
- Não utilizar solução de hipoclorito de sódio (lixívia) para a limpeza do **cobas**® x 480 instrument ou do **cobas**® z 480 analyzer. Limpe o **cobas**® x 480 instrument ou o **cobas**® z 480 analyzer de acordo com os procedimentos descritos na Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.

Colheita, transporte e armazenamento de amostras

- 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 (15-30° C) até ficarem completamente descongeladas e, em seguida, misture brevemente (por ex., com agitação forte durante 3 a 5 segundos) e centrifugue para colher todo o volume de amostra no fundo do tubo.

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

Colheita de amostras

O sangue deve ser colhido em tubos de preparação de plasma BD Vacutainer® PPT™, em tubos Lavender Top para métodos de teste de diagnóstico molecular ou em tubos esterilizados que utilizem EDTA como anticoagulante.

Nota: *Para a preparação de plasma, o utilizador deve seguir as instruções fornecidas pelo fabricante dos tubos.*

Armazenamento e estabilidade das amostras durante o transporte

- O sangue total recolhido em tubos de preparação de plasma BD Vacutainer® PPT™, em tubos de topo lilás ou em tubos esterilizados com EDTA como anticoagulante para métodos de teste de diagnóstico molecular, pode ser armazenado e/ou transportado durante um máximo de 36 horas a temperaturas entre 2 °C e 25 °C antes da centrifugação e testes subsequentes.
- Alternativamente, as amostras de plasma podem ser armazenadas em tubos primários durante um máximo de 36 horas entre 2 °C e 25 °C ou 6 dias entre 2 °C e 8 °C.
- As amostras de plasma podem ser armazenadas em tubos secundários durante um máximo de 36 horas entre 2 °C e 30 °C, durante um máximo de 6 dias entre 2 °C e 8 °C ou durante um máximo de 6 semanas entre -15 °C e -25 °C. As amostras de plasma separadas em tubos secundários mantêm-se estáveis até um máximo de três ciclos de congelamento/descongelamento quando conservadas congeladas a temperaturas entre -15 °C e -25 °C.
- 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.

Instruções de utilização

Execução do teste

O volume de processamento de amostras do cobas® CMV é 400 µl.

Figura 1: Fluxo de trabalho do cobas® CMV

1	Iniciar o sistema
2	Executar a manutenção do equipamento
3	Retirar as amostras e os reagentes do armazenamento
4	Iniciar corrida
5	Efetuar a leitura dos cartões de parâmetros
6	Carregar amostras
7	Com LIS: confirmar ordem de trabalho Sem LIS: criar ordem de trabalho
8	Carregar consumíveis (placa de preparação, microplaca, racks de pontas)
9	Carregar reagentes
10	Iniciar corrida de preparação de amostras
11	Descarregar e selar microplaca
12	Carregar microplaca no analisador
13	Retirar amostras, reagentes usados e placa de preparação
14	Examinar resultados
15	Com LIS: enviar resultados para o LIS
16	Descarregar analisador

Nota: Para instruções de operação detalhadas, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Tamanho da corrida

Os reagentes genéricos de preparação de amostras (cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, cobas® 4800 System Lysis Kit 2 e cobas® 4800 System Wash Buffer Kit) estão disponíveis em dois tamanhos de kit, cada um suficiente para 10 corridas de até 24 ou até 96 amostras, incluindo os controlos e amostras a executar. O cobas® CMV está disponível em apenas um tamanho de kit, suficiente para testar até 120 (10×12) amostras, incluindo controlos e amostras. O cobas® CMV Control Kit está disponível em apenas um tamanho de kit e pode suportar todas as configurações de corridas. Para cada batch de testes, é necessário utilizar um controlo positivo baixo do CMV, um controlo positivo alto do CMV e um controlo negativo. Para uma única corrida de teste, o número máximo permitido de amostras é 93 amostras e 3 controlos.

A Figura 1 resume o procedimento.

Nota: Para uma utilização ideal dos reagentes, os reagentes genéricos de preparação de amostras podem ser utilizados numa corrida contendo um total entre 1 e 21 amostras (kit de 10×24 testes) ou um total entre 1 e 93 amostras (kit de 10×96 testes). No entanto, não podem ser combinados tamanhos diferentes do cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 e cobas® 4800 System Lysis Kit 2. Por exemplo, se no início da corrida for registado um frasco de reagente de Tampão de Lavagem para 96 testes, devem ser usados também reagentes para 96 testes dos outros kits de reagentes de preparação de amostras.

Fluxo de trabalho

O **cobas**® CMV é executado utilizando o “Full workflow” (fluxo de trabalho Completo) no **cobas**® 4800 software. Este fluxo de trabalho consiste na preparação de amostra no **cobas**® x 480 instrument, seguida de amplificação/deteção no **cobas**® z 480 analyzer. O **cobas**® CMV pode ser executado sozinho ou em modo de batch misto, com testes que partilham o mesmo processo de extração automatizada de amostras e perfil de PCR para amplificação e deteção. No passo de seleção de testes, o software apresentará testes compatíveis para batches mistos, com o **cobas**® CMV. Para mais detalhes, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.

1. Efetue o arranque do sistema, seguindo as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
2. Execute os procedimentos de manutenção, seguindo as instruções da Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
3. Reúna todos os reagentes e consumíveis necessários. Todos os reagentes, exceto os CMV MMX R2 e MMX R1, devem estar à temperatura ambiente antes de serem carregados no **cobas**® x 480 instrument. Os reagentes CMV MMX R2 e MMX R1 podem ser retirados diretamente do armazenamento à temperatura entre 2 e 8 °C, porque na altura de serem utilizados no processo já estarão à temperatura ambiente a bordo do **cobas**® x 480 instrument.

Nota: *Todos os reagentes e reservatórios de reagentes têm códigos de barras e foram concebidos para serem utilizados uma só vez. O cobas® 4800 software deteta a utilização dos reagentes e dos reservatórios de reagentes e rejeita os reagentes ou reservatórios de reagentes utilizados anteriormente.*

4. Inicie uma nova corrida e selecione o tipo de fluxo de trabalho como CMV. Para executar uma corrida de batch misto, para além de CMV, selecione outros tipos de fluxos de trabalho aplicáveis (por ex., HIV-1, HCV ou HCV GT).
5. Siga as indicações do assistente do software e efetue a leitura dos códigos de barras nos cartões de parâmetros de coeficientes de calibração e dos intervalos de controlo.

Nota: *Efetue e leitura dos cartões de parâmetros dos reagentes não expirados. O software não verifica as datas dos prazos de validade dos reagentes nos cartões de parâmetros. Verifique o prazo de validade impresso no cartão de parâmetros ou nos kits de reagente antes de efetuar a leitura da ID do código de barras correspondente.*

6. Carregue as amostras. Podem ser carregados os tubos de amostra primários ou secundários, e o volume mínimo de amostra depende do tipo e tamanho do tubo.
7. Crie uma ordem de trabalho. Existem três maneiras de criar uma ordem de trabalho:
 - Utilizando o editor de amostras antes de carregar qualquer rack de amostras no **cobas**® x 480 instrument (botão "Editor" à direita do menu principal). As ordens de trabalho podem ser guardadas, editadas e recarregadas, se necessário. Quando selecionar os resultados pretendidos, selecione "CMV".
 - Seguindo o assistente do software para a nova corrida e carregando as amostras no **cobas**® x 480 instrument quando o sistema solicitar. Os códigos de barras das amostras serão automaticamente lidos e são registados os testes pretendidos para cada amostra. Quando selecionar os resultados pretendidos, selecione "CMV".
 - Utilizando o sistema LIS da sua instituição.

Para mais detalhes, consulte a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System. Carregue amostras e defina/selecione a ordem de trabalho ou utilize o LIS, conforme apropriado.

8. Carregue os consumíveis conforme as instruções do assistente do software. Não coloque ou retire pontas individuais de uma rack de pontas parcialmente usada, uma vez que o software regista o número de pontas que sobra. Se não houver pontas suficientes para executar a corrida, o software alerta o utilizador.

9. Carregue os reagentes.

Carregue os reagentes de preparação de amostras nos reservatórios de reagentes com códigos de barras. Os reservatórios de reagentes estão disponíveis em dois tamanhos: 200 ml e 50 ml. Siga as indicações do assistente do software para selecionar o tamanho correto do reservatório de reagente. Os códigos de barras dos reservatórios de reagentes devem estar virados para a direita do suporte. Utilize o método "ler-ler-verter-colocar" para carregar os reagentes de preparação de amostras:

- Faça a leitura do código de barras do frasco de reagente
- Faça a leitura do código de barras do reservatório de reagente
- Verta o reagente no reservatório
- Coloque o reservatório de reagente cheio no suporte de reagentes na posição designada

Nota: *O cobas® 4800 System dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo que os reagentes estão a bordo do equipamento. Uma vez efetuada a leitura do LYS 2 ou do WB, existe um prazo de 1 hora para concluir o processo de carregamento e clicar no botão "Start". Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador "Workplace". O sistema não permite que a corrida se inicie se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.*

Nota: *Para garantir uma transferência precisa de MGP, proceda à agitação forte do frasco de MGP imediatamente antes de dispensar o reagente no reservatório de reagente.*

10. Carregue os frascos de reagentes de amplificação/deteção (CMV MMX R2, MMX R1 e DNA QS), os frascos de controlos [CMV L(+)C, CMV H(+)C e (-)C] e os frascos de reagentes genéricos (P2 conforme for necessário) diretamente no suporte de reagentes.

Nota: *Para evitar contaminação e corridas canceladas desnecessariamente, é necessário movimentar os frascos de reagente rapidamente para baixo para evitar a formação de bolhas/película líquida. Os controlos deverão ser abertos a começar com os mais próximos do utilizador (da posição 24 para a 1). Mude de luvas depois de manusear controlos positivos.*

11. Inicie a corrida de preparação de amostras. Depois de concluída com êxito a corrida de preparação de amostras, ficam disponíveis os botões "Sample Preparation results" e "Unload". Se desejar examinar os resultados, selecione o botão "Sample Preparation results" e depois selecione "Unload" para descarregar os suportes de placas. Alternativamente, selecione "Unload" para descarregar o suporte de placas sem examinar os resultados. Consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.
12. Depois de descarregar a microplaca, siga as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para selar e transferir a placa para o cobas® z 480 analyzer.
13. Carregue a microplaca no analisador e inicie a corrida de amplificação e deteção conforme as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Nota: *O cobas® 4800 System dispõe de um relógio interno para monitorizar o intervalo de tempo após a adição da mistura principal às amostras preparadas. A amplificação e deteção deverão ser iniciadas o mais cedo possível, mas nunca depois de 40 minutos após o final da corrida no cobas® x 480 instrument. Aparece um temporizador de contagem decrescente no separador "Workplace". O sistema cancela a corrida se tiver expirado o tempo a bordo do equipamento.*

14. Retire as amostras, os reagentes usados e a placa de preparação, conforme as instruções da Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.
15. Após concluída a corrida de amplificação e deteção, siga as instruções do software de Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para examinar e aceitar resultados.
16. Se estiver a trabalhar com o LIS, envie os resultados para o LIS.
17. Siga as instruções do software de Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System para descarregar a microplaca do cobas® z 480 analyzer.

Resultados

O **cobas**® 4800 System determina 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

- Com cada batch, são processados um controlo negativo (-)C2 e dois controlos positivos: um controlo positivo baixo CMV L(+)C e um controlo positivo alto CMV H(+)C.
- Verifique a validade do batch no **cobas**® 4800 software e/ou no relatório.
- A invalidação dos resultados é feita automaticamente pelo **cobas**® 4800 software, com base na falha de algum controlo positivo ou negativo.

Interpretação dos resultados de controlo

Tabela 1: Interpretação dos resultados de controlo de controlos negativos e positivos

Controlo negativo	Resultado	Interpretação
(-)C2	Target Not Detected	O controlo é válido. ADN de CMV não detetado.
	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de título calculado do controlo negativo não é negativo.
Controlo positivo	Resultado	Interpretação
CMV L(+)C	Título	O controlo é válido. O título calculado está dentro do intervalo de controlo.
	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado de título calculado do controlo positivo baixo não está dentro do intervalo atribuído.
CMV H(+)C	Título	O controlo é válido. O título calculado está dentro do intervalo de controlo.
	Invalid	Um resultado inválido ou o resultado do título calculado do controlo positivo alto não está dentro do intervalo atribuído.

Interpretação dos resultados

Nota: A validação de todos os ensaios e batches é determinada pelo cobas® 4800 software.

Nota: Uma batch válida poderá incluir resultados de amostras válidos e inválidos.

Para uma batch válida, os resultados de amostra são interpretados conforme indicado na Tabela 2.

Tabela 2: Interpretação de resultados individuais, para os resultados alvo

cobas® CMV	Relatório e Interpretação de Resultados
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. = 3,45E+01 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 ^a	O título calculado está acima do limite superior de quantificação (ULoQ) do ensaio. Reportar resultados como "CMV detetado, superior a (título máx.)". Título máx. = 1,00E+07 UI/ml

^a Um resultado de amostra "> Titer Max" refere-se às amostras positivas para o CMV detetadas com títulos acima do limite superior de quantificação (ULoQ). Caso seja pretendido um resultado quantitativo, a amostra original deve ser diluída com plasma EDTA negativo para o CMV, consoante o tipo da amostra original, e o teste deve ser repetido. Multiplique o resultado reportado pelo fator de diluição.

Lista de alarmes

A seguinte tabela apresenta uma lista de todos os alarmes que são relevantes para a interpretação de resultados.

Tabela 3: Lista de alarmes

Código do alarme	Descrição	Ação recomendada
R4800	O alvo é inválido devido a falha de cálculo.	O alvo é inválido devido a falha de cálculo. 1. Execute novamente a amostra. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R4801	O padrão de quantificação é inválido.	O padrão de quantificação é inválido para uma amostra. 1. Execute novamente a amostra. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R4802	Um controlo externo é inválido.	Um controlo externo é inválido. ^a 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R4803	O padrão de quantificação é inválido.	O padrão de quantificação é inválido para um controlo externo. 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
R4804	O controlo externo está fora do intervalo.	O controlo externo está fora do intervalo. ^b 1. Repita a corrida inteira com novos reagentes. 2. Se o problema persistir, contacte a assistência da Roche.
X3	Erro: Foi detetado um coágulo. A amostra não foi processada.	Certifique-se de que as amostras foram manuseadas de acordo com a descrição do fluxo de trabalho. 1. Verifique a amostra quanto a coágulos. 2. Execute novamente a amostra.
X4	Erro: Ocorreu um erro de pipetagem. A amostra não foi processada.	O motivo mais provável deverá ser um volume de amostra insuficiente ou um erro mecânico durante a pipetagem. 1. Assegure-se de que há volume de amostra suficiente. 2. Verifique se a placa de ejeção de pontas está colocada corretamente. 3. Execute novamente a amostra.

^a Este é um alarme de amostra que ocorre quando um controlo externo da corrida é determinado como inválido.

^b Este alarme inclui todos os cenários nos quais o controlo externo é inválido (título ou determinação do alvo).

Nota: Para as descrições dos restantes alarmes do sistema, consulte a Assistência ao utilizador do cobas® 4800 System.

Limitações do procedimento

1. O **cobas**® CMV foi avaliado apenas para utilização com o **cobas**® CMV Control Kit, o **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, o **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 e o **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit.
2. A obtenção de resultados fiáveis está dependente da colheita, transporte, armazenamento e processamento adequados das amostras. Siga os procedimentos deste documento de instruções de utilização (também designado como um folheto informativo) e a Assistência ao utilizador do **cobas**® 4800 System.
3. Este teste foi validado apenas para utilização com plasma EDTA. Testar outros tipos de amostra pode originar resultados imprecisos.
4. A quantificação do ADN do CMV depende do número de partículas virais presentes nas amostras e pode ser afetada pelos métodos de colheita de amostra, por fatores inerentes ao paciente (por ex., a idade, a presença de sintomas) e/ou o estadio da infeção.
5. Embora raras, as mutações dentro de regiões altamente conservadas de um genoma viral abrangidas pelo **cobas**® CMV, podem afetar a ligação de primers e/ou sonda, resultando na subquantificação do vírus ou insucesso na deteção de presença do vírus.
6. O valor preditivo de um teste depende da prevalência da doença numa determinada população.
7. A adição de enzima AmpErase à Mistura Principal do **cobas**® CMV permite a amplificação seletiva do ácido nucleico alvo; no entanto, para evitar a contaminação dos reagentes e das misturas de amplificação, é necessário observar boas práticas de laboratório e cumprir cuidadosamente os procedimentos especificados neste folheto informativo.
8. A utilização deste produto deve estar limitada a pessoal com formação em técnicas de PCR e na utilização do **cobas**® 4800 System.
9. Apenas o **cobas**® x 480 instrument e o **cobas**® z 480 analyzer foram validados para utilização com este produto. Nenhum outro equipamento de preparação de amostras ou sistema de PCR pode ser utilizado com este produto.
10. Devido a diferenças básicas entre tecnologias, recomenda-se que, antes de mudar 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 os seus próprios procedimentos específicos e políticas específicas.
11. A contaminação cruzada pode causar resultados falsos-positivos. Um estudo não clínico determinou que a taxa de contaminação cruzada de amostra para amostra do **cobas**® CMV foi de 0,0%. Não foi observada contaminação cruzada de corrida para corrida.
12. O **cobas**® CMV não se destina à utilização como um teste de rastreio para a presença do CMV no sangue ou em produtos derivados do sangue, nem como um teste de diagnóstico visando confirmar a presença de infeção por CMV.

Avaliação não clínica do desempenho

Características principais de desempenho

Limite de detecção (LoD)

O limite de detecção (LoD) do **cobas**® CMV foi determinado por análise de diluições em série do padrão internacional da OMS (estirpe Merlin, genótipo 1 da glicoproteína B) e verificado pelos genótipos gB-2, gB-3 e gB-4 da glicoproteína B, assim como para amostras de CMV resistentes a fármacos. O LoD invocado para plasma EDTA é de 34,5 UI/ml.

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 HCMV²⁸) obtido a partir de NIBSC, em plasma EDTA humano negativo para o CMV. Painéis de sete níveis de concentração, mais um branco, foram testados por entre três lotes de reagentes do teste **cobas**® CMV e várias corridas, dias, operadores e equipamentos.

Os resultados são exibidos na Tabela 4. O estudo demonstra que o **cobas**® CMV detetou ADN do CMV a uma concentração de 20,5 UI/ml com uma taxa de positividade $\geq 95\%$ por PROBIT.

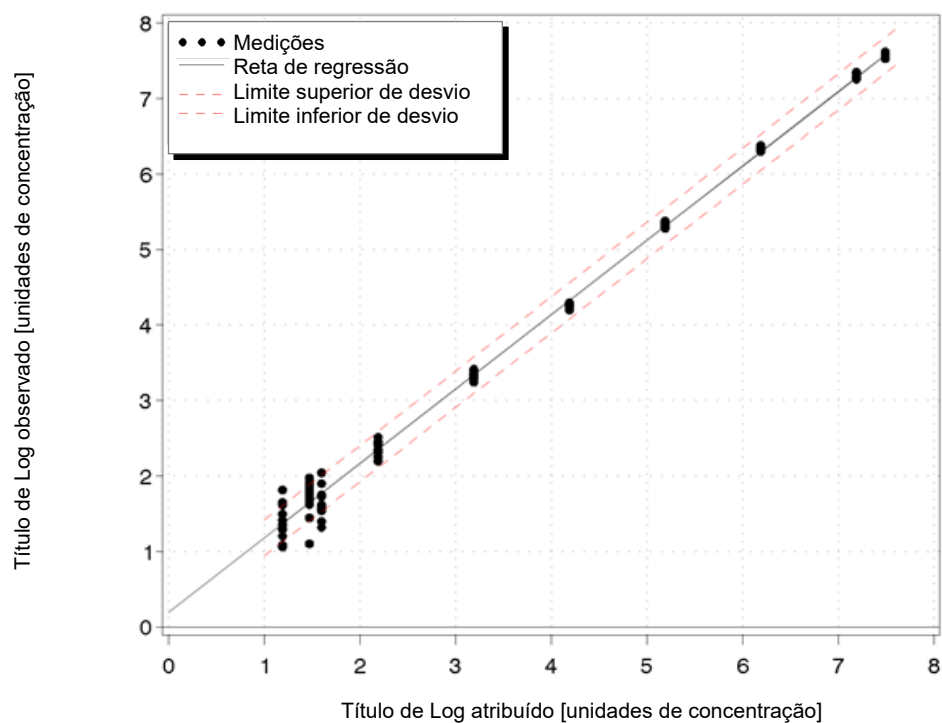
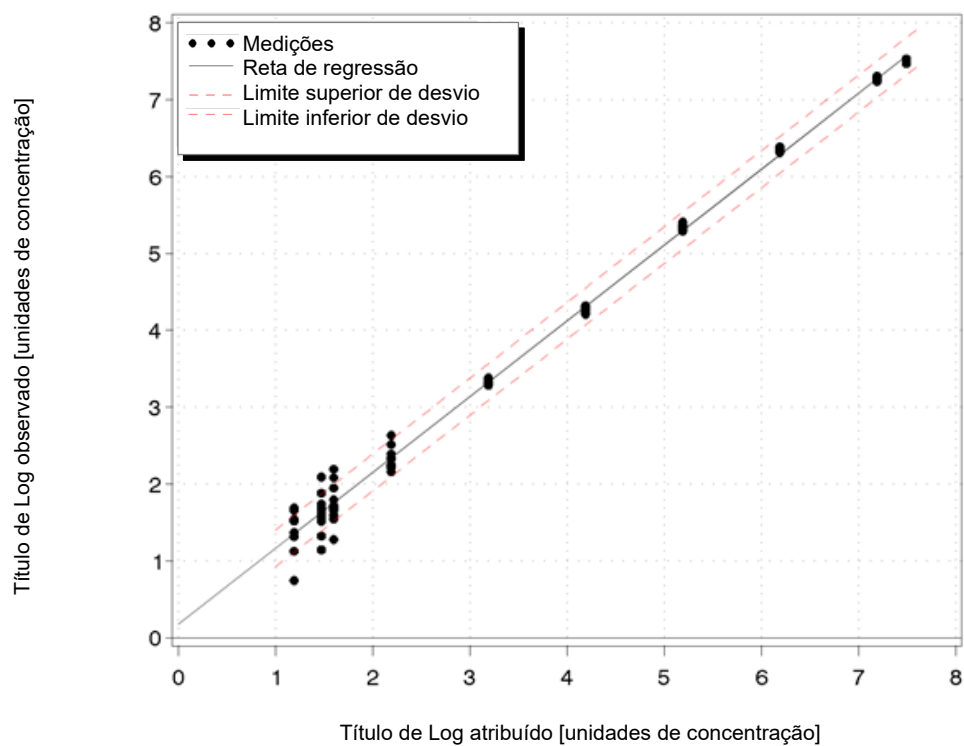
Tabela 4: Limite de detecção

Concentração de título de entrada (ADN do CMV UI/ml)	N.º de réplicas válidas	Número de positivos	Taxa de positividade em %
60,0	126	126	100,0
46,0	126	126	100,0
34,5	124	124	100,0
23,0	126	122	96,8
15,0	126	111	88,1
10,0	126	97	77,0
5,0	126	63	50,0
0,0	72	0	0,0
Limite de detecção por PROBIT com taxa de positividade de 95%	20,5 UI/ml (IC de 95%: 16,9 – 23,3 UI/ml)		

Intervalo linear

A linearidade do **cobas**® CMV foi avaliada utilizando uma série de diluição constituída por 10 membros do painel com concentrações de ADN do CMV de genótipo gB-1 abrangendo o intervalo linear do ensaio (1,55E+01 a 3,11E+07 UI/ml). Foram utilizados 2 lotes de reagentes do teste **cobas**® CMV e cada membro do painel foi testado em 12 réplicas por lote e os resultados do estudo estão indicados na Figura 2 e Figura 3 para os resultados representativos.

Os dados demonstraram um comportamento linear de 1,55E+01 a 3,11E+07 UI/ml. O intervalo linear invocado para o **cobas**® CMV é de 34,5 a 1,0E+07 UI/ml

Figura 2: Linearidade Lote 1**Figura 3:** Linearidade Lote 2

Precisão intra-laboratório

A precisão do **cobas**® CMV foi determinada por análise de diluições em série de ADN do CMV de genótipo gB-1. Foram testados 6 níveis de diluição em 90 réplicas para cada nível por entre 3 lotes de reagentes do **cobas**® CMV, utilizando 2 equipamentos e 4 operadores ao longo de 15 dias. Cada amostra foi sujeita ao procedimento completo do **cobas**® CMV no **cobas**® 4800 System. Por conseguinte, a precisão aqui reportada representa todos os aspetos do procedimento de teste. Os resultados são exibidos na Tabela 5.

O **cobas**® CMV apresentou uma alta precisão para os 3 lotes de reagentes testados através de um intervalo de concentração de 3,90E+01 UI/ml a 1,52E+06 UI/ml.

Tabela 5: Precisão intra-laboratório do **cobas**® CMV*

Concentração nominal (UI/ml)	Concentração atribuída (UI/ml)	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos os lotes
		SD	SD	SD	DP em pool
1,80E+06	1,55E+06	0,04	0,04	0,04	0,04
1,80E+05	1,55E+05	0,05	0,03	0,05	0,04
1,80E+04	1,55E+04	0,06	0,04	0,06	0,05
1,80E+03	1,55E+03	0,06	0,05	0,04	0,05
1,80E+02	1,55E+02	0,13	0,10	0,13	0,12
4,60E+01	3,97E+01	0,17	0,15	0,24	0,19

* Os dados de titulação são considerados como tendo distribuição log-normal e são analisados de acordo com transformação $\log_{10}$. As colunas de desvio padrão (DP) apresentam a totalidade dos títulos com transformação logarítmica para cada um dos três lotes de reagente.

Verificação de genótipos

O desempenho do **cobas**® CMV em genótipos CMV 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 em plasma EDTA negativo do CMV, sobrenadantes de culturas celulares CMV de 2 tipos diferentes de genótipos da glicoproteína B (gB-2 e gB-3) e plasmídeo de ADN do CMV do genótipo 4 da glicoproteína B (gB-4). A determinação da taxa de positividade foi efetuada com 42 réplicas a um nível de concentração. Os testes foram efetuados com um lote de reagentes do **cobas**® CMV. Os resultados são exibidos na Tabela 6. 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 6: Verificação do LoD dos genótipos gB-2, gB-3 e gB-4 da glicoproteína B do CMV

Genótipo da glicoproteína B	Taxa de positividade a 34,5 UI/ml
gB-2	100,0%
gB-3	100,0%
gB-4	100,0%

Verificação do intervalo linear dos genótipos gB-2, gB-3 e gB-4 da glicoproteína B

A série de diluição utilizada na verificação do intervalo linear (conforme determinado com o genótipo 1 da glicoproteína B do CMV) de todos os genótipos invocados da glicoproteína B do CMV (gB2, gB3 e gB4), era constituída por um painel de 7 membros abrangendo o intervalo linear pretendido. Os testes foram efetuados com um lote de reagente do cobas® CMV; foram testadas 12 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). O desvio máximo entre a regressão linear e o método de regressão não linear mais adequado foi igual ou inferior a 0,06 log₁₀.

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 deteção de amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a ganciclovir, valganciclovir, cidofovir ou foscarnet)
- Verificação do intervalo linear de amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a ganciclovir, valganciclovir, cidofovir ou foscarnet)

Verificação do limite de deteção de amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir e cidofovir)

Foram diluídas em plasma EDTA negativo do CMV, sobrenadantes de culturas celulares CMV de 2 amostras diferentes de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir e cidofovir). A determinação da taxa de positividade foi efetuada com 42 réplicas a um nível de concentração. Os testes foram efetuados com um lote de reagentes do cobas® CMV. Os resultados são exibidos na Tabela 7. Estes resultados demonstram que o cobas® CMV detetou ADN do CMV em todas as amostras resistentes a fármacos vulgares do CMV testadas a concentrações de 34,5 UI/ml com uma taxa de positividade $\geq 95\%$.

Tabela 7: Verificação do LoD de amostras de CMV resistentes a fármacos

Fenótipo de resistência	Taxa de positividade a 34,5 UI/ml
foscarnet	100,0%
ganciclovir, valganciclovir, cidofovir	100,0%

Verificação do intervalo linear de amostras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet ou ganciclovir, valganciclovir e cidofovir)

A série de diluição utilizada na verificação do intervalo linear (conforme determinado com o genótipo 1 da glicoproteína B do CMV) de amostras resistentes a fármacos vulgares do CMV, era constituída por um painel de 7 membros abrangendo o intervalo linear pretendido. Os testes foram efetuados com um lote de reagente do cobas® CMV; foram testadas 12 réplicas por nível em plasma EDTA.

O intervalo linear do cobas® CMV foi verificado para todas as amostras resistentes a fármacos vulgares do CMV testadas. Para ambas as amostras resistentes a fármacos testadas, a regressão linear foi o modelo que melhor se adequava.

Especificidade analítica

A especificidade analítica do **cobas®** CMV foi avaliada diluindo um painel de agentes patológicos (Tabela 8) com ADN positivo para o CMV e com plasma EDTA com ADN negativo para o CMV. Os agentes patológicos foram adicionados ao plasma EDTA negativo e testados com e sem ADN do CMV. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas®** CMV para todas as amostras de agentes patológicos sem alvo de CMV e foram obtidos resultados positivos em todas as amostras de agentes patológicos com alvo de CMV. Além disso, o título médio de $\log_{10}$ de cada uma das amostras positivas para o CMV contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava dentro de $\pm 0,10 \log_{10}$ do título médio de $\log_{10}$ do respetivo controlo positivo.

Tabela 8: Agentes patogénicos testados relativamente a reatividade cruzada

Vírus	Bactérias	Fungos
Vírus de Epstein-Barr (EBV)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Vírus da hepatite B (HBV)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Vírus da hepatite C (HCV)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Vírus da imunodeficiência humana, tipo 1 (HIV-1)	<i>Streptococcus pyogenes</i>	
Vírus da imunodeficiência humana, tipo 2 (HIV-2)	<i>Enterococcus faecalis</i>	
Vírus do herpes simples, tipo 1 (HSV-1)	<i>Escherichia coli</i>	
Vírus do herpes simples, tipo 2 (HSV-2)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Vírus do herpes humano, tipo 6 (HHV-6)	<i>Salmonella typhimurium</i>	
Vírus do herpes humano, tipo 7 (HHV-7)	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	
Vírus do herpes humano, tipo 8 (HHV-8)	<i>Chlamydia trachomatis</i>	
Adenovírus Tipo 5	<i>Listeria monocytogenes</i>	
Vírus JC	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Parvovírus B19	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Poliomavírus BK	<i>Mycobacterium avium</i>	
Vírus varicella zoster (VZV)	<i>Clostridium perfringens</i>	
Vírus do papiloma humano (HPV)		

Especificidade analítica – substâncias interferentes

Níveis elevados de triglicéridos (33,0 g/l), de bilirrubina conjugada (0,2 g/l), de bilirrubina não conjugada (0,2 g/l), de albumina (60,0 g/l), de hemoglobina (2,0 g/l) e de ADN humano (2 mg/l) nas amostras foram testados na presença e ausência de ADN do CMV. Foi demonstrado que as substâncias testadas não interferem com o desempenho do teste **cobas®** CMV. Além disso, foi testada a presença marcadores para as doenças autoimunes lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatoide (AR) e anticorpos antinucleares (ANA).

Além disso, os fármacos listados na Tabela 9 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. Foram obtidos resultados negativos com o **cobas®** CMV para todas as amostras sem alvo de CMV e foram obtidos resultados positivos em todas as amostras com alvo de CMV. Além disso, o título médio de $\log_{10}$ de cada uma das amostras positivas para o CMV contendo organismos com potencial de reatividade cruzada estava dentro de $\pm 0,36 \log_{10}$ do título médio de $\log_{10}$ do respetivo controlo positivo.

Tabela 9: Fármacos testados quanto a interferência com a quantificação de ADN do CMV pelo **cobas®** CMV

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

Falha global do sistema

Foi determinada a taxa de falha global do sistema do **cobas®** CMV, testando 100 réplicas de plasma EDTA adicionado com alvo de CMV. Estas amostras foram testadas a uma concentração alvo de aproximadamente 3 vezes o LLoQ (104 UI/ml).

Os resultados deste estudo determinaram que todas as réplicas eram válidas e positivas para o CMV, originando uma taxa de falha do sistema global de 0,0%. O intervalo exato de confiança bilateral de 95% foi de 0,0% para o limite inferior e 3,6% para o intervalo superior [0,0%: 3,6%].

Contaminação cruzada

A taxa de contaminação cruzada para o **cobas®** CMV foi determinada testando 230 réplicas de amostras de plasma EDTA negativo para o CMV e 233 réplicas de uma amostra de CMV de título elevado a $1,55E+07$ UI/ml. No total, foram executadas cinco corridas com amostras positivas e negativas numa configuração de "tabuleiro de xadrez".

As 230 réplicas de amostras negativas foram válidas e determinadas negativas, originando uma taxa de contaminação cruzada de 0,0%, com um intervalo de confiança unilateral a 95% de 1,3%.

Avaliação do desempenho clínico

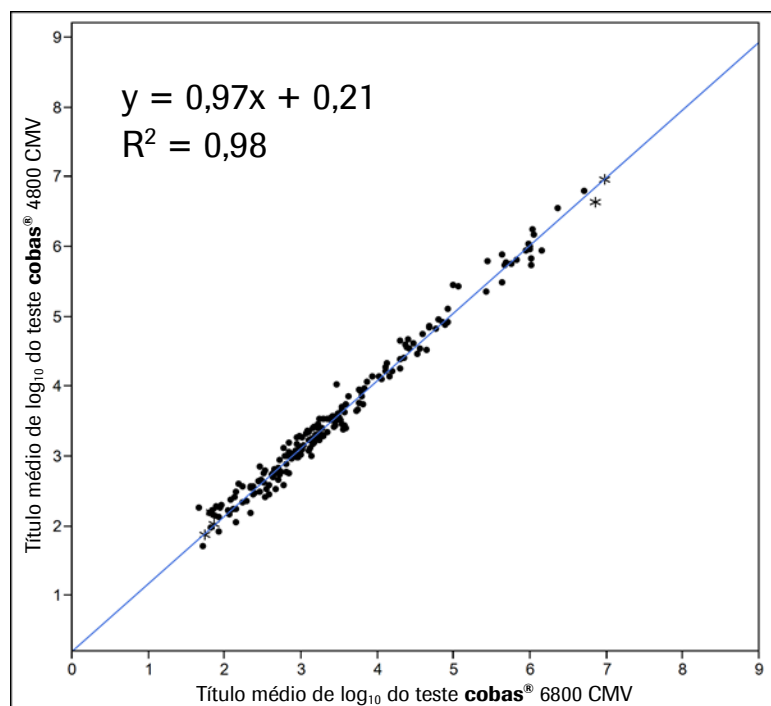
Correlação de métodos

Avaliação do desempenho do teste cobas® CMV para utilização no cobas® 4800 System em comparação com o teste cobas® CMV para utilização nos cobas® 6800/8800 Systems

O desempenho do teste cobas® CMV para utilização no cobas® 4800 System e desempenho do teste cobas® CMV para utilização nos cobas® 6800/8800 Systems foram comparados por análise de amostras de plasma EDTA de pacientes infectados com CMV. Um total de 197 amostras de plasma EDTA de todos os genótipos do CMV, analisadas em duplicado, foram validadas e estavam dentro do intervalo de quantificação de ambos os testes. Foi efetuada a análise de regressão de Deming. O desvio médio de título das amostras testadas com os dois testes foi de 0,11 log₁₀ (intervalo de confiança de 95%: 0,09; 0,13).

Os resultados da regressão de Deming estão indicados na Figura 4. O símbolo * nas figuras indica determinação individual.

Figura 4: Análise de regressão do cobas® CMV para utilização no cobas® 4800 *versus* o cobas® CMV para utilização nos cobas® 6800/8800



Especificidade

A especificidade do cobas® CMV foi determinada por análise de amostras de plasma EDTA negativo para o CMV de doadores individuais. Foram testadas 611 amostras individuais de plasma EDTA com três lotes de reagentes do cobas® CMV. 611 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%).

Informações adicionais

Características principais do teste

Tipo de amostra	Plasma EDTA
Volume de processamento de amostras	400 µl
Sensibilidade analítica	34,5 UI/ml
Intervalo linear	34,5 UI/ml a 1,0E+07 UI/ml
Especificidade	100%
Genótipos detetados	Genótipo 1-4 de glicoproteína B do CMV
Detetadas amostras do CMV resistentes a fármacos	Amostras de 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 10: 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 (Nota: o país/região aplicável poderá estar indicado por baixo do símbolo.)	 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.html

Fabricante e importador

Tabela 11: Fabricante e importador



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

Fabricado nos EUA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas comerciais e patentes

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

Direitos de autor

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, editors. *Principles and Practice of Clinical Virology*. 6th Edition. London: John Wiley and Sons; 2009. pp. 161-197.
2. Mocarski ES, Shenk T, Griffiths P, Pass RF. Cytomegalovirus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields' Virology*. 6th Edition. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2013. pp.1960-2014.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. *Human Cytomegalovirus*. Berlin Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2008. pp. 2976-314.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis*. 1983;5:205-15.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser*. 1989;44:507-34.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:204-10.
7. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. *J Infect Dis*. 2002;186:829-33.
8. 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;68:1305-11.
9. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102:900-31.
10. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, et al. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. *J Infect Dis*. 1997;176:1484-90.
11. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:703-27.
12. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol*. 2008;41:237-41.
13. Salmon-Ceron D, Mazon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. *AIDS*. 2000;14:1041-9.
14. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, et al. Quantitative effects of valgacyclovir 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.
15. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS*. 1997;11:889-93.
16. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-87.
17. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68.

18. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev*. 2002;2:155-67.
19. Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis*. 2012;54:1793-7.
20. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian Society of Transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant*. 2005;5:218-27.
21. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
22. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
23. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
26. Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Service, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Revised Dec 2009; Accessed 10 July 2023. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. M29-A4: Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; approved guideline-Fourth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. Accessed 10 July 2023. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf.
28. Fryer JF, Heath AB, Minor PD, Collaborative Study G. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification technology. *Biologicals*. 2016;44:242-51.

Revisão do documento

Informações de revisão do documento	
Doc Rev. 3.0 07/2023	Revisto para conformidade com os requisitos do IVDR. Secção de Avaliação do desempenho clínico adicionada. Símbolo “Rx Only” inserido na primeira página. Atualizada a página de símbolos harmonizados. Atualizados os endereços do fabricante. Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.
Doc Rev. 4.0 02/2024	Atualizadas as informações sobre perigos dos kits Lysis Kit 2. Marca cobas® atualizada. Se tiver quaisquer questões, por favor contacte o representante local da Roche.

O resumo de relatório de segurança e de desempenho pode ser encontrado utilizando o seguinte link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>