

Aptima® CMV Quant Assay

Instrucciones de uso
Para uso diagnóstico *in vitro*
Solo para exportación de EE. UU.

Información general	2
Uso indicado	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	2
Resumen de seguridad y rendimiento	3
Advertencias y precauciones	3
Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos	8
Recogida y almacenamiento de muestras	9
Muestras almacenadas en el Panther System	12
Transporte de muestras	12
Panther System	13
Reactivos y materiales suministrados	13
Material necesario que debe adquirirse por separado	15
Materiales opcionales	16
Procedimiento de la prueba del Panther System	16
Notas del procedimiento	24
Control de calidad	25
Calibración del ensayo	25
Controles negativo y positivo	25
Calibrador interno/Control interno	25
Interpretación de resultados	27
Limitaciones	29
Rendimiento analítico	30
Límite de detección utilizando la 1. ^a norma internacional de la OMS	30
Límite de detección de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos	31
Rango lineal	33
Linealidad en distintos genotipos de CMV	35
Límite inferior de cuantificación con la 1. ^a norma internacional de la OMS	37
Determinación del límite inferior de cuantificación de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos	39
Trazabilidad según la 1. ^a norma internacional de la OMS	42
Precisión	44
Sustancias potencialmente interferentes	45
Especificidad	46
Especificidad analítica	47
Dilución de muestras de plasma utilizando control negativo Aptima CMV (1:3)	48
Confirmación de LDD y LIDC utilizando la 1. ^a norma internacional de la OMS de CMV diluido en control negativo Aptima CMV	49
Correlación de métodos	50
Reproducibilidad	52
Rendimiento clínico	54
Concordancia clínica	54
Comparación de métodos	60
Diferencia media de muestras emparejadas	65
Sesgo en niveles seleccionados de carga viral	66
Diferencia total permitida (ATD)	67
Bibliografía	72
Información de contacto e historial de revisiones	73

Información general

Uso indicado

El Aptima® CMV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ADN del citomegalovirus humano en sangre entera y plasma humanos con EDTA en el Panther® System totalmente automatizado.

El ensayo Aptima CMV Quant está concebido para utilizarse como apoyo en el diagnóstico y el abordaje de pacientes trasplantados de órganos sólidos y de células madre hematopoyéticas.

El ensayo Aptima CMV Quant no está concebido para utilizarse como un ensayo de cribado para la presencia de CMV en la sangre o hemoderivados.

Resumen y explicación de la prueba

El citomegalovirus humano (CMV) es un virus de ADN bicatenario lineal de 240 kb que pertenece a la familia del herpes y está bastante extendido. Dependiendo de la población y la región geográfica estudiadas, la seroprevalencia del CMV oscila entre el 45 y el 100 % a nivel mundial.^{1,2} En portadores inmunocompetentes, la infección por CMV suele ser asintomática y autolimitada. No obstante, en sujetos inmunodeprimidos, como pacientes de trasplantes y personas afectadas por el virus de la inmunodeficiencia humana, el CMV es una causa significativa de morbilidad y mortalidad.

Al igual que ocurre con otros virus de la familia del herpes, tras la infección inicial, el CMV establece una infección latente de por vida que puede reactivarse esporádicamente. En receptores de trasplantes, la transferencia de CMV latente a través del injerto o la reactivación de la infección por CMV latente en el portador puede resultar en una replicación viral extensa y la difusión a varios órganos, que a menudo es potencialmente mortal.³

Debido a su rapidez y sensibilidad, la prueba cuantitativa de amplificación de ácidos nucleicos es el método de preferencia para la supervisión de la infección y la enfermedad por CMV en los receptores de trasplantes.⁴ Según las directrices más recientes, se recomienda controlar la carga viral del CMV al menos semanalmente a modo de guía para la toma de decisiones sobre el inicio de una terapia anti-CMV y para controlar la respuesta a la terapia.^{5,6,7,8} En general, los valores de carga viral más elevados se correlacionan con un mayor riesgo de enfermedad por CMV.^{4,9} Por lo tanto, la cuantificación del ADN del CMV, junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio, es crítica para el tratamiento de los pacientes con infección por CMV.

Principios del procedimiento

El Aptima CMV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* que utiliza la tecnología de amplificación mediada por transcripción en tiempo real (TMA) del Panther System* para cuantificar el ADN y los genotipos 1, 2, 3 y 4 del CMV. El diseño del primer se dirige al gen UL56 altamente conservado para garantizar una cuantificación precisa del ADN del CMV. El ensayo cumple con la 1.^a norma internacional de la OMS para el citomegalovirus humano (código NIBSC: 09/162).²¹

El Aptima CMV Quant Assay implica tres pasos principales, que tienen lugar en un único tubo en el Panther System: captura seleccionada, amplificación seleccionada por TMA y detección de los productos de amplificación (amplicón) a través de sondas marcadas con fluorescencia.

* Incluidas las variantes del Panther System.

Durante la captura seleccionada, el ADN viral se aísla de las muestras. La muestra se trata con un detergente para solubilizar la envoltura vírica, desnaturalizar las proteínas y liberar el ADN genómico viral. Los oligonucleótidos de captura hibridan con regiones altamente conservadas del ADN del CMV, si las hay, de la muestra analítica. A continuación, la diana hibridada se captura sobre micropartículas magnéticas que se separan de la muestra en un campo magnético. Los pasos de lavado eliminan los componentes extraños del tubo de reacción.

La amplificación de la diana se produce por TMA, que es un método de amplificación de ácidos nucleicos mediada por transcripción que utiliza dos enzimas: transcriptasa inversa de MMLV (virus de la leucemia murina de Moloney) y RNA polimerasa T7. La transcriptasa inversa se utiliza para generar una copia del ADN (que contiene una secuencia promotora para la RNA polimerasa T7) de la secuencia diana. La RNA polimerasa T7 genera varias copias del amplicón de RNA a partir del molde de copia de ADN.

La detección se lleva a cabo utilizando unas sondas fluorescentes de ácidos nucleicos monocatenarios que están presentes durante la amplificación de la diana e hibridan específicamente con el amplicón en tiempo real. Cada sonda fluorescente tiene un fluoróforo y un inhibidor de fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente no se hibrida con el amplicón, el inhibidor de fluorescencia está muy cerca del fluoróforo y suprime la fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente se une al amplicón, el inhibidor se aleja del fluoróforo, que emitirá una señal a una longitud de onda específica cuando es excitado por una fuente luminosa. Cuantas más sondas fluorescente hibridan con el amplicón, mayor es la señal fluorescente generada. El tiempo que tarda la señal fluorescente en llegar a un umbral especificado es proporcional a la concentración inicial de CMV. Cada reacción tiene un calibrador interno/control interno (IC) que controla las variaciones del procesamiento, la amplificación y la detección de las muestras. El software del Panther System determina la concentración de una muestra utilizando las señales de CMV e IC correspondientes a cada reacción y comparándolas con la información de calibración.

Los resultados del ensayo se convierten de copias/mL a IU/mL mediante el uso de una ecuación de factor de conversión integrada en el software del Panther. Esta misma ecuación de factor de conversión se utiliza para las muestras tanto de sangre total como de plasma. Cuando se selecciona el factor de conversión de sangre total en el sistema Panther, se aplica un factor de dilución de 4 a los resultados de carga viral de CMV para muestras de sangre total.

Resumen de seguridad y rendimiento

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar el SSP del ensayo Aptima CMV Quant, consulte el identificador único del producto básico (BUDI): **54200455DIAGAPTCMVAP**.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System) correspondiente antes de realizar este ensayo.

Información para los laboratorios

- D. PRECAUCIÓN: Los controles de este ensayo contienen plasma humano. El plasma es negativo para antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos anti-HCV, anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV-2, y antígeno de HIV cuando se analiza con procedimientos aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los

Estados Unidos. Además, el plasma no es reactivo para ADN de CMV, ADN de HBV, RNA de HCV y RNA de HIV-1 cuando se analiza con pruebas de ácidos nucleicos aprobadas utilizando muestras mezcladas. Todo el material proveniente de sangre humana debe considerarse potencialmente infeccioso y manipularse según las precauciones universales.^{10,11,12}

- E. Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del Aptima CMV Quant Assay y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún derrame, proceda inmediatamente a la desinfección siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- F. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- G. Respete las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin polvo, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- H. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).
- I. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa regional.^{10,11,12,13} Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.
- J. Los controles contienen azida sódica como conservante. No utilice tubos de metal para transferir reactivos. Si se desechan soluciones que contengan compuestos de azida sódica en un sistema de tuberías, dichas soluciones se deben diluir y eliminar enjuagando el desagüe con abundante agua corriente. Se recomienda seguir estas precauciones para evitar la acumulación de depósitos en tuberías de metal, donde pueden darse las condiciones necesarias para una explosión.
- K. Las buenas prácticas estándar para laboratorios moleculares incluyen la vigilancia medioambiental. Para vigilar el entorno de un laboratorio, se sugiere el procedimiento siguiente:
 - 1. Tome una torunda con punta de algodón y emparéjela con un tubo de alícuotas de muestras Aptima (SAT).
 - 2. Etiquete adecuadamente cada SAT.
 - 3. Llène cada SAT con 1 mL de diluyente de muestras Aptima.
 - 4. Para recoger muestras de superficie, humedezca ligeramente una torunda con agua desionizada libre de nucleasas.
 - 5. Ponga en contacto la torunda con la superficie de interés utilizando un movimiento vertical de arriba abajo. Gire la torunda una media vuelta mientras la mantiene en contacto con el lugar.
 - 6. Coloque inmediatamente la muestra de la torunda en el tubo y agite suavemente la torunda en el diluyente para extraer el material absorbido. Presione la torunda contra un lado del tubo de transporte para extraer tanto líquido como sea posible. Deseche la torunda y tape el tubo.
 - 7. Repita los pasos con las muestras de las torundas restantes.
 - 8. Analice la torunda con un ensayo molecular.

Información sobre las muestras

- L. Las muestras pueden ser infecciosas. Respete las precauciones universales^{10,11,12} al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos correctos de manipulación y eliminación de material según la normativa local.¹¹ Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del Aptima CMV Quant Assay y en la manipulación de material potencialmente infeccioso.



- M. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- N. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.

Información sobre el ensayo

- O. Ante un resultado no válido debido a un error ML2, no vuelva a analizar la muestra de plasma sin diluir. Consulte *Procedimiento de la prueba del Panther System*, el paso E.5, de este prospecto para obtener instrucciones de cómo diluir la muestra de plasma.
- Nota:** Ante un error ML2, consulte el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System correspondiente para acceder a las instrucciones sobre la limpieza con Mag Wash.*
- P. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.
- Q. No intercambie, mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lote maestro diferentes. Los fluidos del ensayo pueden ser de números de lote diferentes. Los controles y el calibrador pueden ser de números de lote diferentes.
- R. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- S. Tape y almacene todos los reactivos de ensayo a las temperaturas especificadas. El uso de reactivos de ensayo almacenados incorrectamente puede afectar al rendimiento del ensayo. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos y Procedimiento de la prueba del Panther System* para obtener más información.
- T. No combine ningún reactivo ni fluido de ensayo sin instrucciones específicas. No rellene los frascos de reactivos o de fluidos. El Panther System verifica los niveles de reactivo.
- U. Evite el contacto del TER con la piel, los ojos y las mucosas. Lave el área afectada con agua si se produce contacto con este reactivo. Si el reactivo se derrama, dilúyalo con agua antes de seguir los procedimientos adecuados del centro de trabajo.
- V. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: La comunicación de peligros refleja las clasificaciones de las fichas de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener la información sobre la comunicación de peligros específica de su región, consulte la SDS específica de la región en la Biblioteca de fichas de datos de seguridad en www.hologic.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en <http://www.hologic.com/package-inserts>

Información sobre peligros en la UE	
Amplification Reagent	
Cloruro de magnesio 65-70 %	
—	—
	H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.
	P273 - Evitar su liberación al medio ambiente.
	P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos

<p>—</p> <p>—</p>	<p>Enzyme Reagent <i>Triton X-100 1 - 5%</i> <i>HEPES al 1-5 %</i></p> <p>H402 - Nocivo para los organismos acuáticos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos</p>
<p>—</p> <p>—</p>	<p>Enzyme Reconstitution Solution <i>Glicerol 20 - 25 %</i> <i>Triton X-100 5 - 10 %</i> <i>HEPES al 1-5 %</i></p> <p>H402 - Nocivo para los organismos acuáticos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos</p>
<p>—</p> <p>—</p>	<p>Promoter Reagent <i>Cloruro de magnesio 55-60 %</i></p> <p>H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos</p>
<p>—</p> <p>—</p>	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15-20%</i> <i>Sal de litio de lauril sulfato 5-10 %</i> <i>Ácido succínico 1-5 %</i> <i>Hidróxido de litio monohidratado al 1-5 %</i></p> <p>H402 - Nocivo para los organismos acuáticos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos</p>
<p></p> <p></p>	<p>Target Enhancer Reagent (TER) <i>Hidróxido de litio monohidratado al 5-10 %</i></p> <p>PELIGRO H302 - Nocivo en caso de ingestión H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves P264 - Lavar a fondo cara, manos y todas las partes de la piel expuestas tras la manipulación P270 - No comer, beber ni fumar durante el uso del producto P301 + P312 - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar al CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o solicitar asistencia médica en caso de indisposición P330 - Enjuagar la boca. P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos P260 - No respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280 - Usar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P301 + P330 + P331: EN CASO DE INGESTIÓN: enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P303 + P361 + P353 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua [o ducharse]. P304 + P340 - EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P305 + P351 + P338 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Retirar las lentes de contacto si procede y resulta sencillo. Continuar enjuagando P310 - Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. P321 - Tratamiento específico (véanse las instrucciones complementarias de primeros auxilios en esta etiqueta). P363 - Lavar la ropa contaminada antes de volver a utilizarla. P405 - Almacenar bajo llave.</p>

**CMV Kit Controls***Suero humano/Plasma humano 95-100 %**Azida sódica <1 %*

—

H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos

P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos

P273 - Evitar su liberación al medio ambiente

Kit Calibrator*Sal de litio de lauril sulfato 0-10 %**Ácido succínico 0-10 %*

—

H402 - Nocivo para los organismos acuáticos

P273 - Evitar su liberación al medio ambiente

P501 - Desechar los contenidos/recipiente en una planta aprobada para la eliminación de residuos

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

- A. La tabla siguiente muestra las condiciones de almacenamiento y la estabilidad de los reactivos, los controles y el calibrador.

Reactivo	Almacenamiento sin abrir	Kit abierto (reconstituido)	
		Almacenamiento	Estabilidad
Reactivo de amplificación qCMV	2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de amplificación qCMV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días ^a
Reactivo enzimático qCMV	2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de enzimática qCMV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días ^a
Reactivo promotor qCMV	2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución del promotor qCMV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días ^a
Reactivo de captura qCMV	2 °C a 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días ^a
PCAL qCMV (calibrador positivo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Usar en 24 horas
qCMV NC CONTROL – (control negativo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Usar en 24 horas
qCMV LPC CONTROL + (control positivo bajo)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Usar en 24 horas
qCMV HPC CONTROL + (control positivo alto)	-15 °C a -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Usar en 24 horas
Reactivo potenciador de diana qCMV	15 °C a 30 °C	15 °C a 30 °C	30 días ^a

^a Al retirarlos del Panther System, los reactivos se deben volver a guardar inmediatamente a sus temperaturas de almacenamiento adecuadas.

- B. Deseche todos los reactivos reconstituidos, el reactivo de captura (TCR) y el reactivo potenciador de diana (TER) no utilizados después de 30 días o de la fecha de caducidad del lote maestro, lo que ocurra primero.
- C. Los reactivos almacenados en el Panther System tienen 96 horas de estabilidad en el instrumento. Los reactivos pueden cargarse en el Panther System hasta 8 veces. El Panther System registra cada vez que se cargan los reactivos.
- D. Tras descongelar el calibrador, la solución debe ser transparente, es decir, no debe presentar turbidez ni precipitados. Asegúrese de que los precipitados se hayan disueltos. No utilice el calibrador si hay presencia de gel, precipitado o turbidez.
- E. Tanto el reactivo promotor liofilizado como el reactivo promotor reconstituido son fotosensibles. Proteja estos reactivos de la luz durante el almacenamiento y la preparación para el uso.
- F. El reactivo potenciador de diana qCMV debe estar a una temperatura de 15 °C a 30 °C antes del uso.

Recogida y almacenamiento de muestras

Nota: Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete las precauciones universales.

Nota: Tenga cuidado para evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.

Nota: Para el almacenamiento de muestras, solo se recomiendan tubos secundarios de plástico.

Las muestras de sangre total recogidas en los siguientes tubos de cristal o plástico se pueden utilizar para la preparación de plasma:

- Tubos con anticoagulantes con EDTA
- Tubos de preparación de plasma (PPT)

A. Recogida de muestras

1. Plasma: La sangre total se puede almacenar entre 2 °C y 30 °C, y se debe centrifugar en las 24 horas posteriores a la recogida de la muestra. Separe el plasma del sedimento de eritrocitos siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo utilizado. El plasma se puede analizar en el Panther System en un tubo primario o transferirse a un tubo secundario como el tubo de alícuotas de muestras (SAT) Aptima. Para obtener el volumen de muestra de 500 µL, el volumen mínimo de plasma para el tubo de recogida primario es de hasta 1200 µL. Para los tubos secundarios, el volumen mínimo es 700 µL para obtener el volumen de muestra de 500 µL. En la siguiente tabla, se muestran los requisitos de volumen muerto para cada tipo de tubo primario y secundario.

Tubo (tamaño y tipo)	Volumen muerto en Panther
Tubo de alícuotas de muestras (SAT) Aptima	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm con gel	0,3 mL
16 x 100 mm con gel	0,7 mL

Si no se analiza inmediatamente, el plasma se puede almacenar según con las especificaciones que se indican más adelante. Si se transfiere a un tubo secundario, el plasma se puede congelar a -20 °C o -70 °C. No lleve a cabo más de tres ciclos de congelación-descongelación. No congele las muestras de plasma en tubos de recogida primarios con EDTA.

2. Antes de su análisis en el Panther System, la sangre total se debe procesar mediante el uso de tubos de diluyente de sangre total prellenados. No someta las muestras de sangre total sin procesar a más de tres ciclos de congelación-descongelación.

B. Condiciones de almacenamiento de las muestras

1. Muestra de plasma EDTA

La sangre total se puede almacenar entre 2 °C y 30 °C, y se debe centrifugar en las 24 horas posteriores a la recogida de la muestra. Posteriormente, el plasma se puede almacenar en una de las condiciones siguientes:

- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas.
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días.
- En el tubo secundario a -20 °C o -70 °C durante un máximo de 60 días.

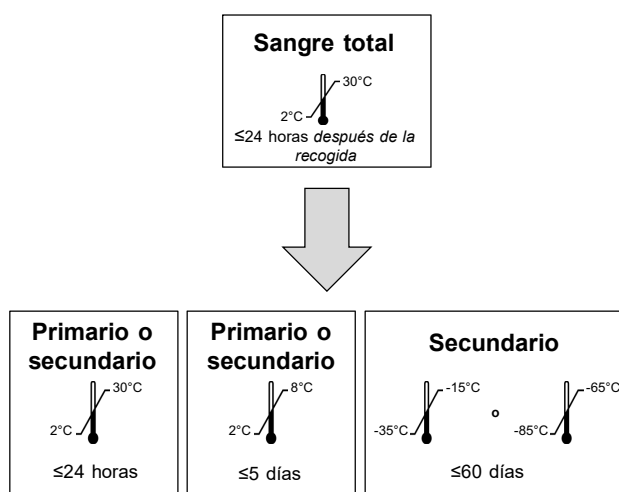


Figura 1. Condiciones de almacenamiento de los tubos con EDTA

2. Muestras de PPT

La sangre total se puede almacenar entre 2 °C y 30 °C, y se debe centrifugar en las 24 horas posteriores a la recogida de la muestra. Posteriormente, el plasma se puede almacenar en una de las condiciones siguientes:

- En el PPT, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas.
- En el PPT, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días.
- En el PPT a -20 °C o -70 °C durante un máximo de 60 días.

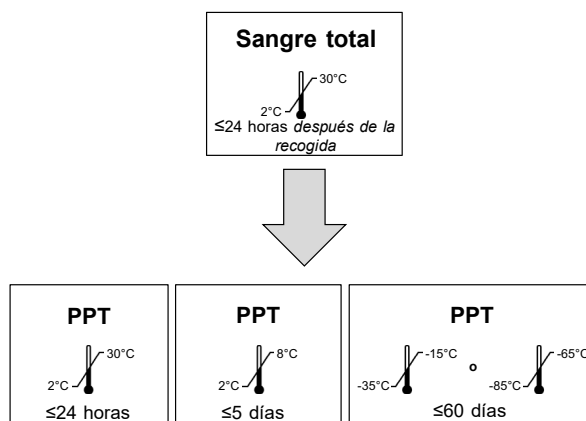


Figura 2. Condiciones de almacenamiento de los PPT

3. Dilución de muestras de plasma

Las muestras de plasma pueden diluirse en un SAT o en un tubo secundario para su análisis en el sistema Panther. Consulte el Procedimiento de realización de pruebas en el Panther System, paso E.5 descrito a continuación, para obtener más información.

Nota: Las muestras que se diluyan deberán analizarse inmediatamente después de su dilución. No congele las muestras diluidas.

4. Muestras de sangre total

La sangre total se puede almacenar entre 15 °C y 30 °C durante un máximo de 36 horas después de la recogida de la muestra. Las muestras de sangre total recogidas se pueden almacenar bajo una de las condiciones siguientes:

- En el tubo de recogida primario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días.
- En el tubo de recogida primario a -20 °C o -70 °C durante un máximo de 60 días.

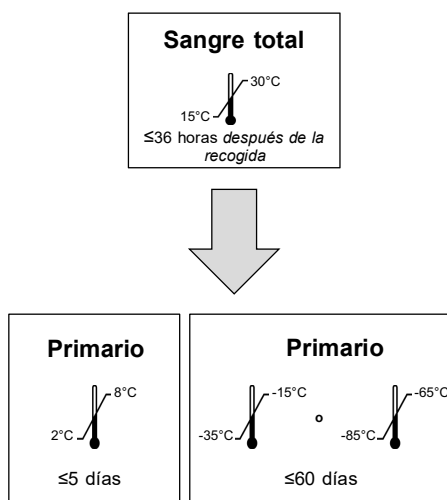


Figura 3. Condiciones de almacenamiento de las muestras de sangre total

Muestras almacenadas en el Panther System

Las muestras de plasma y de sangre total procesadas se pueden dejar sin tapar en el Panther System durante un máximo de 8 horas. Las muestras pueden retirarse del Panther System y analizarse siempre que el tiempo total transcurrido en el instrumento no supere las 8 horas antes de que el Panther System pipetee la muestra.

Transporte de muestras

Mantenga las condiciones de almacenamiento de las muestras como se describe en *Recogida y almacenamiento de muestras*.

Nota: Las muestras se deben enviar respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.

Panther System

Los reactivos del Aptima CMV Quant Assay para uso con el Panther System se indican a continuación. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Kit del Aptima CMV Quant Assay, 100 pruebas (n.º de ref. PRD-05074)
(1 caja de ensayo, 1 caja de reactivo potenciador de diana, 1 kit de calibrador y 1 kit de controles)

Caja del Aptima CMV Quant Assay
(almacenar entre 2 °C y 8 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	Reactivo de amplificación qCMV <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático qCMV <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES.</i>	1 vial
PRO	Reactivo promotor qCMV <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
AR	Solución de reconstitución de amplificación qCMV <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 × 7,2 mL
ER	Solución de reconstitución de enzimática qCMV <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 × 5,8 mL
PROR	Solución de reconstitución del promotor qCMV <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 × 4,5 mL
TCR	Reactivo de captura qCMV <i>Ácidos nucleicos en una solución salina de tampón con fase sólida, ácidos nucleicos no infecciosos y calibrador interno.</i>	1 × 72,0 mL
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras del lote maestro	1 hoja

Caja del reactivo potenciador de diana Aptima CMV Quant
(almacenar entre 15 °C y 30 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad
TER	Reactivo potenciador de diana qCMV <i>Solución concentrada de hidróxido de litio.</i>	1 × 46,0 mL

Kit de calibrador del Aptima CMV Quant (n.º de ref. PRD-05075)
(almacenar entre -15 °C y -35 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	Calibrador positivo qCMV <i>ADN plasmídico en solución de tampón.</i>	5 × 2,5 mL
	Etiqueta de código de barras del calibrador	—

Kit de controles del Aptima CMV Quant (n.º de ref. PRD-05076)
(almacenar entre -15 °C y -35 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad
NC	Control negativo qCMV <i>Plasma humano desfibrinado negativo para CMV con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 × 0,8 mL
LPC	Control positivo bajo qCMV <i>CMV inactivado en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 × 0,8 mL
HPC	Control positivo alto qCMV <i>CMV inactivado en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 × 0,8 mL
	Etiqueta de código de barras de los controles	—

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

Material	N.º de referencia
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, desechos y fluidos continuos (Panther Plus)	PRD-06067
Kit sistema Panther para ensayos en tiempo real (solo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5000 pruebas)
<i>Kit de fluidos del ensayo Aptima® (también denominado kit de fluidos universales)</i>	303014 (1000 pruebas)
<i>Contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	
<i>Unidades multitubo (MTU)</i>	104772-02
<i>Juego de bolsas de desechos Panther</i>	902731
<i>Tapa del recipiente de desechos Panther</i>	504405
O kit Panther System	303096 (5000 pruebas)
<i>(Cuando se procesan ensayos TMA que no son en tiempo real junto con ensayos TMA en tiempo real) Contiene MTU, bolsas de desechos, tapas del recipiente de desechos, Auto Detect y fluidos del ensayo</i>	
Tubos de diluyente de sangre total (solo para el procesamiento de sangre total)	PRD-06783 (100 tubos prellenados por bolsa)
Puntas, 1000 µL filtradas, conductoras, detectoras de líquido y desechables	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
<i>No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica sobre su región.</i>	
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 8.25 % (0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables sin polvo	—
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones sólidos Hologic de repuesto (tapón de tubo de un solo uso para el procesamiento de sangre)	PRD-06720
Tapones de repuesto para reactivos	
<i>Frascos de reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor</i>	CL0041 (100 tapones)
<i>Frasco de TCR</i>	CL0040 (100 tapones)
<i>Frasco de TER</i>	903302 (100 tapones)
Cubiertas con forro de plástico para mesas de laboratorio	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—

Material	N.º de referencia
Opciones para el tubo de recogida primario (EDTA y PPT):	—
13 mm × 100 mm	
13 mm × 75 mm	
16 mm × 100 mm	
Centrifugadora	—
Mezclador vórtex	—

Materiales opcionales

Material	N.º de referencia
Opciones para el tubo secundario:	
12 mm × 75 mm	—
13 mm × 100 mm	—
16 mm × 100 mm	—
<i>Tubos de alícuotas de muestras Aptima (SAT) (paquete de 100)</i>	FAB-18184
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100)	504415
<i>Tapón para SAT</i>	
Diluyente de muestras Aptima	PRD-03003
Kit de diluyente de muestras Aptima	PRD-03478
<i>Contiene diluyente de muestras Aptima, 100 SAT y 100 taponos</i>	
Pipetas de transferencia	—
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	—

Procedimiento de la prueba del Panther System

Nota: Consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System para obtener más información sobre los procedimientos.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.
2. Limpie una superficie de trabajo aparte para preparar las muestras. Utilice el procedimiento descrito anteriormente (paso A.1).
3. Limpie los pipeteadores que vaya a utilizar. Utilice el procedimiento de limpieza descrito anteriormente (paso A.1).

B. Preparación del calibrador y de los controles

Deje que el calibrador y los controles alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlos de la manera siguiente:

1. Retire el calibrador y los controles del almacenamiento (entre -15 °C y -35 °C) y colóquelos a una temperatura de entre 15 °C y 30 °C. Durante el proceso de descongelación, invierta ligeramente cada tubo para mezclar completamente su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos esté completamente descongelado antes del uso.

Opción. Los tubos del calibrador y de los controles pueden ponerse en un balancín para tubos para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos esté completamente descongelado antes del uso.

Nota: Evite que se forme *demasiada* espuma al invertir el calibrador y los controles. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

2. Cuando el contenido de los tubos se haya descongelado, seque la parte exterior del tubo con un paño desechable limpio y seco.
3. Para evitar la contaminación, no abra los tubos.

C. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de iniciar cualquier tarea en el Panther System.

1. Para preparar el reactivo de captura (TCR), haga lo siguiente:
 - a. Retire el TCR del almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Asegúrese de que el número de lote del frasco de TCR coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Agite de inmediato y enérgicamente el frasco de TCR 10 veces. Deje que el frasco de TCR permanezca entre 15 °C y 30 °C durante un mínimo de 45 minutos para que se caliente. Durante este periodo, agite e invierta el frasco de TCR al menos cada 10 minutos.

Opción. El frasco de TCR puede prepararse en un balancín para tubos siguiendo estas instrucciones: Retire el TCR del almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C) y agítelo de inmediato y enérgicamente 10 veces. Ponga el frasco de TCR en un balancín para tubos y déjelo entre 15 °C y 30 °C durante un mínimo de 45 minutos para que se caliente.

- c. Asegúrese de que todo el precipitado se haya disuelto y de que las partículas magnéticas estén suspendidas antes del uso.
2. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y promotor, haga lo siguiente:
 - a. Retire los reactivos liofilizados y las soluciones de reconstitución correspondientes del almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado.
 - b. Asegúrese de que las etiquetas de los frascos de la solución de reconstitución y del reactivo liofilizado sean del mismo color. Compruebe los números de lote en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que se han emparejado los reactivos adecuados.
 - i. Abra el vial de reactivo liofilizado retirando el precinto metálico y el tapón de goma.
 - ii. Inserte firmemente el extremo ranurado del collar de reconstitución (negro) en el vial (Figura 4, paso 1).
 - iii. Abra el frasco de solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.

- iv. Ponga el frasco de solución de reconstitución sobre una superficie estable (p. ej., una mesa de trabajo). A continuación, invierta el vial de reactivo liofilizado sobre el frasco de solución de reconstitución y acople firmemente el collar al frasco de solución de reconstitución (Figura 4, paso 2).
 - v. Invierta lentamente los frascos acoplados (el vial acoplado al frasco de solución) para permitir que la solución pase al vial de cristal (Figura 4, paso 3).
 - vi. Agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos (Figura 4, paso 4).
 - vii. Espere al menos 30 minutos para que el reactivo liofilizado entre en la solución.
 - viii. Una vez que el reactivo liofilizado haya entrado en la solución, agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos y, a continuación, balancee ligeramente la solución en el interior del vial de cristal hacia delante y hacia atrás para mezclarla bien.
- c. Incline lentamente de nuevo los frascos acoplados para hacer que toda la solución vuelva al frasco de solución de reconstitución (Figura 4, paso 5).
 - d. Retire con cuidado el collar de reconstitución y el vial de cristal (Figura 4, paso 6).
 - e. Vuelva a tapar el frasco. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 4, paso 7).
 - f. Deseche el collar de reconstitución y el vial de cristal (Figura 4, paso 8).

Advertencia: Evite que se forme demasiada espuma al reconstituir los reactivos. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

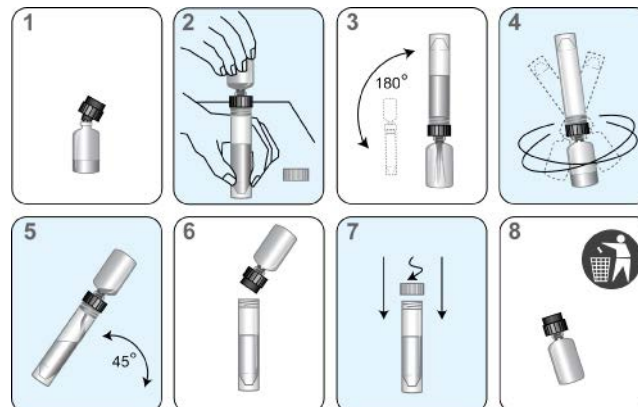


Figura 4. Proceso de reconstitución de los reactivos

3. Retire el reactivo potenciador de diana qCMV del almacenamiento (entre 15 °C y 30 °C). Anote las iniciales del usuario y la fecha de apertura en la etiqueta. Asegúrese de que el número de lote del frasco de TER coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
- D. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos
1. Retire los reactivos previamente preparados del almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Los reactivos de amplificación, enzimático, promotor y TCR previamente preparados deben alcanzar una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes del inicio del ensayo.
 2. Retire el TER del almacenamiento (entre 15 °C y 30 °C).
 3. En el caso del TCR previamente preparado, lleve a cabo el paso C.1 descrito anteriormente antes de cargarlo en el sistema.

4. Agite e invierta los reactivos de amplificación, enzimático y promotor para mezclarlos bien antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme demasiada espuma al invertir los reactivos.

Opción. Los reactivos previamente preparados se pueden preparar en un balancín para tubos siguiendo estas instrucciones: Retire los reactivos del almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Ponga los reactivos en un balancín para tubos y déjelos entre 15 °C y 30 °C durante un mínimo de 30 minutos para que se calienten.

5. No rellene los frascos de reactivo. El Panther System reconocerá y rechazará los frascos que se hayan rellenado.

E. Manipulación de muestras de plasma

1. Asegúrese de que las muestras procesadas en los tubos primarios o las muestras sin diluir en los tubos secundarios se almacenen correctamente de acuerdo con lo descrito en *Recogida y almacenamiento de muestras*
2. Asegúrese de descongelar por completo las muestras congeladas. Agite las muestras descongeladas con un mezclador vórtex de 3 a 5 segundos para mezclarlas bien.
3. Deje que las muestras alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlas. Consulte *Muestras almacenadas en el Panther System* para obtener más información sobre la permanencia en el instrumento.
4. Asegúrese de que cada tubo de recogida contenga hasta 1200 µl de muestra o de que cada tubo secundario contenga al menos 700 µl de muestra. Consulte la tabla que se proporciona en *Recogida de muestras* para identificar los requisitos de volumen muerto para cada tipo de tubo primario y secundario. Si se precisara la dilución de la muestra de plasma, en casos de bajo volumen de muestra o en aquellos que requieran la repetición de la prueba, consulte el paso E.5 a continuación, para obtener más información.
5. Dilución de muestras de plasma

Una muestra de plasma puede diluirse en proporción 1:3 en un SAT o tubo secundario para su análisis en el sistema Panther.

a. Descongelación del control negativo Aptima CMV

- i. Extraiga un tubo de control negativo almacenado (entre -15 °C y -35 °C) y póngalo entre 15 °C y 30 °C. Durante el proceso de descongelación, invierta suavemente cada tubo para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido del tubo se descongele por completo antes de utilizarlo.

Opción: El tubo de control puede ponerse en un balancín para tubos con el objetivo de mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido del tubo se descongele por completo antes de utilizarlo.

- ii. Cuando el contenido del tubo se haya descongelado, seque la parte exterior del tubo con un paño desechable limpio y seco.
- iii. Para evitar la contaminación, no abra el tubo por el momento.

b. Dilución de muestras de plasma

Note: Las muestras que se diluyan deberán analizarse inmediatamente tras preparar la dilución.

- i. Vierta 240 µL de muestra en un SAT.
- ii. Añada 480 uL de control negativo.
- iii. Tape el tubo.

- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

Las muestras diluidas 1:3 pueden analizarse utilizando la opción 1:3 del sistema Panther (consulte *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion* para obtener más información). El software indicará automáticamente el resultado correspondiente a una muestra sin diluir aplicando el factor de dilución. Estas muestras se marcarán como muestras diluidas.

6. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla, centrifugue cada muestra entre 1000 y 3000g durante 10 minutos. No retire los tapones en este paso.

Consulte el paso G.2 a continuación para obtener información sobre la carga de la gradilla y la retirada de los tapones.

F. Manipulación de muestras de sangre total

1. Asegúrese de que las muestras sin procesar en los tubos primarios se almacenen correctamente de acuerdo con lo descrito en *Recogida y almacenamiento de muestras*.
2. Asegúrese de descongelar por completo las muestras congeladas. Deje que las muestras alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlas. Consulte *Muestras almacenadas en el Panther System* para obtener más información sobre la permanencia en el instrumento.
3. Invierta ligeramente los tubos de sangre total al menos 3 veces, o mézclelos ligeramente en un balancín, hasta que la sangre sea homogénea.
4. Antes de procesar las muestras, realice el siguiente procedimiento para cada muestra.
 - a. La sangre en tubos primarios se debe mezclar completamente por inversión y la muestra se debe transferir de inmediato al tubo que contiene el diluyente de sangre total.
 - b. Agregue 500 µL de muestras de sangre total al tubo de diluyente de sangre total.
 - c. Coloque el tapón y agite la muestra con un mezclador vórtex durante al menos 5 segundos.

Consulte el paso G.2 a continuación para obtener información sobre la carga de la gradilla y la retirada de los tapones.

G. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System* y las *Notas del procedimiento*. Asegúrese de que se utilizan las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.
2. Cargue las muestras en la gradilla de muestras. Lleve a cabo los pasos siguientes para cada tubo de muestras (muestra y, cuando sea necesario, calibrador y controles).
 - a. Afloje el tapón del tubo de muestras, pero no lo retire aún.

Nota: *Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles. Afloje ligeramente los tapones de los tubos de muestras.*

- b. Cargue el tubo de muestras en la gradilla de muestras.
- c. Repita los pasos 2.a y 2.b para todas las muestras restantes.
- d. Una vez cargadas las muestras en la gradilla de muestras, retire y deseche los tapones de todos los tubos de muestras de una gradilla de muestras. Para evitar la contaminación, no pase ningún tapón sobre otras gradillas de muestras o tubos de muestras.

- e. Si es necesario, utilice una pipeta de transferencia desechable nueva para eliminar las burbujas y la espuma. La presencia de burbujas en el tubo afecta a la detección del nivel por parte del Panther System.
- f. Cuando haya retirado el último tapón, cargue la gradilla de muestras en el compartimento de muestras.

Nota: Antes de cargar la gradilla de muestras en el compartimento de muestras, fije el retenedor muestras si está procesando otros ensayos y tipos de muestras al mismo tiempo.

- g. Repita los pasos del 2.a al 2.f con la siguiente gradilla de muestras.

H. Preparación del sistema: aplicación del factor de conversión de muestras de sangre total

1. Prepare el sistema de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.
2. Cargue la gradilla de muestras.
3. Aplique el factor de conversión de sangre total a los pedidos de pruebas del ensayo para muestras de sangre total.

Nota: El factor de conversión de sangre total se puede aplicar a una gradilla completa o a una única prueba.

Para aplicar el factor de conversión de sangre total a toda una gradilla de muestras de sangre total, haga lo siguiente:

- a. En la pantalla *Sample Rack Bay* (Compartimento de gradillas de muestras), haga doble clic en la gradilla de interés. Se abrirá la pantalla *Sample Rack Loading* (Carga de gradillas de muestras) para la gradilla seleccionada.
- b. Seleccione **Dilute All (Diluir todo)**.

Se muestra la ventana Dilution Factor (Factor de dilución).

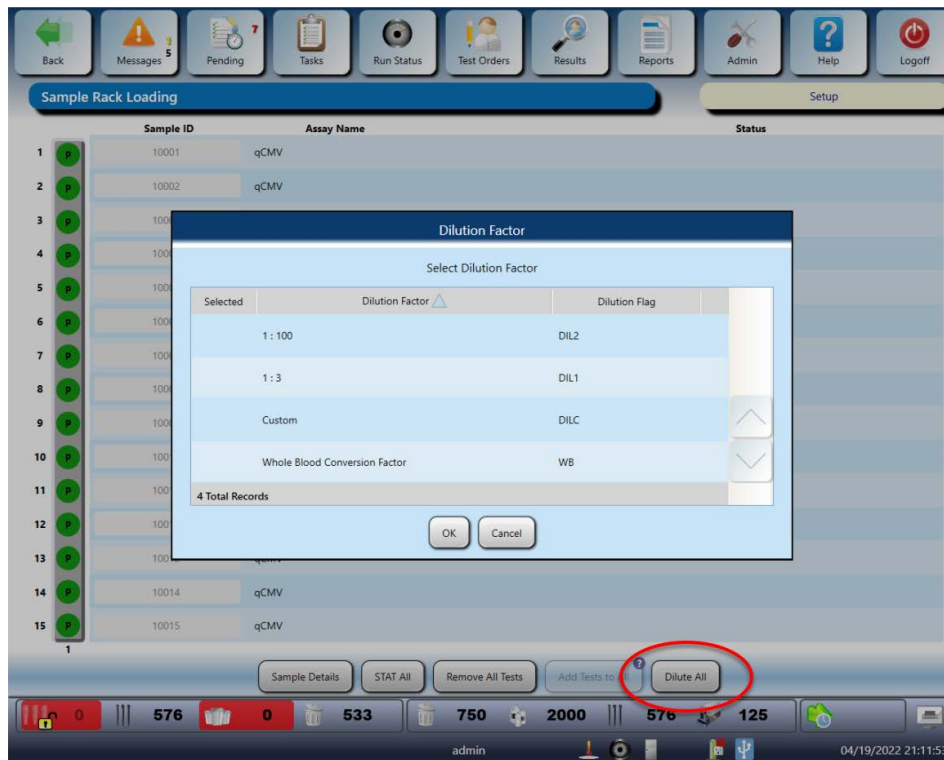


Figura 5. Ventana Dilution Factor (Factor de dilución) de la pantalla Sample Rack Loading (Carga de gradillas de muestras) (Ejemplo)

- c. Seleccione **Whole Blood Conversion Factor (Factor de conversión de sangre total)**.
 - d. Seleccione **OK (Aceptar)**.
- Se muestra la ventana *Set Dilution Factor for Rack* (Establecer factor de dilución para la gradilla).

- e. Seleccione **Yes (Sí)** para aplicar la marca de factor de conversión de sangre total a toda la gradilla de muestras de sangre total.

Para aplicar el factor de conversión de sangre total a una única prueba (consulte la ilustración a continuación), haga lo siguiente:

- a. En la pantalla *Sample Rack Bay* (Compartimento de gradillas de muestras), haga doble clic en la gradilla cargada que incluye la muestra o las muestras de interés. Se muestra la pantalla *Sample Rack Loading* (Carga de gradillas de muestras) para la gradilla de muestras seleccionada.
- b. En la pantalla *Sample Rack Loading* (Carga de gradillas de muestras), haga doble clic en la muestra de interés. Se muestra la pantalla *Sample Details* (Detalles de la muestra) con los pedidos de pruebas actuales para la muestra seleccionada.
- c. Seleccione el pedido de pruebas de interés en el panel *Test Orders* (Pedidos de pruebas).
- d. Seleccione **Apply Dilution (Aplicar dilución)**.

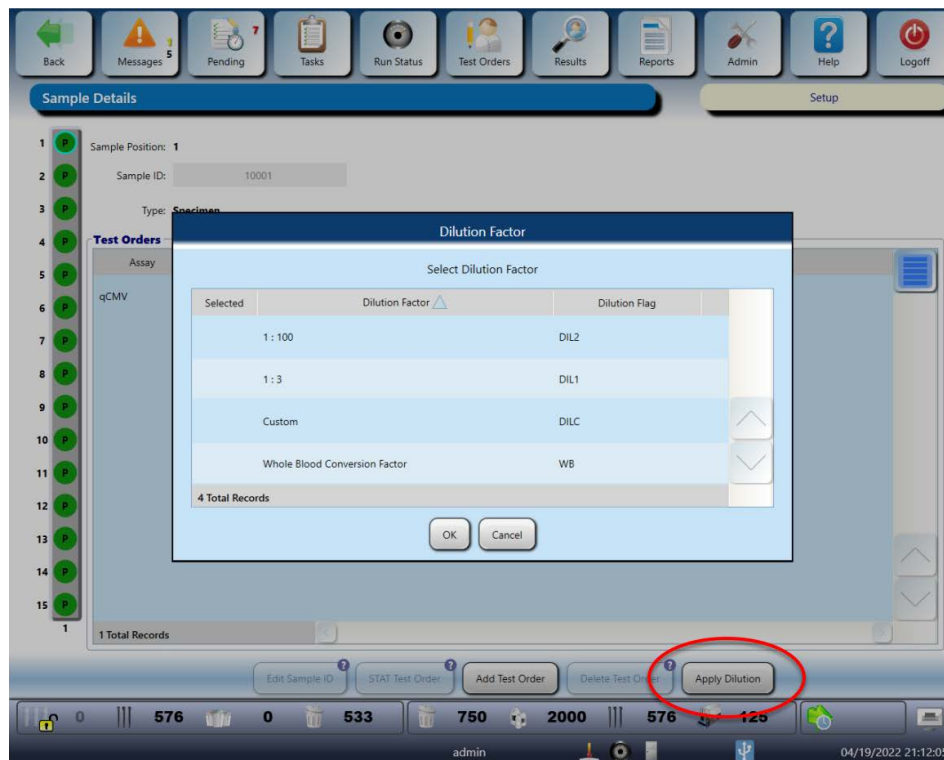


Figura 6. Ventana Dilution Factor (Factor de dilución) de la pantalla Sample Details (Detalles de la muestra) (Ejemplo)

- e. Seleccione **Whole Blood Conversion Factor (Factor de conversión de sangre total)**.
 - f. Seleccione **OK (Aceptar)** para aplicar la marca de factor de conversión de sangre total a los pedidos de pruebas seleccionados.
4. Si es necesario, el factor de sangre total se puede eliminar de los pedidos de pruebas antes de que se inicie su procesamiento.

Para eliminar el factor de conversión de sangre total de toda una gradilla, haga lo siguiente:

1. En la pantalla *Sample Rack Bay* (Compartimento de gradillas de muestras), haga doble clic en la gradilla de interés.
Se abrirá la pantalla *Sample Rack Loading* (Carga de gradillas de muestras) para la gradilla seleccionada.
2. Seleccione **Dilute All (Diluir todo)**.
3. En la ventana *Dilution Factor* (Factor de dilución), anule la selección de **Whole Blood Conversion Factor (Factor de conversión de sangre total)**.
4. Seleccione **OK (Aceptar)**.
Se muestra la ventana *Set Dilution Factor for Rack* (Establecer factor de dilución para la gradilla).
5. Seleccione **Yes (Sí)** para eliminar el factor de conversión de sangre total de toda una gradilla.

Para eliminar el factor de conversión de sangre total de una prueba, haga lo siguiente:

1. En la pantalla *Sample Rack Bay* (Compartimento de gradillas de muestras), haga doble clic en la gradilla cargada que incluye la muestra o las muestras de interés.
Se muestra la pantalla *Sample Rack Loading* (Carga de gradillas de muestras) para la gradilla de muestras seleccionada.
2. En la pantalla *Sample Rack Loading* (Carga de gradillas de muestras), haga doble clic en la muestra de interés.
Se muestra la pantalla *Sample Details* (Detalles de la muestra) con los pedidos de pruebas actuales para la muestra seleccionada.
3. Seleccione el pedido de pruebas de interés en el panel *Test Orders* (Pedidos de pruebas).
4. Seleccione **Apply Dilution (Aplicar dilución)**.
5. En la ventana *Dilution Factor* (Factor de dilución), anule la selección de **Whole Blood Conversion Factor (Factor de conversión de sangre total)**.
6. Seleccione **OK (Aceptar)** para eliminar el factor de conversión de sangre total del pedido de pruebas.

Notas del procedimiento

A. Calibrador y controles

1. Los tubos del calibrador positivo qCMV, del control positivo bajo qCMV, del control positivo alto qCMV y del control negativo qCMV se pueden cargar en cualquier posición de la gradilla de muestras y en cualquier carril del compartimento de muestras del Panther System. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
 - a. El sistema está procesando actualmente el calibrador y los controles.
 - b. Existen resultados válidos para el calibrador y los controles registrados en el sistema.
2. Una vez que los tubos del calibrador y los controles se hayan pipeteado y se estén procesando para el kit de reactivos del Aptima CMV Quant Assay, las muestras podrán analizarse con el kit reconstituido asociado durante un periodo máximo de 24 horas **a menos que**:
 - a. Los resultados del calibrador o los controles no sean válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos de ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado haya superado los límites de estabilidad.
3. El calibrador y cada tubo de control se puede utilizar una vez. Los intentos de usar el tubo más de una vez pueden dar lugar a errores de procesamiento.

B. Polvo de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de polvo en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin polvo.

Control de calidad

Los usuarios pueden invalidar resultados de ciclos o muestras si observan y documentan dificultades técnicas o relacionadas con el usuario o el instrumento durante la realización del ensayo. En este caso, es necesario volver a analizar las muestras.

Las muestras con resultados no válidos deben volver a analizarse para obtener un resultado válido.

Ante un resultado no válido debido a un error ML2, no vuelva a analizar la muestra de plasma sin diluir. Consulte *Procedimiento de la prueba del Panther System*, el paso E.5, en este prospecto para obtener instrucciones de dilución de la muestra.

Nota: Ante un error ML2, consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System correspondiente para acceder a instrucciones sobre la limpieza por Mag Wash.

Calibración del ensayo

Para generar resultados válidos, el ensayo debe calibrarse. Se procesa por triplicado un único calibrador positivo cada vez que se carga un kit de reactivos en el Panther System. Una vez establecida, la calibración será válida durante un máximo de 24 horas. El software del Panther System avisa al usuario cuando hay que realizar una calibración. El usuario escanea un coeficiente de calibración en la hoja de códigos de barras del lote maestro incluida en cada kit de reactivos.

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de validación del calibrador. Si son válidas menos de dos de las réplicas del calibrador, el software invalida automáticamente el ciclo. Las muestras de un ciclo invalidado se deben volver a analizar utilizando un calibrador recién preparado y controles recién preparados.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, debe analizarse un conjunto de controles del ensayo. Se deben analizar una réplica del control negativo, una del control positivo bajo y una del control positivo alto cada vez que se carga un kit de reactivos en el Panther System. Una vez establecidos, los controles serán válidos durante un máximo de 24 horas. El software del Panther System avisa al usuario cuando se requieren controles.

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de validación de los controles. Para generar resultados válidos, el control negativo debe dar un resultado de «No detectado» y los resultados de los controles positivos deben estar dentro de unos parámetros predefinidos. Si cualquiera de los controles tiene un resultado no válido, el software invalida automáticamente el ciclo. Las muestras de un ciclo invalidado se deben volver a analizar utilizando un calibrador recién preparado y controles recién preparados.

Calibrador interno/Control interno

Cada muestra contiene un calibrador interno/control interno (IC). Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de validación del IC. Si el resultado del IC no es válido, el resultado de la muestra se invalida. Todas las muestras con un resultado de IC no válido se deben volver a analizar para obtener un resultado válido.

El software del Panther System se ha diseñado para verificar los procesos de forma precisa cuando los procedimientos se llevan a cabo de acuerdo con las instrucciones descritas en este prospecto y en el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretación de resultados

El Panther System determina automáticamente la concentración de ADN de CMV en muestras y controles comparando los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de ADN de CMV se notifican en IU/ml y \log_{10} IU/ml. La interpretación de los resultados se indica en la Tabla 1 y la Tabla 2. Si se utiliza la opción de dilución de plasma o sangre entera en el sistema Panther, el software calcula automáticamente la concentración de ADN de CMV correspondiente a la muestra sin diluir, multiplicando la concentración diluida por el factor de dilución. Los resultados de la muestra se marcarán debidamente.

Nota: En el caso de las muestras de plasma diluidas, los resultados indicados como “No detectado” o “Detectado <53” se pueden generar diluyendo una muestra con una concentración superior, pero cercana, al LDD (límite de detección) o LIDC (límite inferior de cuantificación). Si no se obtiene un resultado cuantitativo, se recomienda recoger y analizar otra muestra sin diluir.

Tabla 1: Interpretación de resultados de plasma

Resultado notificado del Aptima CMV Quant Assay		Interpretación
IU/mL	Valor de \log_{10}	
No detectado	No detectado	No se ha detectado ADN de CMV.
<53 detectado	<1,72	Se ha detectado ADN de CMV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC).
53 a 10 000 000	1,72 a 7,00	La concentración de ADN del CMV está dentro del rango cuantitativo comprendido entre LIDC y LSDC,
>10 000 000	>7,00	La concentración de ADN de CMV es superior al límite superior de cuantificación (LSDC).
No válido ^a	No válido ^a	Se ha producido un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la

^a Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Tabla 2: Interpretación de resultados de sangre total

Resultado notificado del Aptima CMV Quant Assay		Interpretación
IU/mL	Valor de \log_{10}	
No detectado	No detectado	No se ha detectado ADN de CMV.
<176 detectado	<2,24	Se ha detectado ADN de CMV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC).
176 a 10 000 000	2,24 a 7,00	La concentración de ADN del CMV está dentro del rango cuantitativo comprendido entre LIDC y LSDC,
>10 000 000	>7,00	La concentración de ADN de CMV es superior al límite superior de cuantificación (LSDC).
No válido ^a	No válido ^a	Se ha producido un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

^a Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Nota: En el caso de muestras de plasma diluidas, el Panther System informará de resultados superiores al LSDC (límite superior de cuantificación) empleando notación científica si el resultado de la muestra diluida se encuentra dentro del intervalo del ensayo antes de aplicar el factor de dilución.

La Tabla 3 describe los criterios de aceptación de cada uno de los controles del ensayo Aptima CMV Quant.

Nota: El índice de recuperación indicado a continuación varía en función del valor asignado de cada lote específico. Consulte la concentración asignada recogida en la hoja de código de barras de los controles que se facilita con cada caja de control.

Tabla 3: Criterios de aceptación para el índice de recuperación del Aptima CMV Quant Assay

Componente	Rango de recuperación para ciclos válidos
Control negativo	N/A
Control positivo bajo	+/- 0,6 log ₁₀ copias/ml
Control positivo alto	+/- 0,5 log ₁₀ copias/ml

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados equívocos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. Aunque es raro, las mutaciones dentro de las regiones altamente conservadas del genoma viral cubierto por los primers o las sondas en el Aptima CMV Quant Assay pueden dar como resultado una menor cuantificación o la imposibilidad de detectar el virus.

Rendimiento analítico

Límite de detección utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS

El límite de detección (LDD) del ensayo se define como la concentración de ADN de CMV que se detecta con una probabilidad del 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI.¹⁴

Límite de detección en plasma con la 1.^a norma internacional de la OMS

El LDD se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS (código NIBSC 09/162)²¹ para CMV diluido en plasma humano negativo para CMV. Se analizaron 60 réplicas de cada dilución con tres lotes de reactivo para un total de 180 réplicas por dilución. Se realizó un análisis probit para generar los límites de detección previstos. Los valores LDD que se muestran en la Tabla 4 son los resultados del lote de reactivos con el límite de detección previsto más elevado. El LDD del ensayo Aptima CMV Quant Assay utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS es de 40,7 IU/mL para plasma.

Tabla 4: Límite de detección para plasma utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV

Límite de detección previsto	Concentración (IU/mL)
10 %	1,9
20 %	2,9
30 %	4,0
40 %	5,3
50 %	6,9
60 %	9,1
70 %	12,2
80 %	17,1
90 %	27,5
95 %	40,7

Límite de detección en sangre entera con la 1.^a norma internacional de la OMS

El LDD se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV diluido en sangre total negativa para CMV. Se analizaron 60 réplicas de cada dilución con tres lotes de reactivo para un total de 180 réplicas por dilución. Se realizó un análisis probit para generar los límites de detección previstos. Los valores LDD que se muestran en la Tabla 5 son los resultados del lote de reactivos con el límite de detección previsto más elevado. El LDD del ensayo Aptima CMV Quant Assay utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS es de 131,0 IU/mL para sangre total.

Tabla 5: Límite de detección en sangre total con la 1.ª norma internacional de la OMS para CMV

Límite de detección previsto	Concentración (IU/mL)
10 %	8,8
20 %	13,2
30 %	17,7
40 %	22,7
50 %	28,7
60 %	36,2
70 %	46,5
80 %	62,4
90 %	93,7
95 %	131,0

Límite de detección de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos

Límite de detección de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma

Se verificó el LDD para tres genotipos distintos basados en la secuencia de glicoproteína B' (gB-2, gB-3, gB-4) y para las mutaciones resistentes a los medicamentos mediante el análisis de varias concentraciones de CMV alrededor del LDD establecido para plasma utilizando la 1ª norma internacional de la OMS (genotipo gB-1). Se analizaron 30 réplicas por cada muestra del panel y por cada lote de reactivos, utilizando dos lotes de reactivos del Aptima CMV Quant Assay. El LDD más elevado verificado para los tres genotipos y las mutaciones resistentes a los medicamentos fue 40 IU/ml utilizando ambos lotes de reactivos.

Nota: El rendimiento del ensayo Aptima CMV Quant con mutaciones del CMV resistentes a los medicamentos se evaluó únicamente en muestras de plasma.

Tabla 6: Límite de detección de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma

Genotipos/Mutaciones	Concentración (IU/mL)
gB-2	40
gB-3	40
gB-4	35
Mutación resistente a los medicamentos UL54 y UL97*	35
Mutación resistente a los medicamentos UL56**	35

Tabla 6: Límite de detección de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma

Genotipos/Mutaciones	Concentración (IU/mL)
<p>* Las mutaciones del gen UL54 pueden provocar la aparición de resistencia cruzada a varios antivirales empleados en el tratamiento de la infección por CMV, como ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) y foscarnet (PFA). Las mutaciones del gen UL97 también provocan la aparición de resistencia a ganciclovir (GCV).</p> <p>** Las mutaciones del gen UL56 provocan la aparición de resistencia a letermovir (LET).</p>	

El LDD general en plasma es 40,7 IU/mL.

Límite de detección en distintos genotipos de CMV en sangre total

Se verificó el LDD para tres genotipos distintos de glicoproteína B (gB-2, gB-3 y gB-4) mediante el análisis de varias concentraciones de CMV alrededor del LDD establecido para sangre entera utilizando la 1ª norma internacional de la OMS (genotipo gB-1). Se analizaron 30 réplicas por cada muestra del panel y por cada lote de reactivos, utilizando dos lotes de reactivos del Aptima CMV Quant Assay. El LDD más elevado verificado para los tres genotipos fue 150 IU/ml utilizando ambos lotes de reactivos.

Tabla 7: Límite de detección en distintos genotipos de CMV en sangre total

Genotipo	Concentración (IU/mL)
gB-2	150
gB-3	150
gB-4	130

El LDD general en sangre total es 150 IU/mL.

Rango lineal

Rango lineal en plasma

El rango lineal se determinó mediante el análisis de paneles de CMV diluido en plasma humano negativo para CMV según el documento EP06-A del CLSI.¹⁵ Las concentraciones de los paneles oscilaron entre 1,62 log₁₀ IU/mL y 7,30 log₁₀ IU/mL. El Aptima CMV Quant Assay demostró linealidad en el rango analizado. El límite superior de cuantificación (LSDC) del ensayo es 7 log₁₀ IU/mL, como se muestra en la Figura 7.

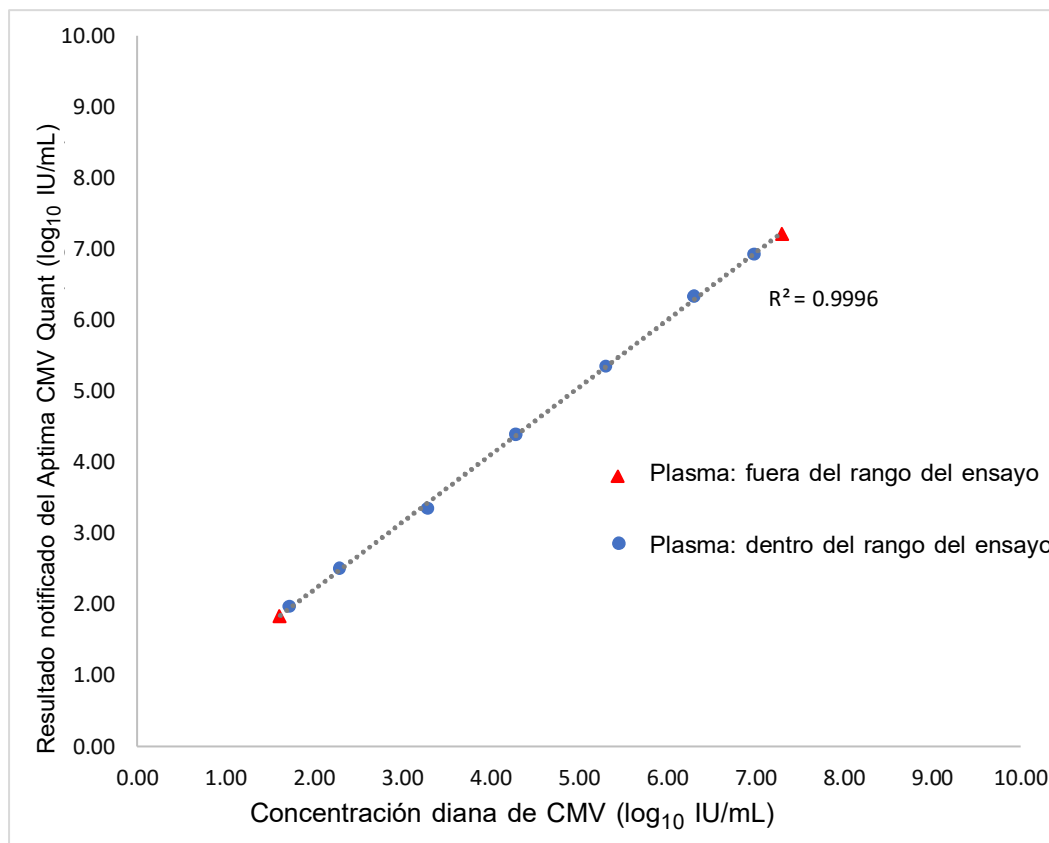


Figura 7. Linealidad en plasma

Rango lineal en sangre total

El rango lineal se determinó mediante el análisis de paneles de CMV diluido en sangre total humana negativa para CMV según el documento EP06-A del CLSI.¹⁵ Las concentraciones de los paneles oscilaron entre 2,15 log₁₀ IU/mL y 7,3 log₁₀ IU/mL para sangre total. El Aptima CMV Quant Assay demostró linealidad en el rango analizado. El límite superior de cuantificación (LSDC) del ensayo es 7 log₁₀ IU/mL, como se muestra en la Figura 8.

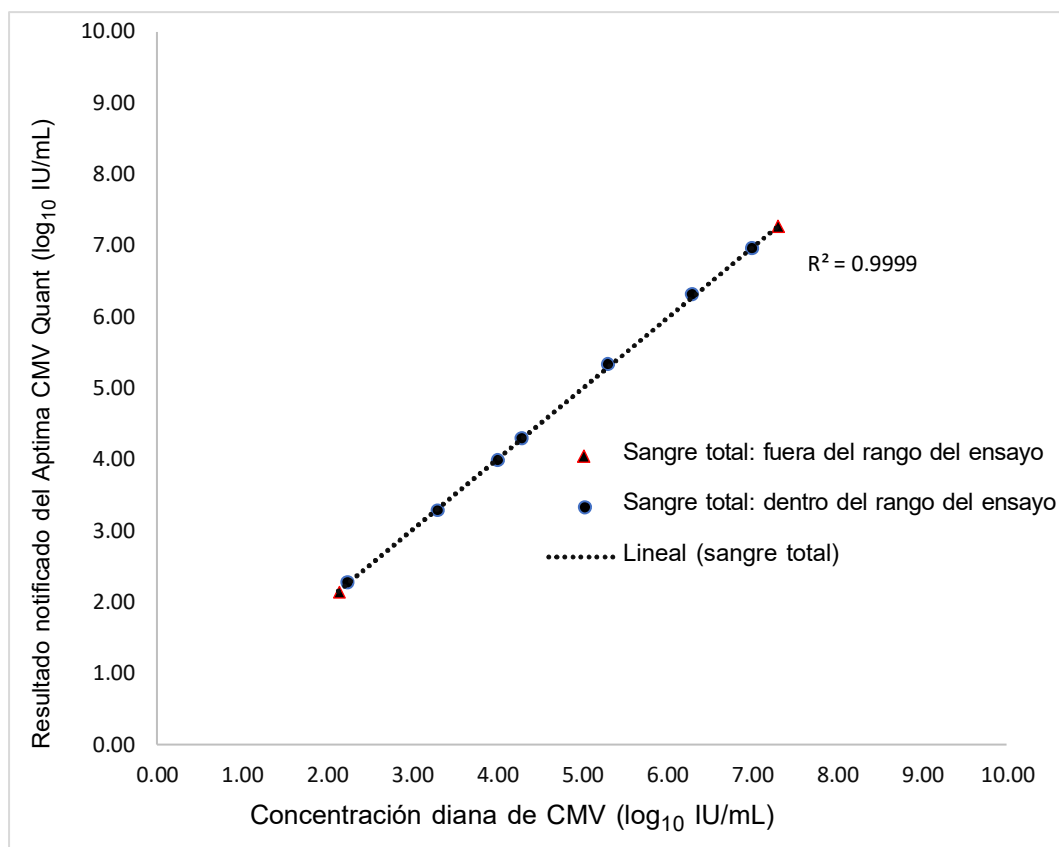


Figura 8. Linealidad en sangre total

Linealidad en distintos genotipos de CMV

Linealidad en distintos genotipos de CMV en plasma

La linealidad de los genotipos de glicoproteína gB-2, gB-3 y gB-4 se verificó mediante el análisis de paneles de CMV diluido en plasma negativo para CMV a concentraciones de entre 1,72 \log_{10} IU/mL y 7,00 \log_{10} IU/mL. Se observó linealidad en todo el rango para todos los genotipos analizados, como se muestra en la Figura 9.

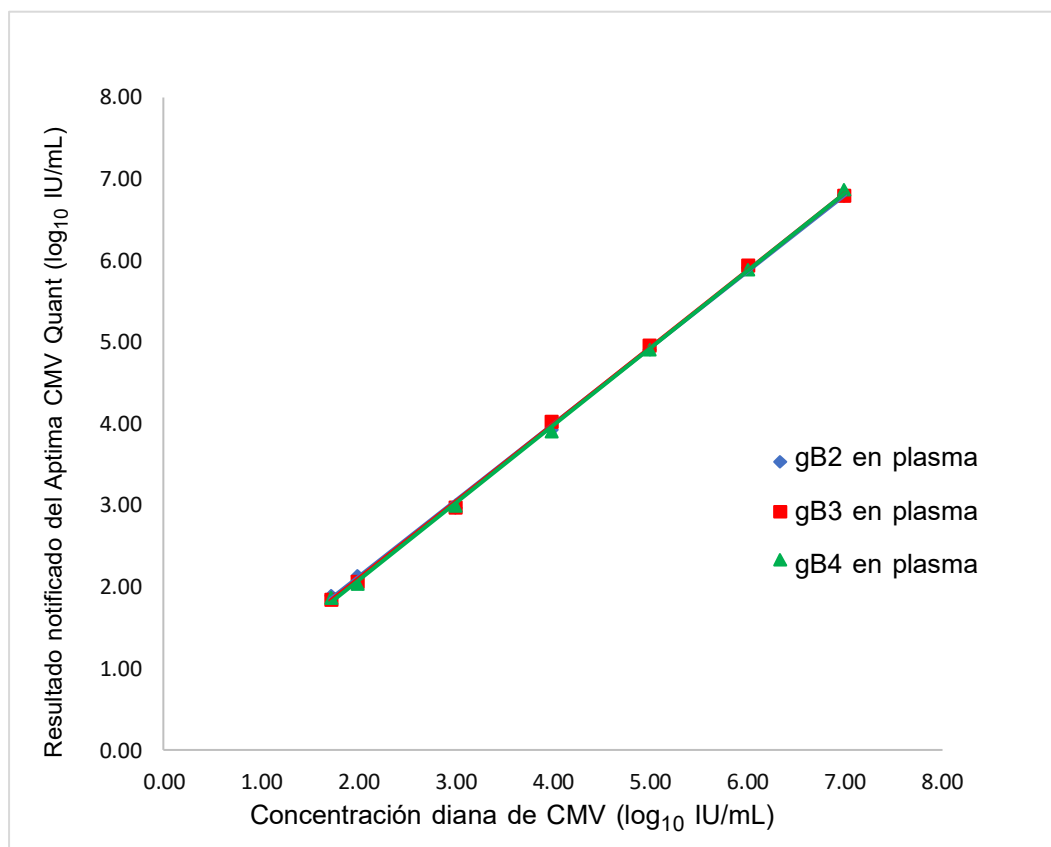


Figura 9. Linealidad en los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de CMV en plasma

Linealidad en distintos genotipos de CMV en sangre total

La respuesta lineal de los genotipos de glicoproteína gB-2, gB-3 y gB-4 se verificó mediante el análisis de paneles de CMV diluido en sangre total negativa para CMV a concentraciones de entre 2,25 log₁₀ IU/mL y 7,00 log₁₀ IU/mL. Se observó linealidad en todo el rango para los tres genotipos analizados, como se muestra en la Figura 10.

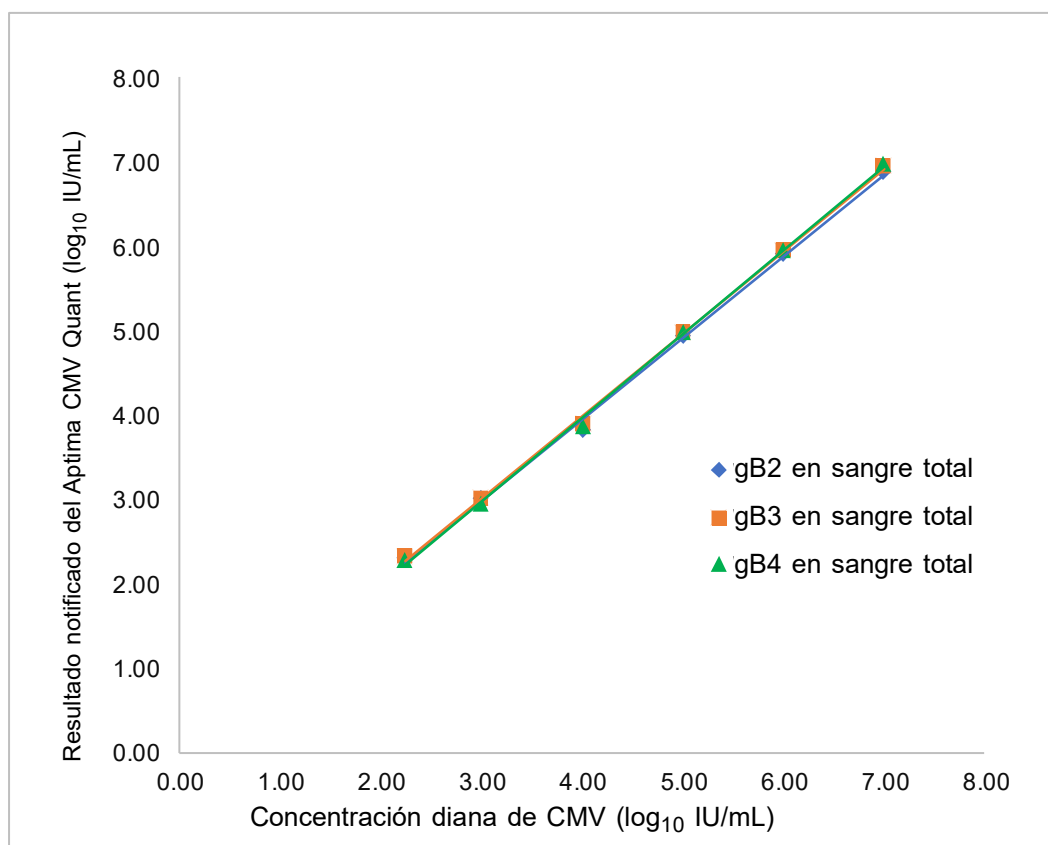


Figura 10. Linealidad en los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de CMV en sangre total

Límite inferior de cuantificación con la 1.^a norma internacional de la OMS

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja a la que el ADN de CMV se cuantifica de manera fiable dentro de un margen de error total, según el documento EP17-A2 del CLSI.¹⁴ El error total se estimó mediante el uso del modelo Westgard: Error total (TE) = |sesgo| + 2 DE. Para garantizar la exactitud de las mediciones, el error total del Aptima CMV Quant se determinó en 1 log₁₀ IU/mL (es decir, en el LIDC, una diferencia superior a 1 log₁₀ IU/mL entre dos mediciones es estadísticamente significativa).

Límite inferior de cuantificación en plasma con la 1.^a norma internacional de la OMS

El LIDC se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS (código NIBSC 09/162, genotipo gB-1)²¹ para el ADN de CMV diluido en plasma humano negativo para CMV. Se analizaron 60 réplicas de cada dilución con tres lotes de reactivo para un total de 180 réplicas por dilución. Los resultados de LIDC para los tres lotes de reactivo se muestran en la Tabla 8. Los resultados del lote de reactivos con la concentración más elevada que cumple los requisitos de TE y detección del ≥95 % se muestran en la Tabla 9. El LIDC generado con la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV en plasma es de 53 IU/mL.

Tabla 8: Determinación del LIDC utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV diluido en plasma

Lote de reactivo	N	N detectado	Concentración	Aptima CMV	DE	Sesgo	TE calculado
			diana	Quant			
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
	60	56	1,48	1,64	0,36	0,16	0,87
1	60	59	1,54	1,72	0,29	0,18	0,76
	60	59	1,60	1,74	0,28	0,14	0,70
	60	59	1,70	1,85	0,19	0,15	0,53
	60	56	1,48	1,56	0,29	0,09	0,67
2	60	58	1,54	1,61	0,27	0,07	0,60
	60	58	1,60	1,69	0,28	0,09	0,64
	60	60	1,70	1,83	0,24	0,14	0,62
	60	56	1,48	1,67	0,26	0,19	0,71
3	60	58	1,54	1,67	0,24	0,13	0,60
	60	60	1,60	1,78	0,19	0,18	0,55
	60	60	1,70	1,87	0,22	0,17	0,61

DE = Desviación estándar

Las muestras del panel que cumplieron el objetivo de exactitud (TE ≤1) y detección ≥95 % para los lotes de reactivo 1, 2 y 3 están sombreadas.

Tabla 9: Resumen del LIDC para plasma utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV

Lote de reactivo	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
1	53	1,72
2	41	1,61
3	47	1,67

Límite inferior de cuantificación en sangre total con la 1.^a norma internacional de la OMS

El LIDC se determinó mediante el análisis de paneles de la 1.^a norma internacional de la OMS para ADN del CMV diluido en sangre total humana negativa para CMV. Se analizaron 60 réplicas de cada dilución con tres lotes de reactivo para un total de 180 réplicas por dilución. Los resultados para los tres lotes de reactivo se muestran en la Tabla 10. Los resultados del lote de reactivos con la concentración más elevada que cumple los requisitos de TE y detección del ≥ 95 % se muestran en la Tabla 11. El LIDC generado con la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV en sangre total es de 176 IU/mL.

Tabla 10: Determinación del LIDC utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV diluido en sangre completa

Lote de reactivo	N	N detectado	Concentración diana	Aptima CMV Quant	DE	Sesgo	TE calculado
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
1	60	58	2,11	2,06	0,47	0,06	1,00
	60	59	2,16	2,04	0,51	0,12	1,14
	60	60	2,20	2,14	0,44	0,06	0,94
	60	59	2,24	2,28	0,26	0,04	0,56
2	60	60	2,11	2,02	0,42	0,09	0,93
	60	60	2,16	2,12	0,26	0,04	0,56
	60	59	2,20	2,14	0,30	0,07	0,67
	60	60	2,24	2,26	0,26	0,02	0,53
3	60	59	2,11	2,25	0,43	0,13	1,00
	60	59	2,16	2,34	0,27	0,18	0,72
	60	60	2,20	2,38	0,30	0,17	0,77
	60	60	2,24	2,39	0,30	0,15	0,74

DE = Desviación estándar

Las muestras del panel que cumplieron el objetivo de exactitud (TE ≤ 1) y detección ≥ 95 % para los lotes de reactivo 1, 2 y 3 están sombreadas.

Tabla 11: Resumen del LIDC para sangre total utilizando la 1.^a norma internacional de la OMS para CMV

Lote de reactivo	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
1	138	2.14
2	106	2.02
3	176	2.25

Determinación del límite inferior de cuantificación de genotipos de CMV y mutaciones resistentes a los medicamentos

Límite inferior de cuantificación de genotipos y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma

El LIDC determinado según la 1^a norma internacional de la OMS se verificó mediante el análisis de diluciones de los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 del CMV y las mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma humano negativo para CMV. Se analizaron 60 réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos. Los resultados se muestran en la Tabla 12. El LIDC calculado para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 y las mutaciones resistentes a los medicamentos del lote de reactivos con la concentración más elevada que cumple los requisitos de TE y detección del ≥95 % se resume en la Tabla 12. El LIDC general de este ensayo para plasma es 53 IU/ml.

Nota: El rendimiento del ensayo Aptima CMV Quant con mutaciones del CMV resistentes a los medicamentos se evaluó únicamente en muestras de plasma.

Tabla 12: Determinación del LIDC de genotipos y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma

Genotipos/ Mutaciones	N	% detectado	Concentración	Aptima CMV	DE	Sesgo	TE calculado
			diana	Quant			
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	60	93,3	1,48	1,38	0,41	0,10	0,92
	60	96,7	1,54	1,39	0,39	0,16	0,95
	60	93,3	1,60	1,49	0,38	0,11	0,87
	60	96,7	1,65	1,70	0,24	0,04	0,51
	60	95,0	1,70	1,54	0,32	0,16	0,80
gB-3	60	91,7	1,48	1,27	0,38	0,20	0,97
	60	91,7	1,54	1,27	0,40	0,27	1,07
	60	88,3	1,60	1,31	0,47	0,29	1,23
	60	93,3	1,65	1,46	0,34	0,20	0,88
	60	91,7	1,70	1,57	0,29	0,13	0,71
	60	98,3	1,74	1,55	0,30	0,19	0,79

Tabla 12: Determinación del LIDC de genotipos y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma (continuación)

Genotipos/ Mutaciones	N	% detectado	Concentración	Aptima CMV	DE	Sesgo	TE calculado
			diana	Quant	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-4	60	96,7	1,48	1,38	0,39	0,09	0,88
	60	98,3	1,54	1,51	0,33	0,03	0,69
	60	95,0	1,60	1,66	0,36	0,06	0,79
	60	98,3	1,65	1,66	0,29	0,01	0,59
	60	100,0	1,70	1,70	0,24	0,00	0,48
Mutaciones resistentes a los medicamentos (UL54 y UL97)	60	95,0	1,48	1,57	0,32	0,10	0,74
	60	98,3	1,54	1,58	0,32	0,04	0,68
	60	98,3	1,60	1,72	0,33	0,12	0,79
	60	100,0	1,65	1,74	0,22	0,08	0,51
	60	100,0	1,70	1,83	0,24	0,14	0,61
Mutaciones resistentes a los medicamentos (UL56)	60	95,0	1,48	1,54	0,28	0,07	0,64
	60	96,7	1,54	1,60	0,30	0,06	0,65
	60	100,0	1,60	1,69	0,26	0,08	0,60
	60	100,0	1,65	1,78	0,29	0,12	0,71
	60	100,0	1,70	1,74	0,27	0,05	0,58

DE = Desviación estándar

Las muestras del panel que cumplieron el objetivo de exactitud (TE ≤1) y detección ≥95 % para los lotes de reactivo 1, 2 y 3 están sombreadas.

Tabla 13: Resumen del LIDC de genotipos y mutaciones resistentes a los medicamentos en plasma

Genotipos/Mutaciones	LIDC	
	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	50	1,70
gB-3	35	1,55
gB-4	24	1,38
Mutación resistente a los medicamentos UL54 y UL97*	38	1,57
Mutación resistente a los medicamentos UL56**	35	1,54

* Las mutaciones del gen UL54 pueden provocar la aparición de resistencia cruzada a varios antivirales empleados en el tratamiento de la infección por CMV, como ganciclovir (GCV), cidofovir (CDV) y foscarnet (PFA). Las mutaciones del gen UL97 también provocan la aparición de resistencia a ganciclovir (GCV).

** Las mutaciones del gen UL56 provocan la aparición de resistencia a letermovir (LET).

Límite inferior de cuantificación en distintos genotipos en sangre total

El LIDC determinado según la 1.^a norma internacional de la OMS se verificó mediante el análisis de diluciones de los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de CMV en sangre total humana negativa para CMV. Se analizaron 60 réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos. Los resultados se muestran en la Tabla 14. El LIDC para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 del lote de reactivos con la concentración más elevada que cumple los requisitos de TE y detección del $\geq 95\%$ se resume en la Tabla 15. El LIDC general de este ensayo para sangre total es de 176 IU/mL.

Tabla 14: Determinación del LIDC en distintos genotipos en sangre total

Genotipos/ Mutaciones	N	N detectado	Concentración diana	Aptima CMV Quant	DE	Sesgo	TE calculado
			(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/ mL)	(log ₁₀ IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	60	56	2,08	1,77	0,43	0,30	1,16
	60	56	2,15	1,87	0,39	0,27	1,06
	60	56	2,20	1,80	0,59	0,40	1,58
	60	58	2,26	1,97	0,41	0,28	1,11
	60	59	2,30	2,06	0,50	0,24	1,24
	60	57	2,34	2,01	0,52	0,33	1,38
	60	59	2,38	2,11	0,36	0,27	1,00
	60	60	2,41	2,19	0,30	0,23	0,84
gB-3	60	46	2,08	1,73	0,59	0,35	1,53
	60	54	2,15	1,78	0,50	0,36	1,37
	60	54	2,20	1,87	0,50	0,33	1,34
	60	58	2,26	2,02	0,52	0,23	1,27
	60	58	2,30	2,02	0,32	0,28	0,92
gB-4	60	55	2,08	1,78	0,53	0,30	1,37
	60	57	2,15	1,97	0,40	0,18	0,97
	60	58	2,20	2,09	0,39	0,12	0,89

DE = Desviación estándar

Tabla 15: Resumen del LIDC en distintos genotipos en sangre total

Genotipos/ Mutaciones	LIDC	
	(IU/mL)	(log ₁₀ IU/mL)
gB-2	129	2,11
gB-3	104	2,02
gB-4	93	1,97

Trazabilidad según la 1.^a norma internacional de la OMS

Se usó una serie de normas secundarias con concentraciones conocidas a lo largo del desarrollo y fabricación del producto para determinar la rastreabilidad con respecto a la 1.^a norma internacional de la OMS. La 1.^a norma internacional de la OMS de CMV se diluyó y analizó junto con las normas secundarias y los controles de ensayo, y se usaron calibradores en el ensayo Aptima CMV Quant para evaluar la rastreabilidad según el documento EP32-R del CLSI¹⁶. Las concentraciones de las normas secundarias fueron de 1,80 a 6,60 log₁₀ UI/ml.

Rastreabilidad con respecto a la 1.^a norma internacional de la OMS utilizando plasma

Las concentraciones analizadas para la 1.^a norma internacional de la OMS de CMV estuvieron entre 2,18 y 4,70 log₁₀ UI/ml. La recuperación de los paneles de plasma de la OMS, las normas secundarias, los controles de ensayo y los calibradores de ensayo fue la esperada en el rango lineal del ensayo, como se puede observar en la Figura 11.

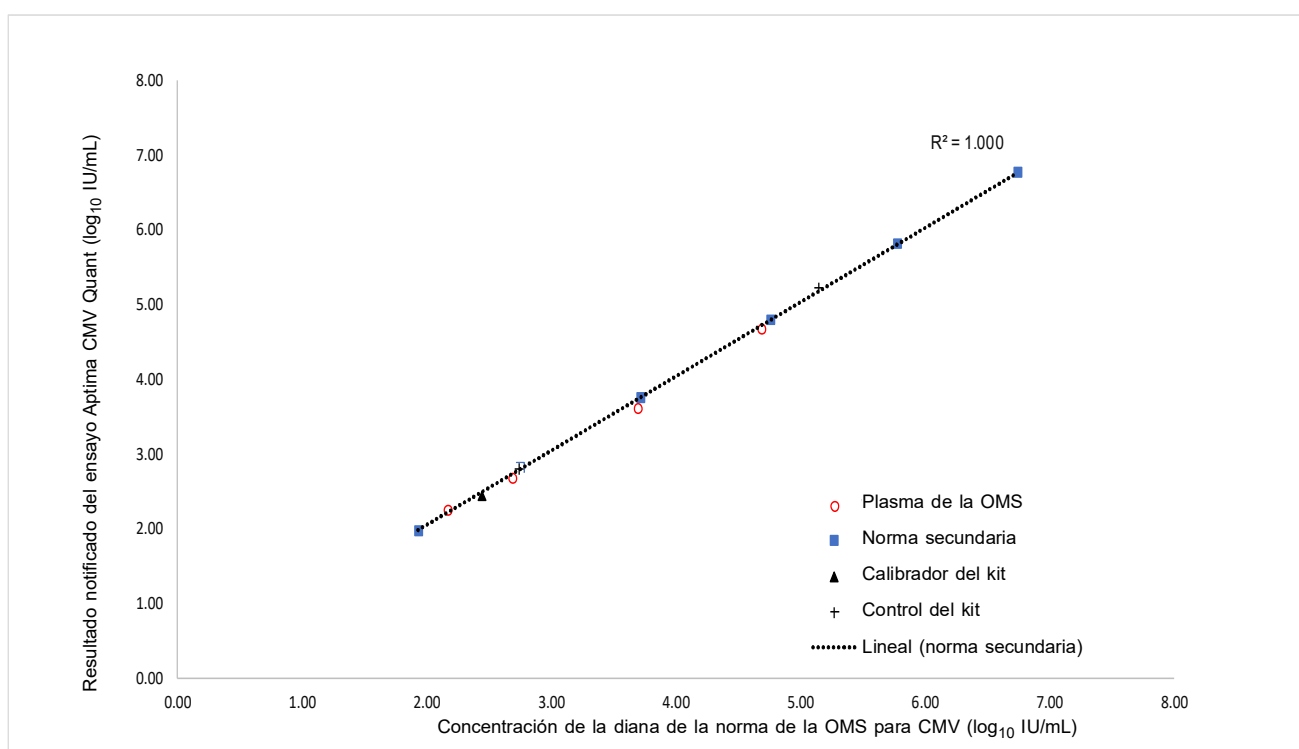


Figura 11. Rastreabilidad entre las concentraciones de la diana de la 1.^a norma internacional de la OMS de CMV y las concentraciones notificadas en el ensayo Aptima CMV Quant (norma de la OMS diluida en plasma)

Rastreabilidad con respecto a la 1ª norma internacional de la OMS utilizando sangre entera

Las concentraciones analizadas para la 1ª norma internacional de la OMS de CMV en sangre entera estuvieron entre 2,70 y 4,70 log₁₀ UI/ml. La recuperación de los paneles de sangre entera con normas de la OMS, las normas secundarias, los controles de ensayo y los calibradores de ensayo fue la esperada en el rango lineal del ensayo, como se puede observar en la Figura 12.

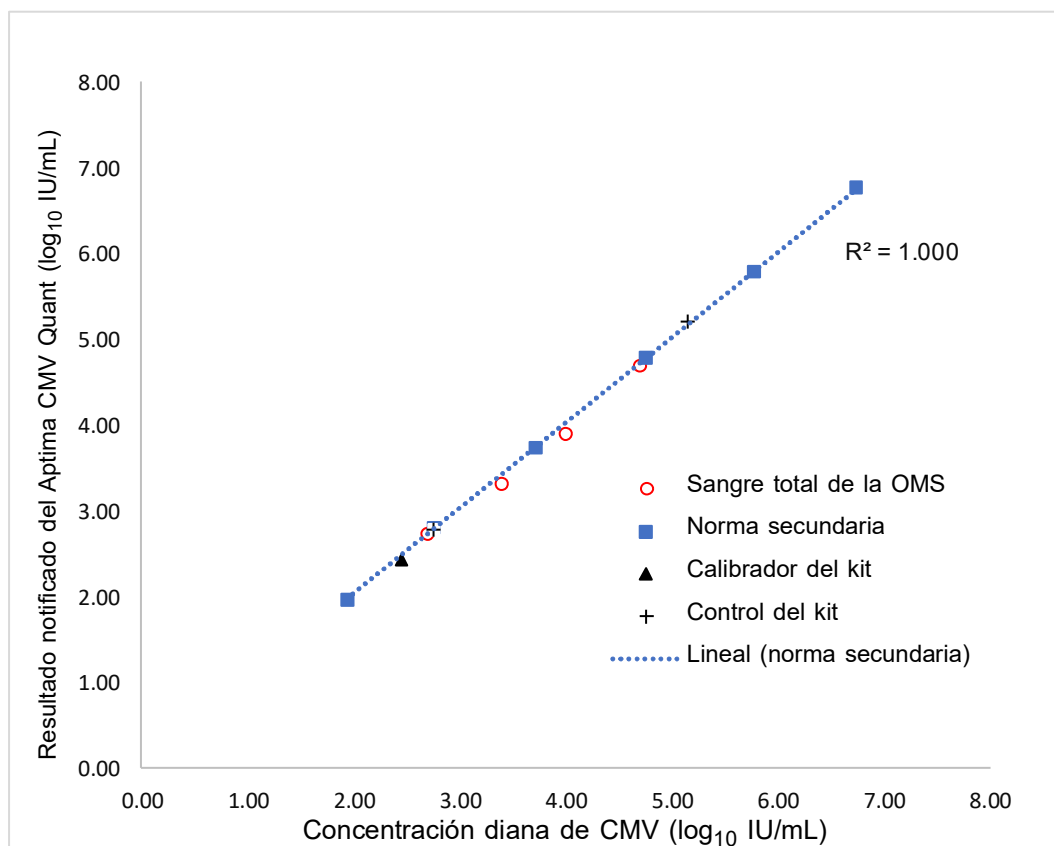


Figura 12. Rastreabilidad entre las concentraciones de la diana de la 1ª norma internacional de la OMS de CMV y las concentraciones notificadas en el ensayo Aptima CMV Quant (norma de la OMS diluida en sangre entera)

Precisión

Plasma

Para evaluar la precisión, se elaboró un panel de 6 muestras mediante la dilución de muestras clínicas positivas para CMV o CMV cultivado en plasma negativo para CMV. Tres usuarios analizaron el panel con tres lotes de reactivos en tres sistemas Panther System durante 20 días o más. Cada usuario ejecutó dos ciclos al día y cada muestra del panel se analizó por duplicado en cada ciclo. El estudio se diseñó y analizó según las recomendaciones del documento EP-05-A3 del CLSI.¹⁷

En la Tabla 16, se indica la precisión de los resultados del ensayo (en \log_{10} IU/ml) entre instrumentos, usuarios, lotes de reactivo, ciclos, días, en el ciclo y en total. La variabilidad total se debió principalmente a la variabilidad en el ciclo (es decir, debido al error aleatorio).

Tabla 16: Precisión del Aptima CMV Quant Assay en plasma

N	Concentración media (\log_{10} IU/mL)	Entre lotes DE	Entre instrumentos DE	Entre usuarios DE	Entre días DE	Entre ciclos DE	En el ciclo DE	Total DE
108	2,28	0,02	0,04	0,00	0,00	0,06	0,16	0,18
108	2,82	0,06	0,00	0,00	0,04	0,07	0,11	0,14
108	3,49	0,07	0,00	0,01	0,06	0,06	0,11	0,15
108	4,53	0,04	0,02	0,04	0,00	0,07	0,07	0,11
108	5,57	0,06	0,00	<0,001	0,04	0,02	0,09	0,12
108	6,67	0,06	0,03	0,00	0,00	0,00	0,10	0,12

DE = Desviación estándar

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, la DE se muestra como 0.

Sangre total

Para evaluar la precisión, se elaboró un panel de 6 muestras mediante la dilución de muestras clínicas positivas para CMV o el enriquecimiento de sangre total negativa para CMV con CMV cultivado. Tres usuarios analizaron el panel con tres lotes de reactivos en tres sistemas Panther System durante 20 días o más. Cada usuario ejecutó dos ciclos al día y cada muestra del panel se analizó por duplicado en cada ciclo.

En la Tabla 17, se indica la precisión de los resultados del ensayo (en \log IU/mL) entre instrumentos, usuarios, lotes, ciclos, días, en el ciclo y en total. La variabilidad total se debió principalmente a la variabilidad en el ciclo (es decir, debido al error aleatorio).

Tabla 17: Precisión del Aptima CMV Quant Assay en sangre total

N	Concentración media (log ₁₀ IU/mL)	Entre lotes DE	Entre instrumentos DE	Entre usuarios DE	Entre días DE	Entre ciclos DE	En el ciclo DE	Total DE
108	2,78	0,00	0,01	0,05	0,00	0,08	0,14	0,17
108	3,38	0,03	0,00	0,04	0,00	0,00	0,13	0,14
108	3,95	0,06	0,00	0,07	0,05	0,05	0,13	0,18
108	4,76	0,03	0,01	0,08	0,00	0,07	0,12	0,16
108	5,64	0,01	0,00	0,07	0,00	0,00	0,11	0,13
108	6,74	0,03	0,00	0,05	0,00	0,04	0,09	0,12

DE = Desviación estándar

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, la DE se muestra como 0.

Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del ensayo Aptima CMV Quant a las interferencias causadas por altos niveles de sustancias endógenas, anticoagulantes y por medicamentos que se suelen recetar a pacientes trasplantados. Las concentraciones del análisis para cada una de las sustancias interferentes se seleccionó a partir de las referencias bibliográficas y directrices disponibles proporcionadas en los documentos EP07¹⁸ y EP37¹⁹ del CLSI. Se analizaron muestras de plasma negativo para CMV y muestras enriquecidas con CMV hasta obtener una concentración de 2,22 log₁₀ IU/ml y 3,30 log₁₀ IU/ml. Se analizaron muestras de sangre entera negativa para CMV y muestras enriquecidas de CMV hasta obtener una concentración de 2,72 y 4,00 log₁₀ UI/ml de ADN de CMV para hemoglobina

En las muestras de plasma, no se observó ninguna interferencia en el rendimiento del ensayo en presencia de albúmina (60 mg/mL), hemoglobina (10 mg/mL), triglicéridos (15 mg/mL), bilirrubina no conjugada (0,4 mg/mL) o ADN genómico humano (2 µg/mL). En las muestras de sangre total, no se observó ninguna interferencia en el rendimiento del ensayo en presencia de 100 mg/mL de hemoglobina añadida a las muestras de sangre total.

Se analizaron con el Aptima CMV Quant Assay muestras clínicas de plasma de pacientes con niveles elevados de sustancias específicas o de pacientes con las enfermedades indicadas en la Tabla 18. No se observó ninguna interferencia en el rendimiento del ensayo.

Tabla 18: Tipos de muestras clínicas analizadas

	Tipos de muestras clínicas	Número muestras clínicas analizadas
1	Anticuerpo antinuclear (AAN)	10
2	Lupus eritematoso sistémico (LES)	10
3	Artritis reumatoide (AR)	10

No se observó ninguna interferencia en el rendimiento del ensayo en presencia de las sustancias exógenas indicadas en la Tabla 19 a concentraciones de al menos tres veces la $C_{m\acute{a}x}$ de los fármacos en plasma humano.

Tabla 19: Sustancias exógenas

Mezcla de sustancias exógenas	Sustancias exógenas analizadas
1	Cefotetan, clavulanato de potasio, ticarcilina disódica, vancomicina
2	Piperacilina
3	Sulfametoxazol
4	Tazobactam sódico, trimetoprima, fluconazol
5	Ganciclovir, valganciclovir, cidofovir, foscarnet, valaciclovir, aciclovir, letermovir
6	Azatioprina, ciclosporina, micofenolato de mofetilo, ácido micofenólico
7	Sirolimus, tacrolimus, prednisona, everolimus
8	Citrato de sodio, EDTA, heparina

Especificidad

La especificidad se determinó mediante el análisis de 780 muestras clínicas recientes congeladas negativas para CMV. La especificidad se calculó como el porcentaje de muestras negativas para CMV con resultado de «No detectado» en comparación con el número total de muestras analizadas para cada tipo de muestra.

El ADN del CMV no se detectó en 389 muestras de plasma y 390 muestras de sangre total. La especificidad fue del 99,7 % (389/390, CI del 95 %: 98,6-100 %) para plasma y del 100 % (390/390, CI del 95 %: 99,3-100 %). La especificidad combinada del ensayo Aptima CMV Quant para plasma y sangre total fue del 99,9 % (779/780, CI del 95 %: 99,3-100 %).

Tabla 20: Especificidad en muestras de plasma y sangre total

	Plasma	Sangre total	Plasma y sangre total
Réplicas válidas (n)	390	390	780
No detectado	389	390	779
Especificidad	99,7 %	100 %	99,9 %
(CI del 95 %)	(98,6-100)	(99,3-100)	(99,3-100)

CI = Intervalo de confianza

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada con los patógenos indicados en la Tabla 21 se evaluó en plasma humano negativo para CMV con presencia o ausencia de 2,2 log₁₀ IU/mL y 3,3 log₁₀ IU/mL de CMV. En las muestras de sangre total se detectaron tres parásitos sanguíneos, que también se evaluaron en sangre total negativa para CMV con presencia o ausencia de 2,7 log₁₀ IU/mL y 4,0 log₁₀ IU/mL de CMV. Los patógenos se analizaron a la concentración más elevada disponible. No se observó ninguna reactividad cruzada ni interferencia.

Tabla 21: Patógenos analizados para determinar la especificidad analítica

Microorganismo/Patógeno	Concentración	Microorganismo/Patógeno	Concentración
Adenovirus tipo 4	1886	DICT50/mL ^a	<i>Mycobacterium intracellulare</i> 1 000 000 UFC/mL
Poliomavirus BK	1 000 000	cp/mL ^b	<i>Mycoplasma genitalium</i> 1 000 000 UFC/mL
Virus de Epstein-Barr	1 000 000	cp/mL	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> 1 000 000 UFC/mL
Virus de la hepatitis B	1 000 000	IU/mL ^c	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> 1 000 000 UFC/mL
Virus de la hepatitis C	1 000 000	cp/mL	<i>Propionibacterium acnes</i> 1 000 000 UFC/mL
Virus del herpes simple tipo 1	1 428 571	DICT50/mL	<i>Salmonella enterica</i> serovariedad Typhimurium 1 000 000 UFC/mL
Virus del herpes simple tipo 2	147 143	DICT50/mL	<i>Staphylococcus aureus</i> 1 000 000 UFC/mL
HIV-1 subtipo B	1 000 000	cp/mL	<i>Staphylococcus epidermidis</i> 1 000 000 UFC/mL
Herpesvirus humano 6A	1 000 000	cp/mL	<i>Streptococcus agalactiae</i> 1 000 000 UFC/mL
Herpesvirus humano 7	1 428 571	DICT50/mL	<i>Streptococcus pneumoniae</i> 1 000 000 UFC/mL
Herpesvirus humano 8	1 000 000	cp/mL	<i>Streptococcus pyogenes</i> 1 000 000 UFC/mL
Metapneumovirus humano	192 857	DICT50/mL	<i>Aspergillus niger</i> 485 000 UFC/mL
Virus del papiloma humano tipo 18	1 000 000	cp/mL	<i>Candida albicans</i> 1 000 000 UFC/mL
Virus de la parainfluenza humana	944	DICT50/mL	<i>Cryptococcus neoformans</i> 1 000 000 UFC/mL
Virus de la gripe	3857	DICT50/mL	<i>Trichomonas vaginalis</i> 1 000 000 células/mL
Rinovirus	7257	DICT50/mL	<i>Leishmania major</i> * 1 000 000 células/mL
Virus varicela-zóster	1 000 000	cp/mL	<i>Babesia microti</i> * 1 000 000 células/mL
Virus Zika	29 286	DICT50/mL	<i>Plasmodium falciparum</i> * 1 000 000 células/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 000 000	UFC/mL ^d	
<i>Clostridium perfringens</i>	1 000 000	UFC/mL	
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 000 000	UFC/mL	
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 000 000	UFC/mL	
<i>Escherichia coli</i>	1 000 000	UFC/mL	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 000 000	UFC/mL	
<i>Listeria monocytogenes</i>	1 000 000	UFC/mL	

^aDICT50/ml = unidades de dosis infectiva en cultivo tisular por ml

^bcp/ml = copias víricas por ml

^cUI/ml = unidades internacionales por ml

^dUFC/ml = unidades formadoras de colonias por ml

*comprobado con el tipo de muestra de sangre entera

Dilución de muestras de plasma utilizando control negativo Aptima CMV (1:3)

Para evaluar la exactitud de cuantificación del ADN del CMV en muestras de plasma diluidas con el control negativo Aptima CMV, las muestras con concentraciones distribuidas a lo largo del intervalo lineal se diluyeron 1:3 con el control negativo Aptima CMV (240 uL de muestra combinados con 480 uL de control negativo Aptima CMV). Las muestras sin diluir y diluidas se analizaron por triplicado. El análisis se realizó empleando un lote de reactivos en un sistema Panther con dos lotes de control negativo Aptima CMV. La diferencia entre los resultados de las muestras sin diluir y diluidas se calculó para cada conjunto de muestras como muestra la Tabla 22. Las concentraciones de la muestra se recuperaron de forma exacta en las muestras diluidas tras incorporar el factor de dilución.

Tabla 22: Repetibilidad de muestras clínicas de plasma diluidas en control negativo

Muestra de plasma sin diluir Concentración media notificada (log ₁₀ UI/ml) n=3	Muestra de plasma diluida Concentración media notificada (log ₁₀ UI/ml) n=6	Diferencia (log ₁₀ IU/ml)
2,30	2,42 ^a	0,12
2,50	2,60	0,11
3,03	3,02	-0,01
3,46	3,45	-0,01
3,29	3,29	0,00
4,64	4,43	-0,21
5,32	5,31	-0,01
6,43	6,44	0,01
6,91 ^b	6,95	0,05
>ULoQ ^c	7,41 ^d	N/A

^aResultado de dos réplicas. Cuatro resultados "Detectados", pero no cuantificados.

^bResultado de dos réplicas. Un resultado "Detectado", pero no cuantificado porque era >LSDC.

^cTres resultados "Detectados", pero no cuantificados porque eran >LSDC.

^dResultado de cuatro réplicas. Dos resultados "Detectados", pero no cuantificados porque eran >LSDC.

Confirmación de LDD y LIDC utilizando la 1ª norma internacional de la OMS de CMV diluido en control negativo Aptima CMV

El LDD y el LIDC del ensayo Aptima CMV Quant se confirmaron con la 1ª norma internacional de la OMS de CMV (código NIBSC 09/162) en plasma, diluido 1:3 utilizando control negativo Aptima CMV. Las muestras se prepararon en suero y plasma humano negativo para CMV con concentraciones de CMV a 90, 105, 120, 135, 150 y 165 IU/ml. Cada panel se diluyó en una proporción 1:3 en control negativo Aptima CMV justo antes del análisis para obtener concentraciones finales de aproximadamente 30, 35, 40, 45, 50 y 55 IU/ml. Se analizaron 60 réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos durante un periodo de tres días. El error total se estimó usando el modelo Westgard: Error total (TE) = |sesgo| + 2DE. Todas las muestras con una concentración de ≥ 45 IU/ml tuvieron ≥ 95 % de detección y un error total (ET) de $\leq 1 \log_{10}$ IU/ml, como muestra la Tabla 23. Esto confirma el LIDC de CMV con muestras diluidas con control negativo.

Tabla 23: LDD y LIDC de muestras de plasma diluidas 1:3 utilizando control negativo

N	% Detectado	Concentración objetivo tras dilución 1:3	Concentración objetivo tras dilución 1:3	Aptima CMV Quant para muestra diluida	DE	Sesgo	TE calculado
		(IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)	(\log_{10} IU/ml)
60	98,3 %	45	1,65	1,73	0,22	0,08	0,53

Contaminación por arrastre

La contaminación por arrastre se evaluó para el sistema Panther usando plasma como tipo de muestra mediante otros ensayos de carga viral (ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, ensayo Aptima HCV Quant, ensayo Aptima HBV Quant). No se observó contaminación cruzada en análisis anteriores. Para establecer que el Panther System reduce al mínimo el riesgo de resultados positivos falsos provocados por contaminación por arrastre en el tipo de muestra de sangre total, se realizó un estudio de varios paneles enriquecidos en tres sistemas Panther System. La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras de sangre total enriquecidas con ADN de CMV de título elevado (6 log IU/mL) entremezcladas con muestras negativas para CMV en un patrón de tablero de ajedrez. Las pruebas se realizaron en doce ciclos. La tasa global de contaminación por arrastre fue del 0,24 % (1/423).

Correlación de métodos

Este estudio se ha diseñado según el documento EP09c del CLSI.¹⁹

Correlación de métodos en plasma

Se comparó el rendimiento del ensayo Aptima CMV Quant con el de un ensayo comparador de CMV mediante el análisis de muestras clínicas sin diluir de pacientes positivos para CMV y muestras artificiales preparadas mediante el enriquecimiento de plasma EDTA negativo de donantes individuales con varias cepas de virus cultivadas pertenecientes a los cuatro genotipos. Se utilizó un total de 160 muestras clínicas y 115 muestras artificiales dentro del rango lineal común a ambos ensayos para la regresión de Deming, tal como se muestra en la Figura 13.

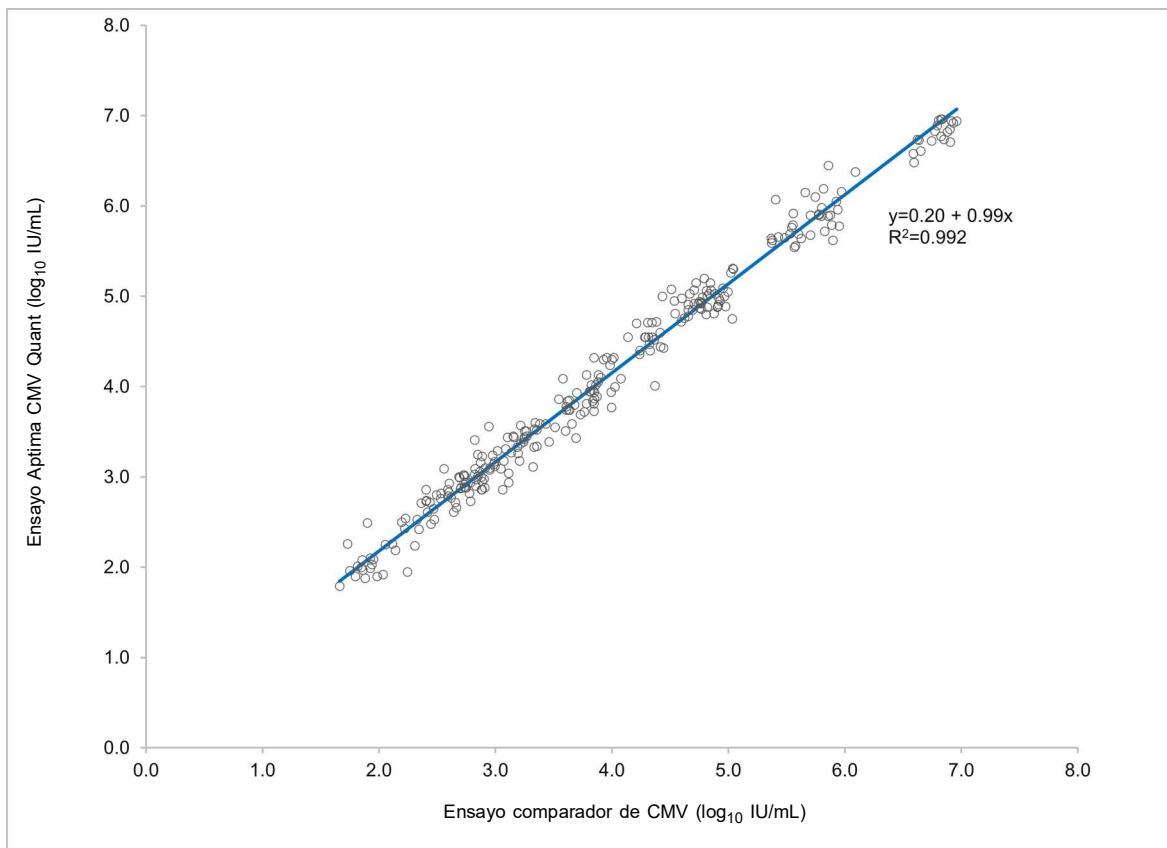


Figura 13. Correlación entre la carga viral de CMV en el ensayo Aptima CMV Quant y el ensayo comparador de CMV en el análisis de muestras de plasma

Correlación de métodos en sangre total

Se comparó el rendimiento del ensayo Aptima CMV Quant con el de un ensayo comparador de CMV mediante el análisis de muestras clínicas sin diluir de pacientes positivos para CMV y muestras artificiales preparadas mediante el enriquecimiento de sangre total EDTA negativa de donantes individuales con virus cultivados. Se utilizó un total de 159 muestras clínicas y 83 muestras artificiales dentro del rango lineal común a ambos ensayos para la regresión de Deming, tal como se muestra en la Figura 14.

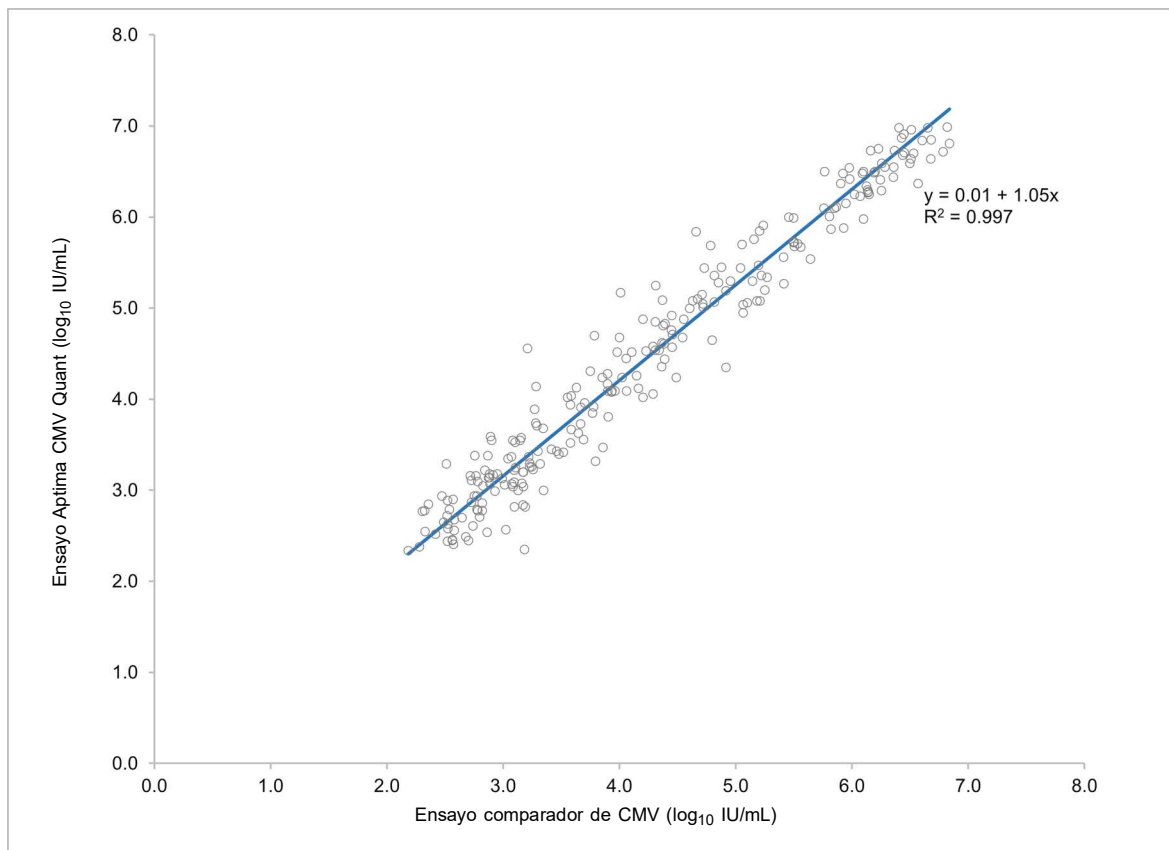


Figura 14. Correlación entre la carga viral de CMV en el ensayo Aptima CMV Quant y el ensayo comparador de CMV en el análisis de muestras de sangre total

Reproducibilidad

Reproducibilidad en muestras de plasma

La reproducibilidad del Aptima CMV Quant Assay en plasma se evaluó en tres centros externos. Dos usuarios completaron los análisis en cada centro. Cada usuario ejecutó un ciclo al día durante 5 días mediante el uso de un lote de reactivos en el transcurso de la prueba. Cada ciclo tuvo tres réplicas de cada muestra del panel.

Para evaluar la reproducibilidad, se utilizaron muestras del panel preparadas mediante la dilución de muestras clínicas positivas para CMV o CMV cultivado en plasma EDTA negativo para CMV. Las concentraciones de ADN de CMV abarcaron el rango lineal del ensayo.

En la Tabla 24, se muestra la reproducibilidad y la precisión de los resultados del ensayo para cada muestra del panel positiva entre centros, entre usuarios, entre días, entre ciclos, en el ciclo y en total. El coeficiente de variación se calculó según la siguiente ecuación, en la que σ^2 es la varianza muestral de los datos después de la transformación a \log_{10} .

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

Tabla 24: Reproducibilidad de los niveles de ADN de CMV del ensayo Aptima CMV Quant en el Panther System en muestras del panel positivas en plasma

N	Media observada		Contribución a la varianza total DE (%CV ²)					Varianza total DE (%CV)
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	Entre centros	Entre usuarios	Entre días	Entre ciclos	En el ciclo	
90	198,33	2,26	0,05 (11,19)	0,00 (0)	0,06 (12,94)	0,00 (0)	0,17 (39,59)	0,18 (43,68)
90	603,27	2,76	0,02 (3,99)	<0,01 (2,22)	0,07 (15,68)	0,04 (10,25)	0,12 (27,04)	0,14 (33,67)
90	2428,54	3,36	0,06 (12,83)	0,00 (0)	0,09 (21,42)	0,06 (12,83)	0,11 (24,69)	0,16 (38,27)
90	27623,02	4,42	0,07 (15,98)	0,00 (0)	0,04 (9,29)	0,06 (13,85)	0,08 (19,38)	0,13 (30,63)
90	284107,74	5,44	0,07 (15,58)	0,00 (0)	0,04 (10,22)	0,00 (0)	0,09 (21,66)	0,12 (28,90)
90	3821364,62	6,57	0,08 (19,12)	0,00 (0)	0,06 (14,22)	0,02 (4,02)	0,08 (17,45)	0,13 (30,25)

%CV = Coeficiente de variación log-normal, DE = Desviación estándar (log₁₀ IU/mL)

Nota: La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el % CV se muestran como 0.

Reproducibilidad en muestras de sangre total

La reproducibilidad del Aptima CMV Quant Assay en sangre total se evaluó en tres centros externos. Dos usuarios completaron los análisis en cada centro. Cada usuario ejecutó un ciclo al día durante 5 días mediante el uso de un lote de reactivos en el transcurso de la prueba. Cada ciclo tuvo tres réplicas de cada muestra del panel.

Para evaluar la reproducibilidad, se utilizaron muestras del panel preparadas mediante la dilución de muestras clínicas positivas para CMV o CMV cultivado en sangre total EDTA negativa para CMV. Las concentraciones de ADN de CMV abarcaron el rango lineal del ensayo.

En la Tabla 25, se muestra la reproducibilidad y la precisión de los resultados del ensayo para cada muestra del panel positiva entre centros, entre usuarios, entre días, entre ciclos, en el ciclo y en total, excluyendo una observación atípica (0,2 %, 1/533). El coeficiente de variación se calculó según la siguiente ecuación, en la que σ^2 es la varianza muestral de los datos después de la transformación a \log_{10} .

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

Los valores de concordancia fueron del 100 % para todas las muestras del panel tanto positivas como negativas para CMV.

Tabla 25: Reproducibilidad de los niveles de ADN de CMV del ensayo Aptima CMV Quant en el Panther System en muestras del panel positivas en plasma

N	Media observada		Contribución a la varianza total DE (%CV ²)					Varianza total DE (%CV)
	IU/mL	Log ₁₀ IU/mL	Entre centros	Entre usuarios	Entre días	Entre ciclos	En el ciclo	
89	604,32	2,73	0,00 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,11 (25,39)	0,18 (43,23)	0,21 (51,32)
89	2188,59	3,32	<0,01 (0)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,07 (15,25)	0,11 (25,34)	0,13 (29,83) ^a
89	7830,84	3,87	0,04 (8,75)	0,04 (8,16)	0,00 (0)	0,08 (17,71)	0,13 (30,28)	0,16 (37,70)
88	48897,12	4,66	0,03 (7,11)	0,00 (0)	0,00 (0)	0,10 (22,47)	0,11 (24,99)	0,15 (34,89)
88	375626,91	5,56	0,04 (9,59)	0,04 (9,96)	0,00 (0)	0,05 (12,04)	0,09 (21,18)	0,12 (28,34)
89	4609046,44	6,64	0,08 (18,15)	0,00 (0)	0,05 (11,42)	0,03 (6,32)	0,10 (22,74)	0,14 (32,39)

%CV = Coeficiente de variación log-normal, DE = Desviación estándar (log₁₀ IU/mL)

Nota: La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el % CV se muestran como 0.

^a Resultado de varianza total excluyendo la observación atípica que podría ser consecuencia de un problema en la preparación de las muestras.

Rendimiento clínico

Concordancia clínica

El estudio de rendimiento clínico se diseñó para evaluar la concordancia clínica entre el ensayo Aptima CMV Quant y una prueba de comparación aprobada. Durante el estudio multicéntrico prospectivo en ocho centros clínicos, se recogieron muestras de plasma de receptores de trasplantes de órganos sólidos (SOTR) y receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas (HSCTR) sometidos a monitorización de CMV en la práctica clínica habitual. Además, se obtuvieron muestras congeladas residuales de SOTR y HSCTR de proveedores de muestras clínicas.

De los 88 sujetos que se inscribieron en el estudio prospectivo, seis sujetos no fueron evaluables debido a retiradas (n = 5) o a la falta de resultados de muestras válidos con el ensayo Aptima CMV Quant y la prueba aprobada (n = 1). La Tabla 26 muestra las características demográficas y clínicas iniciales de los 82 sujetos evaluables.

Tabla 26: Características demográficas y clínicas iniciales de los sujetos evaluables en general y por tipo de trasplante

Características		SOTR	HSCTR	Todos
Total, N		62	20	82
Sexo, n (%)	Hombres	28 (45,2)	14 (70,0)	42 (51,2)
	Mujeres	34 (54,8)	6 (30,0)	40 (48,8)
Edad (años)	Media ± (SD)	52,1 ± (12,93)	51,9 ± (14,60)	52,1 ± (13,27)
	Mediana	53,0	54,5	54,0
	Mínima	20	22	20
	Máxima	81	69	81
Origen étnico, n (%)	Hispano o latino	2 (3,2)	3 (15,0)	5 (6,1)
	No hispano ni latino	41 (66,1)	17 (85,0)	58 (70,7)
	Desconocido	19 (30,6)	0 (0)	19 (23,2)
Raza, n (%)	Indio americano/Nativo de Alaska	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Asiática	1 (1,6)	1 (5,0)	2 (2,4)
	Negra o afroamericana	17 (27,4)	0 (0)	17 (20,7)
	Nativo hawaiano/Isleño del Pacífico	0 (0)	0 (0)	0 (0)
	Blanca	37 (59,7)	18 (90,0)	55 (67,1)
	Otra	0 (0)	1 (5,0)	1 (1,2)
	Desconocida	7 (11,3)	0 (0)	7 (8,5)
Tipo de órgano, n (%)	Riñón	25 (40,3)	--	--
	Hígado	15 (24,2)	--	--
	Pulmón	10 (16,1)	--	--
	Corazón	12 (19,4)	--	--

Tabla 26: Características demográficas y clínicas iniciales de los sujetos evaluables en general y por tipo de trasplante (*continuación*)

Características		SOTR	HSCTR	Todos
Tipo de hemocitoblasto, n (%)	Alogénico	--	18 (90,0)	--
	Autólogo	--	2 (10,0)	--
Estado serológico de CMV, n (%)	Donante positivo/Receptor negativo	34 (54,8)	3 (15,0)	37 (45,1)
	Donante negativo/Receptor positivo	6 (9,7)	8 (40,0)	14 (17,1)
	Donante positivo/Receptor positivo	22 (35,5)	9 (45,0)	31 (37,8)
En terapia antiviral contra el		50 (80,6)	13 (65,0)	63 (76,8)
Días en terapia antiviral contra				
	n	41	12	53
	Media	13,6	13,3	13,5
	Mediana	11	9,5	11
	Mínimo	1	1	1
	Máximo	47	45	47

HSCTR = receptores de trasplantes de hemocitoblastos, SD = desviación estándar, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

En el estudio prospectivo, se recogieron 365 muestras de plasma de los 82 sujetos evaluables. Además, se obtuvieron 261 muestras congeladas residuales de proveedores de muestras clínicas. De las 626 muestras clínicas de plasma (es decir, muestras recogidas en el estudio prospectivo y muestras residuales congeladas combinadas), se incluyeron en el análisis de concordancia 597 muestras de plasma clínicas emparejadas (es decir, con un resultado válido tanto en el ensayo Aptima CMV Quant como en la prueba aprobada). De las 597 muestras clínicas emparejadas, 339 muestras se recogieron en el estudio prospectivo y 258 eran muestras congeladas residuales. De forma independiente, se realizaron análisis de concordancia en 181 muestras emparejadas recogidas de sujetos después de que iniciaran la terapia antiviral contra el CMV como parte de su tratamiento de rutina durante el estudio prospectivo.

La Tabla 27 muestra el análisis de concordancia y el porcentaje de concordancia entre el ensayo Aptima CMV Quant y la prueba aprobada en diferentes umbrales (en general y por grupo de trasplante). El análisis de concordancia en diferentes intervalos de carga viral (en general y por grupo de trasplante) se muestra en la Tabla 28. Se observó que 4 de los 597 resultados generales eran discrepantes en más de la categoría inmediatamente adyacente, de los cuales 3 eran de HSCTR.

Tabla 27: Análisis de concordancia y porcentaje de concordancia en diferentes umbrales (en general y por grupo de trasplante)

Trasplante Umbral de grupo	N ^a	Resultados del ensayo comparador ^b y del ensayo Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [CI del 95 %] ^c	NPA % (n/N) [CI del 95 %] ^c
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
General							
TND	597	427	13	136	21	95,3 (427/448) [92,9, 96,9]	91,3 (136/149) [85,6, 94,8]
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	597	252	48	295	2	99,2 (252/254) [97,2, 99,8]	86,0 (295/343) [81,9, 89,3]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	597	158	37	397	5	96,9 (158/163) [93,0, 98,7]	91,5 (397/434) [88,5, 93,8]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	597	93	20	483	1	98,9 (93/94) [94,2, 99,8]	96,0 (483/503) [93,9, 97,4]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	597	45	12	540	0	100 (45/45) [92,1, 100]	97,8 (540/552) [96,2, 98,8]
SOTR							
TND	403	295	9	85	14	95,5 (295/309) [92,5, 97,3]	90,4 (85/94) [82,8, 94,9]
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	403	197	26	178	2	99,0 (197/199) [96,4, 99,7]	87,3 (178/204) [82,0, 91,2]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	403	129	25	245	4	97,0 (129/133) [92,5, 98,8]	90,7 (245/270) [86,7, 93,6]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	403	78	16	308	1	98,7 (78/79) [93,2, 99,8]	95,1 (308/324) [92,1, 96,9]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	403	41	10	352	0	100 (41/41) [91,4, 100]	97,2 (352/362) [95,0, 98,5]
HSCTR							
TND	194	132	4	51	7	95,0 (132/139) [90,0, 97,5]	92,7 (51/55) [82,7, 97,1]
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	194	55	22	117	0	100 (55/55) [93,5, 100]	84,2 (117/139) [77,2, 89,3]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	194	29	12	152	1	96,7 (29/30) [83,3, 99,4]	92,7 (152/164) [87,6, 95,8]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	194	15	4	175	0	100 (15/15) [79,6, 100]	97,8 (175/179) [94,4, 99,1]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	194	4	2	188	0	100 (4/4) [51,0, 100]	98,9 (188/190) [96,2, 99,7]

ACMV = ensayo Aptima CMV Quant, CI = intervalo de confianza, Comp = ensayo comparador, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, NPA = porcentaje de concordancia negativa, PPA = porcentaje de concordancia positiva, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos, TND = diana no detectada

Notas:

≥: El resultado es mayor o igual que el valor de umbral dado

<: El resultado es menor que el valor de umbral dado

El PPA resume los resultados mayores o iguales que el umbral dado; el NPA resume los resultados menores que el umbral dado.

^a Número de muestras clínicas emparejadas (muestras recogidas en el estudio prospectivo y muestras congeladas residuales obtenidas de proveedores de muestras clínicas combinadas).

^b Prueba aprobada

^c Puntuación de CI

^d LIDC de una prueba aprobada alternativa

Tabla 28: Análisis de concordancia en diferentes intervalos de carga viral (en general y por grupo de trasplante)

Grupo de trasplante Resultado del ensayo Aptima CMV	Resultado del ensayo comparador ^b (log ₁₀ IU/mL)						
	Total ^a , N	TND	Detectado, <2,1	≥2,1 a <2,7	≥2,7 a <3,3	≥3,3 a <3,9	≥3,9
General							
Número total de muestras emparejadas, N	597	149	194	91	69	49	45
TND	157	136	21	0	0	0	0
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	140	13	125	2	0	0	0
≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/mL	105	0	46	54	5	0	0
≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/mL	82	0	2 ^d	34	45	1	0
≥3,3 a <3,9 log ₁₀ IU/mL	56	0	0	1 ^d	18	37	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	57	0	0	0	1 ^d	11	45
SOTR							
Número total de muestras emparejadas, N	403	94	110	66	54	38	41
TND	99	85	14	0	0	0	0
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	81	9	70	2	0	0	0
≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/mL	69	0	26	39	4	0	0
≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/mL	60	0	0	25	34	1	0
≥3,3 a <3,9 log ₁₀ IU/mL	43	0	0	0	15	28	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	51	0	0	0	1 ^d	9	41
HSCTR							
Número total de muestras emparejadas, N	194	55	84	25	15	11	4
TND	58	51	7	0	0	0	0
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	59	4	55	0	0	0	0
≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/mL	36	0	20	15	1	0	0
≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/mL	22	0	2 ^d	9	11	0	0
≥3,3 a <3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	1 ^d	3	9	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	6	0	0	0	0	2	4

HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos, TND = diana no detectada
^a Número de muestras clínicas emparejadas (muestras recogidas en el estudio prospectivo y muestras congeladas residuales obtenidas de proveedores de muestras clínicas combinadas).

^b Prueba aprobada

^c LIDC de una prueba aprobada alternativa

^d Se observó que 4 de los 597 resultados generales eran discrepantes en más de la categoría inmediatamente adyacente; 1 de los 4 era de un SOTR, y 3 de los 4 eran de HSCTR. De los 2 HSCTR que se sometieron a pruebas con una NAAT alternativa, 1 estaba en concordancia con los resultados del ensayo Aptima CMV Quant.

La Tabla 29 muestra el análisis de concordancia y el porcentaje de concordancia en diferentes umbrales (en general y por grupo de trasplante) para muestras recogidas de sujetos después de que iniciaran la terapia antiviral contra el CMV como parte del tratamiento de rutina en el estudio prospectivo. Los análisis de concordancia en diferentes intervalos de carga viral utilizando todos los puntos de tiempo después del inicio del tratamiento combinados (en general y por grupo de trasplante) se muestran en la Tabla 30. Se observó que 1 de los 181 resultados generales era discrepante en más de la categoría inmediatamente adyacente, el cual era de un SOTR.

Tabla 29: Análisis de concordancia y porcentaje de concordancia en diferentes umbrales usando todos los puntos de tiempo después del inicio del tratamiento combinados (en general y por grupo de trasplante)

Trasplante Umbral de grupo	N ^a	Resultados del ensayo comparador ^b y del ensayo Aptima CMV Quant				PPA % (n/N) [CI del 95 %] ^c	NPA % (n/N) [CI del 95 %] ^e
		Comp≥ ACMV≥	Comp< ACMV≥	Comp< ACMV<	Comp≥ ACMV<		
General							
TND	181	121	4	47	9	93,1 (121/130) [87,4, 96,3]	92,2 (47/51) [81,5, 96,9]
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	181	69	15	97	0	100 (69/69) [94,7, 100]	86,6 (97/112) [79,1, 91,7]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	181	42	9	129	1	97,7 (42/43) [87,9, 99,6]	93,5 (129/138) [88,1, 96,5]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	181	23	5	153	0	100 (23/23) [85,7, 100]	96,8 (153/158) [92,8, 98,6]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	181	12	3	166	0	100 (12/12) [75,8, 100]	98,2 (166/169) [94,9, 99,4]
SOTR							
TND	136	102	2	26	6	94,4 (102/108) [88,4, 97,4]	92,9 (26/28) [77,4, 98,0]
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	136	57	15	64	0	100 (57/57) [93,7, 100]	81,0 (64/79) [71,0, 88,1]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	136	34	8	93	1	97,1 (34/35) [85,5, 99,5]	92,1 (93/101) [85,1, 95,9]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	136	18	5	113	0	100 (18/18) [82,4, 100]	95,8 (113/118) [90,5, 98,2]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	136	10	3	123	0	100 (10/10) [72,2, 100]	97,6 (123/126) [93,2, 99,2]
HSCTR							
TND	45	19	2	21	3	86,4 (19/22) [66,7, 95,3]	91,3 (21/23) [73,2, 97,6]
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL (137 IU/mL) ^d	45	12	0	33	0	100 (12/12) [75,8, 100]	100 (33/33) [89,6, 100]
2,7 log ₁₀ IU/mL (500 IU/mL)	45	8	1	36	0	100 (8/8) [67,6, 100]	97,3 (36/37) [86,2, 99,5]
3,3 log ₁₀ IU/mL (1800 IU/mL)	45	5	0	40	0	100 (5/5) [56,6, 100]	100 (40/40) [91,2, 100]
3,9 log ₁₀ IU/mL (7943,3 IU/mL)	45	2	0	43	0	100 (2/2) [34,2, 100]	100 (43/43) [91,8, 100]

ACMV = ensayo Aptima CMV Quant, CI = intervalo de confianza, Comp = ensayo comparador, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, NPA = porcentaje de concordancia negativa, PPA = porcentaje de concordancia positiva, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos, TND = diana no detectada

Notas:

- ≥: El resultado es mayor o igual que el valor de umbral dado
- <: El resultado es menor que el valor de umbral dado
- El PPA resume los resultados mayores o iguales que el umbral dado; el NPA resume los resultados menores que el umbral dado.

^a Número de muestras emparejadas que se recogieron de sujetos que recibían una terapia antiviral contra el CMV en el momento de su inclusión o que iniciaron la terapia antiviral contra el CMV durante el estudio prospectivo.

^b Prueba aprobada

^c Puntuación de CI

^d LIDC de una prueba aprobada alternativa

Tabla 30: Análisis de concordancia en diferentes intervalos de carga viral utilizando todos los puntos de tiempo después del inicio del tratamiento combinados (en general y por grupo de trasplante)

Grupo de trasplante Resultado del ensayo Aptima CMV Quant	Resultado del ensayo comparador ^b (log ₁₀ IU/mL)						
	Total ^a , N	TND	Detectado, <2,1	≥2,1 a <2,7	≥2,7 a <3,3	≥3,3 a <3,9	≥3,9
General							
Número total de muestras emparejadas,	181	51	61	26	20	11	12
TND	56	47	9	0	0	0	0
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	41	4	37	0	0	0	0
≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/mL	33	0	15	17	1	0	0
≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/mL	23	0	0	9	14	0	0
≥3,3 a <3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	0	4	9	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	15	0	0	0	1 ^d	2	12
SOTR							
Número total de muestras emparejadas,	136	28	51	22	17	8	10
TND	32	26	6	0	0	0	0
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	32	2	30	0	0	0	0
≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/mL	30	0	15	14	1	0	0
≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/mL	19	0	0	8	11	0	0
≥3,3 a <3,9 log ₁₀ IU/mL	10	0	0	0	4	6	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	13	0	0	0	1 ^d	2	10
HSCTR							
Número total de muestras emparejadas,	45	23	10	4	3	3	2
TND	24	21	3	0	0	0	0
Detectado, <2,1 log ₁₀ IU/mL ^c	9	2	7	0	0	0	0
≥2,1 a <2,7 log ₁₀ IU/mL	3	0	0	3	0	0	0
≥2,7 a <3,3 log ₁₀ IU/mL	4	0	0	1	3	0	0
≥3,3 a <3,9 log ₁₀ IU/mL	3	0	0	0	0	3	0
≥3,9 log ₁₀ IU/mL	2	0	0	0	0	0	2

HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos, TND = diana no detectada

^a Número de muestras emparejadas que se recogieron de sujetos que recibían una terapia antiviral contra el CMV en el momento de su inclusión o que iniciaron la terapia antiviral contra el CMV durante el estudio prospectivo.

^b Ensayo aprobado

^c LIDC de una prueba aprobada alternativa

^d Se observó que 1 de los 181 resultados generales era discrepante en más de la categoría inmediatamente adyacente.

Comparación de métodos

El estudio de comparación de métodos se realizó para evaluar el rendimiento del ensayo Aptima CMV Quant respecto a una prueba aprobada. En los análisis de comparación de métodos, se incluyeron un total de 309 muestras clínicas positivas para CMV emparejadas que constaban de 165 muestras recogidas en el estudio prospectivo y 144 muestras congeladas residuales con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos. Además, se prepararon un total de 105 muestras artificiales mediante el enriquecimiento de plasma negativo para CMV con virus CMV cultivado, de las cuales 103 estaban en el rango lineal común para ambos ensayos. Las muestras artificiales se analizaron de forma independiente.

La Tabla 31 presenta estimaciones de parámetros de regresión de Deming (\log_{10} IU/mL). De la Figura 15 a la Figura 18, se muestra la regresión de Deming de los resultados de la carga viral (\log_{10} IU/mL) del ensayo Aptima CMV Quant y la prueba aprobada.

Tabla 31: Estimaciones de los parámetros de la regresión de Deming por tipo de muestra y grupo de trasplante

Tipo de muestra	Grupo de trasplante	Unidad de carga viral	Parámetro	N ^a	Estimación	Método Jackknife ^b		Método Bootstrap ^c		r
						SE	CI del 95 %	SE	CI del 95 %	
Clínica	General	\log_{10} IU/mL	Intersección	309	0,20	0,038	(0,12, 0,27)	0,021	(0,15, 0,24)	0,97
			Pendiente							
	SOTR	\log_{10} IU/mL	Intersección	227	0,17	0,043	(0,09, 0,26)	0,025	(0,12, 0,22)	0,98
			Pendiente							
	HSCTR	\log_{10} IU/mL	Intersección	82	0,16	0,101	(-0,04, 0,36)	0,048	(0,07, 0,26)	0,95
			Pendiente							
Artificial	N/A	\log_{10} IU/mL	Intersección	103	0,06	0,058	(-0,05, 0,18)	0,059	(-0,05, 0,18)	1,00
			Pendiente							

CI = intervalo de confianza, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, r = coeficiente de correlación, SE = error estándar, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

^a Número de muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

^b Se asume la independencia entre todas las muestras; método Jackknife utilizado para calcular el SE y el CI.

^c Las muestras clínicas se ajustaron para la correlación intraindividual utilizando el método de remuestreo Bootstrap con 500 reiteraciones; este método también se utilizó para las muestras artificiales, pero sin estratificar por sujeto.

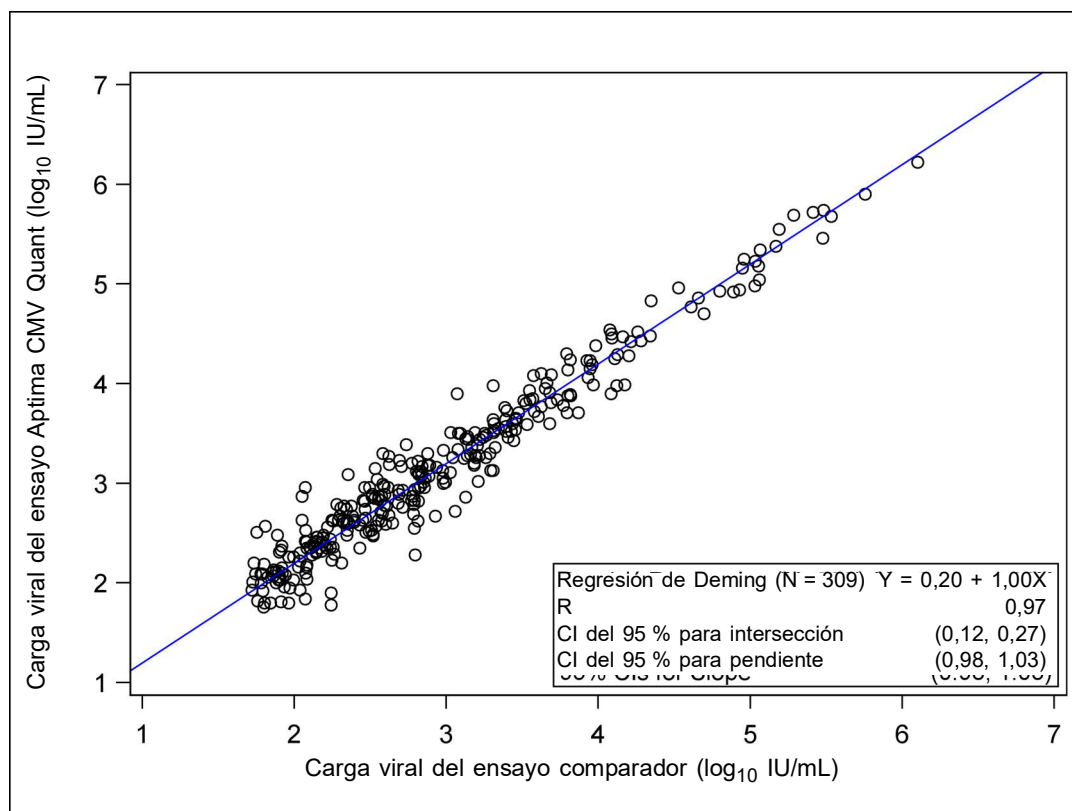


Figura 15. Gráfico de regresión lineal de Deming (muestras clínicas: SOTR y HSCTR combinados)

CI = intervalo de confianza, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, R = coeficiente de correlación, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

Notas:

- Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.
- El modelo de regresión de Deming asume la independencia entre todas las muestras; método Jackknife utilizado para calcular los CI.

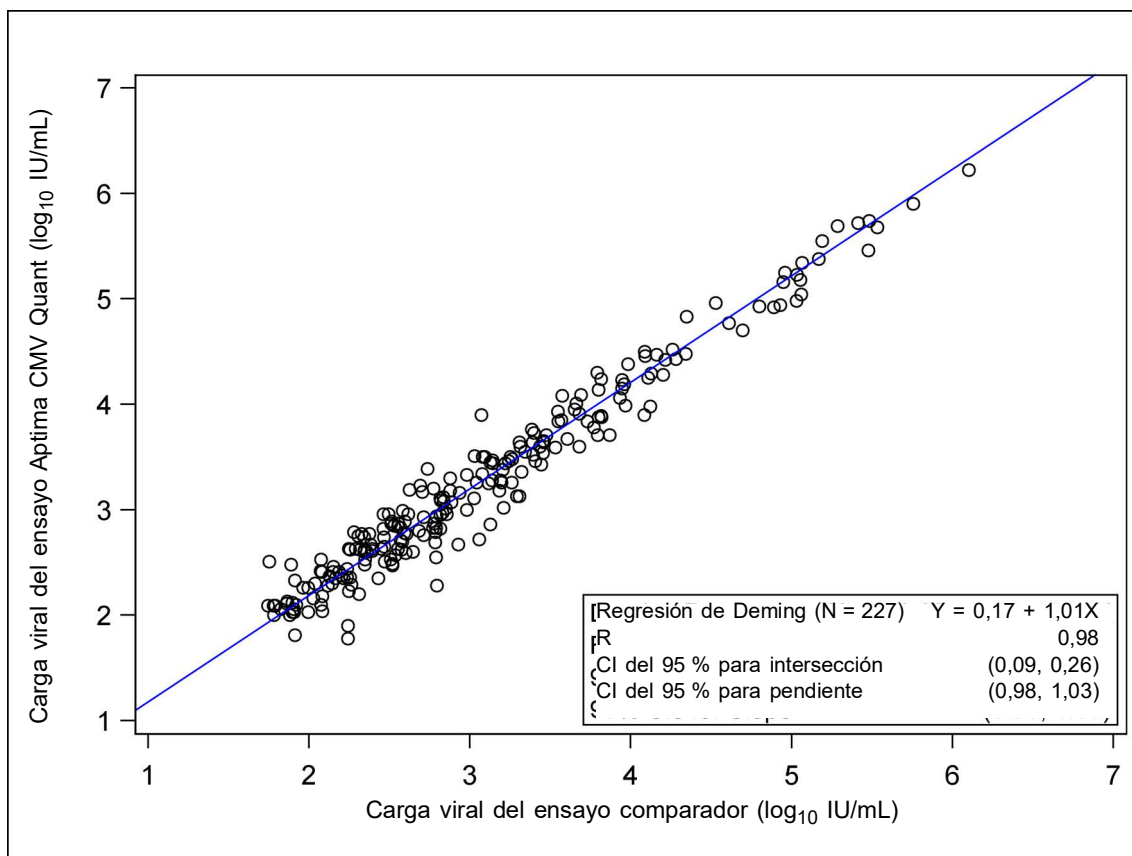


Figura 16. Gráfico de regresión lineal de Deming de cargas virales (muestras clínicas: solo SOTR)

CI = intervalo de confianza, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos, R = coeficiente de correlación

Notas:

- Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.
- El modelo de regresión de Deming asume la independencia entre todas las muestras; método Jackknife utilizado para calcular los CI.

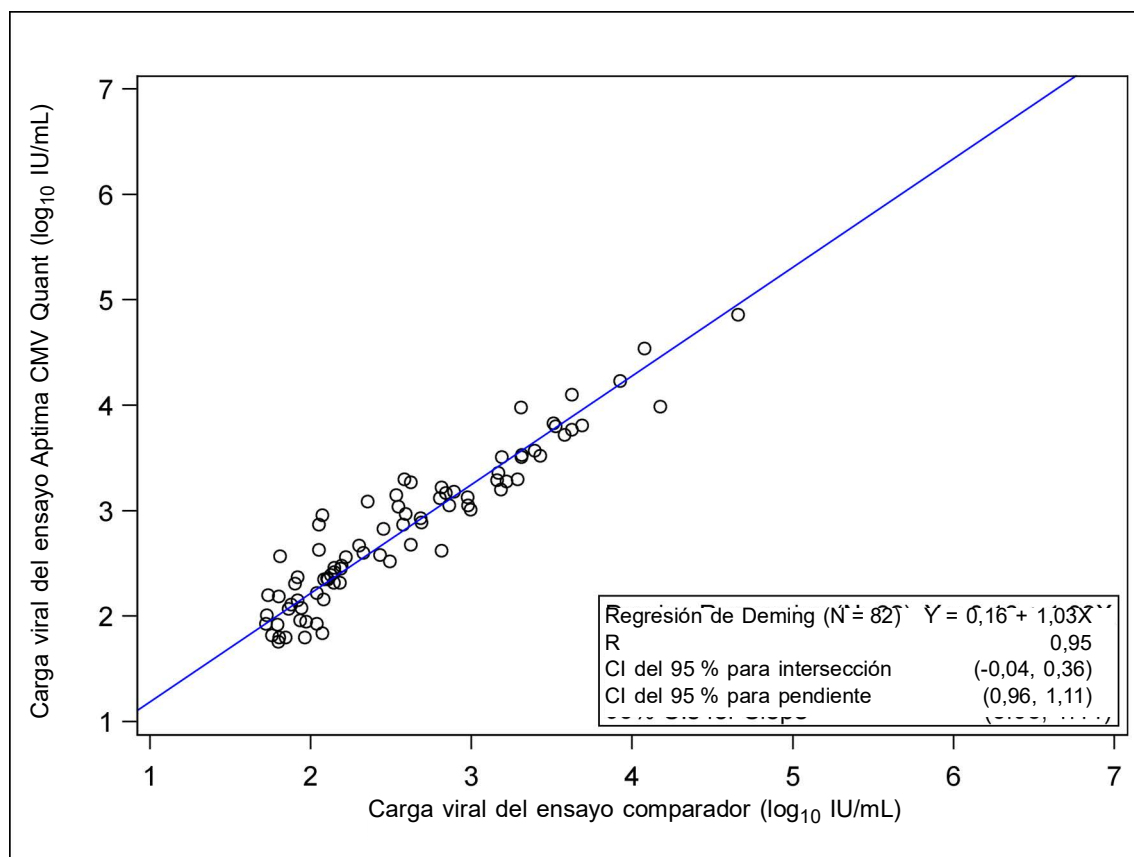


Figura 17. Gráfico de regresión lineal de Deming de cargas virales (muestras clínicas: solo HSCTR)

CI = intervalo de confianza, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, R = coeficiente de correlación

Notas:

- Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.
- El modelo de regresión de Deming asume la independencia entre todas las muestras; método Jackknife utilizado para calcular los CI.

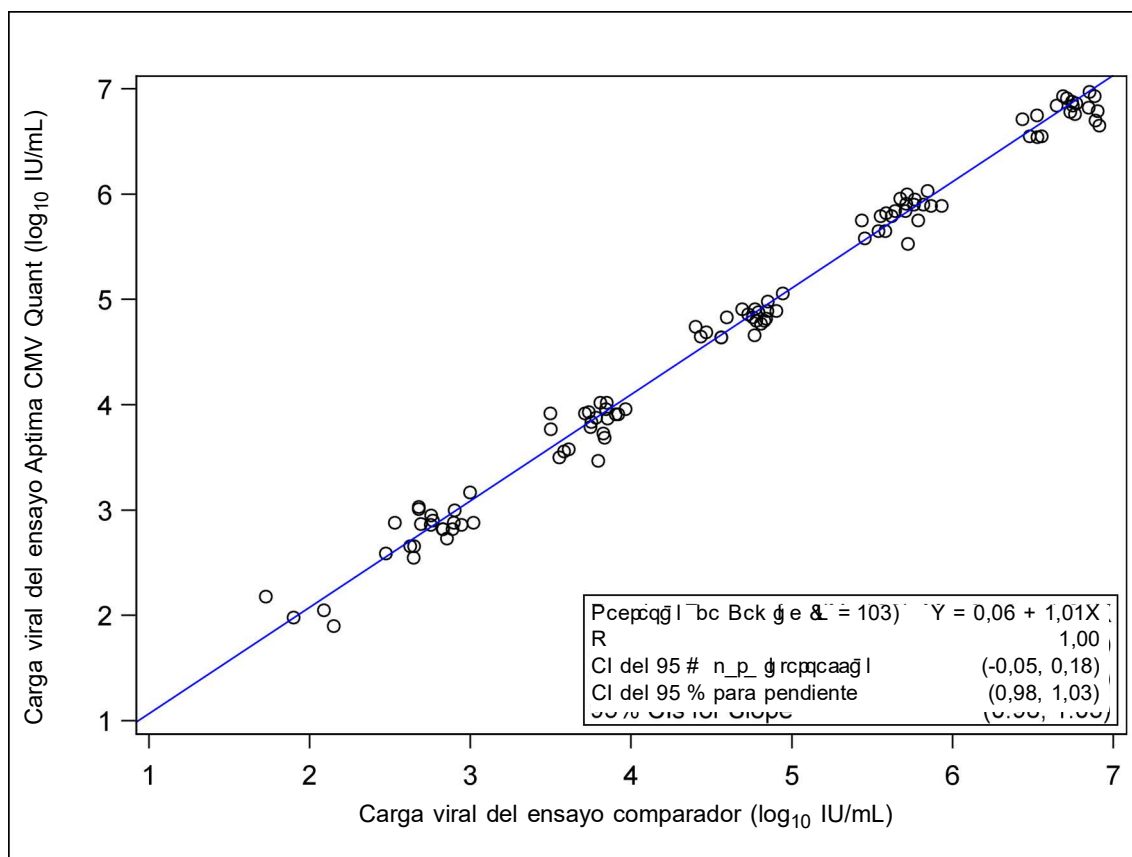


Figura 18. Gráfico de regresión lineal de Deming de cargas virales (muestras artificiales)

CI = intervalo de confianza, R = coeficiente de correlación

Notas:

- Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.
- El modelo de regresión de Deming asume la independencia entre todas las muestras; método Jackknife utilizado para calcular los CI.

Diferencia media de muestras emparejadas

La Tabla 32 presenta la diferencia media de muestras emparejadas entre el ensayo Aptima CMV Quant y la prueba aprobada en intervalos de decisión representativos.

Tabla 32: Diferencia media de carga viral de muestras emparejadas en intervalos de decisión representativos por tipo de muestra y grupo de trasplante

Tipo de muestra	Grupo de trasplante	Intervalos de decisión representativos ^a (log ₁₀ IU/mL)	Número total de muestras emparejadas ^b (N)	Media (SE)	CI del 95 %
Clínica	General	Todos	254	0,20 (0,012)	(0,17, 0,22)
		≥2,1 a <3,0	129	0,21 (0,018)	(0,18, 0,25)
		≥3,0 a <4,0	87	0,19 (0,021)	(0,15, 0,23)
		≥4,0 a <5,0	24	0,17 (0,039)	(0,09, 0,25)
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	SOTR	Todos	199	0,18 (0,014)	(0,16, 0,21)
		≥2,1 a <3,0	95	0,19 (0,021)	(0,14, 0,23)
		≥3,0 a <4,0	69	0,18 (0,024)	(0,13, 0,23)
		≥4,0 a <5,0	21	0,17 (0,038)	(0,09, 0,25)
		≥5,0	14	0,18 (0,037)	(0,10, 0,26)
	HSCTR	Todos	55	0,26 (0,026)	(0,20, 0,31)
		≥2,1 a <3,0	34	0,29 (0,034)	(0,22, 0,36)
		≥3,0 a <4,0	18	0,22 (0,039)	(0,13, 0,30)
		≥4,0 a <5,0	3	0,16 (0,188)	(-0,65, 0,97)
		≥5,0	0	NC (NC)	NC
Artificial	N/A	Todos	100	0,08 (0,014)	(0,05, 0,11)
		≥2,1 a <3,0	20	0,07 (0,037)	(0,00, 0,15)
		≥3,0 a <4,0	21	0,05 (0,036)	(-0,03, 0,12)
		≥4,0 a <5,0	20	0,10 (0,025)	(0,04, 0,15)
		≥5,0	39	0,10 (0,022)	(0,06, 0,14)

CI = intervalo de confianza, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, NC = no calculable, SE = error estándar, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

^a Las muestras emparejadas se asignan a los intervalos de decisión según el resultado de la prueba aprobada.

^b Número de muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

Sesgo en niveles seleccionados de carga viral

La Tabla 33 presenta el sesgo entre el ensayo Aptima CMV Quant y la prueba aprobada en cinco niveles seleccionados de carga viral de 2,1 log₁₀ IU/mL a 7,0 log₁₀ IU/mL con equivalentes no transformados asociados.

Tabla 33: Sesgo/Diferencia sistemática en niveles seleccionados de carga viral por tipo de muestra y grupo de trasplante

Tipo de muestra	Grupo de trasplante	Niveles seleccionados de carga viral log ₁₀ IU/mL (IU/mL)	Diferencia sistémica ^a log ₁₀ IU/mL (IU/mL)
Clínica	General	2,1 (137)	0,20 (1797,1)
		2,7 (500)	0,20 (1948,2)
		3,3 (1800)	0,21 (2489,1)
		3,9 (7943,3)	0,21 (5045,3)
		7,0 (10 000 000)	0,22 (4 162 789,2)
	SOTR	2,1 (137)	0,18 (2251,8)
		2,7 (500)	0,19 (2402,4)
		3,3 (1800)	0,19 (2941,7)
		3,9 (7943,3)	0,19 (5490,5)
		7,0 (10 000 000)	0,21 (4 151 107,2)
	HSCTR	2,1 (137)	0,23 (180,1)
		2,7 (500)	0,25 (430,5)
		3,3 (1800)	0,27 (1327,2)
		3,9 (7943,3)	0,29 (5564,7)
		7,0 (10 000 000)	0,40 (6 897 935,4)
Artificial	N/A	2,1 (137)	0,07 (33 420,4)
		2,7 (500)	0,08 (33 467,9)
		3,3 (1800)	0,08 (33 638,0)
		3,9 (7943,3)	0,08 (34 442,0)
		7,0 (10 000 000)	0,10 (1 342 167,4)

HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

^a La diferencia sistemática es la diferencia entre la variable de resultado (Y) y la carga viral (X) derivada en cada uno de los niveles de carga viral seleccionados utilizando las estimaciones de regresión de Deming para la pendiente y la intersección.

Diferencia total permitida (ATD)

La Tabla 34 y desde la Figura 19 hasta la Figura 22 presentan a continuación, los resultados de ATD utilizando las diferencias de muestras emparejadas entre el ensayo Aptima CMV Quant y la prueba aprobada respecto a su promedio en umbrales representativos y el porcentaje de resultados de muestras emparejadas en la zona de ATD.

Tabla 34: Porcentaje de diferencias de muestras emparejadas dentro de la zona de diferencia total permitida (ATD) en diferentes intervalos de carga viral por tipo de muestra y grupo de trasplante

Tipo de muestra	Grupo de trasplante	Intervalos de carga viral ^a (log ₁₀ IU/mL)	N ^b	Diferencias de muestras emparejadas dentro de la zona de ATD				
				n (%)	Percentiles			
					2,5 %	5 %	95 %	97,5 %
Clínica	General	Todos	271	234 (86,3)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Bajo (≥2,1 a <3,3)	171	147 (86,0)	-0,24	-0,16	0,41	0,44
		Medio (≥3,3 a <3,9)	52	48 (92,3)	-0,08	-0,08	0,38	0,38
		Alto (≥3,9 a <7)	48	39 (81,3)	-0,18	-0,18	0,37	0,40
SOTR	SOTR	Todos	207	183 (88,4)	-0,19	-0,14	0,40	0,42
		Bajo (≥2,1 a <3,3)	123	109 (88,6)	-0,26	-0,18	0,41	0,44
		Medio (≥3,3 a <3,9)	40	38 (95,0)	-0,16	-0,08	0,38	0,40
		Alto (≥3,9 a <7)	44	36 (81,8)	-0,18	-0,14	0,37	0,40
HSCTR	HSCTR	Todos	64	51 (79,7)	-0,18	0,01	0,38	0,41
		Bajo (≥2,1 a <3,3)	48	38 (79,2)	-0,19	0,01	0,41	0,45
		Medio (≥3,3 a <3,9)	12	10 (83,3)	0,09	0,09	0,32	0,32
		Alto (≥3,9 a <7)	4	3 (75,0)	-0,18	-0,18	0,31	0,31
Artificial	N/A	Todos	99	96 (97,0)	-0,19	-0,14	0,29	0,34
		Bajo (≥2,1 a <3,3)	20	20 (100)	-0,14	-0,13	0,35	0,35
		Medio (≥3,3 a <3,9)	14	13 (92,9)	-0,32	-0,32	0,27	0,27
		Alto (≥3,9 a <7)	65	63 (96,9)	-0,19	-0,11	0,24	0,29

HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

^a Las muestras emparejadas se asignan a los intervalos de decisión según el resultado de la prueba aprobada.

^b Número de muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

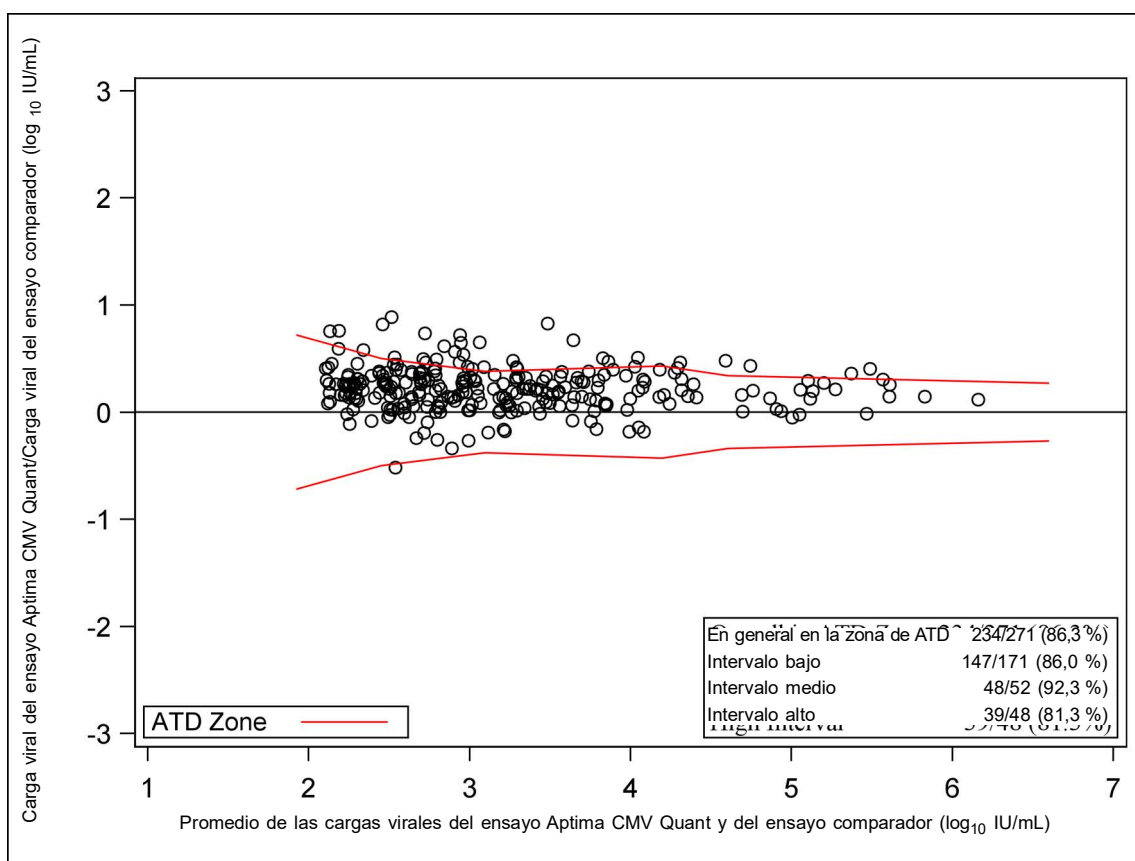


Figura 19. Gráfico de diferencia de muestras emparejadas y zona de ATD (muestras clínicas: SOTR y HSCTR combinados)

ATD = diferencia total permitida, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

Nota: Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

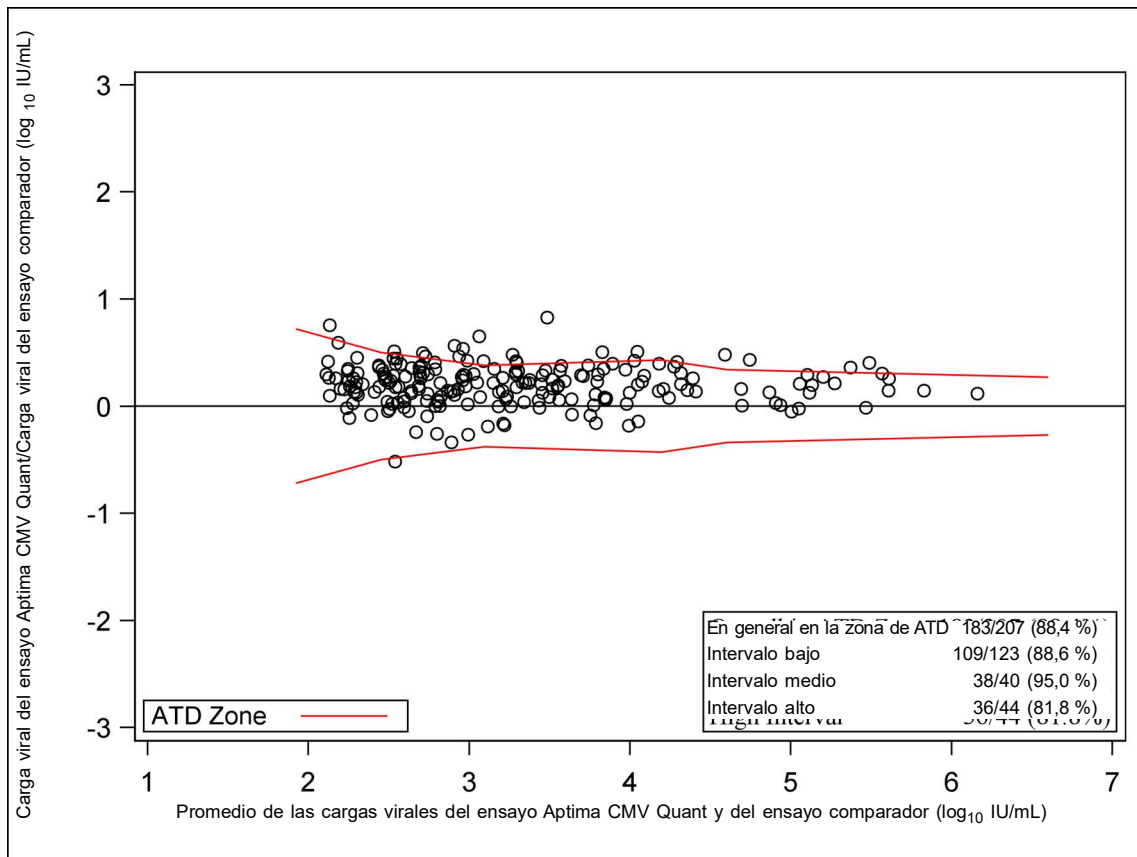


Figura 20. Gráfico de diferencia de muestras emparejadas y zona de ATD (muestras clínicas: solo SOTR)

ATD = diferencia total permitida, SOTR = receptores de trasplantes de órganos sólidos

Nota: Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

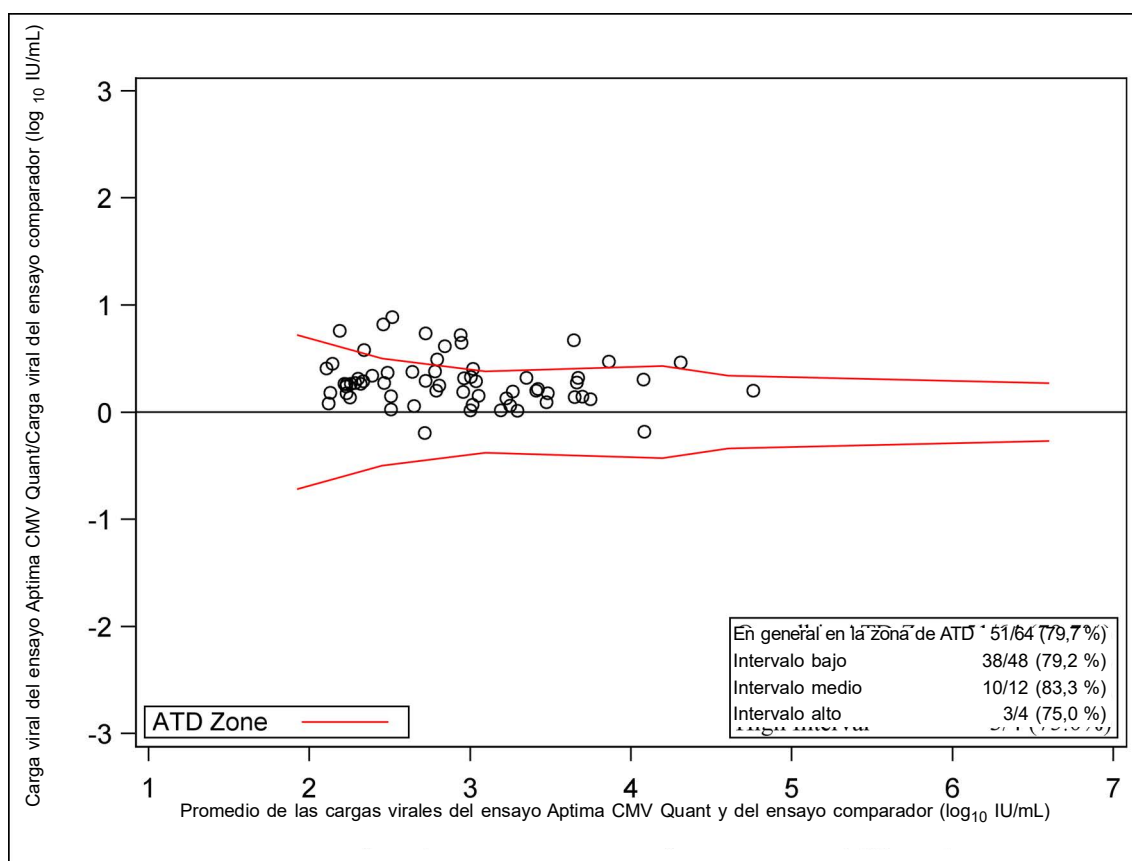


Figura 21. Gráfico de diferencia de muestras emparejadas y zona de ATD (muestras clínicas: solo HSCTR)

ATD = diferencia total permitida, HSCTR = receptores de trasplantes de células madre hematopoyéticas

Nota: Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

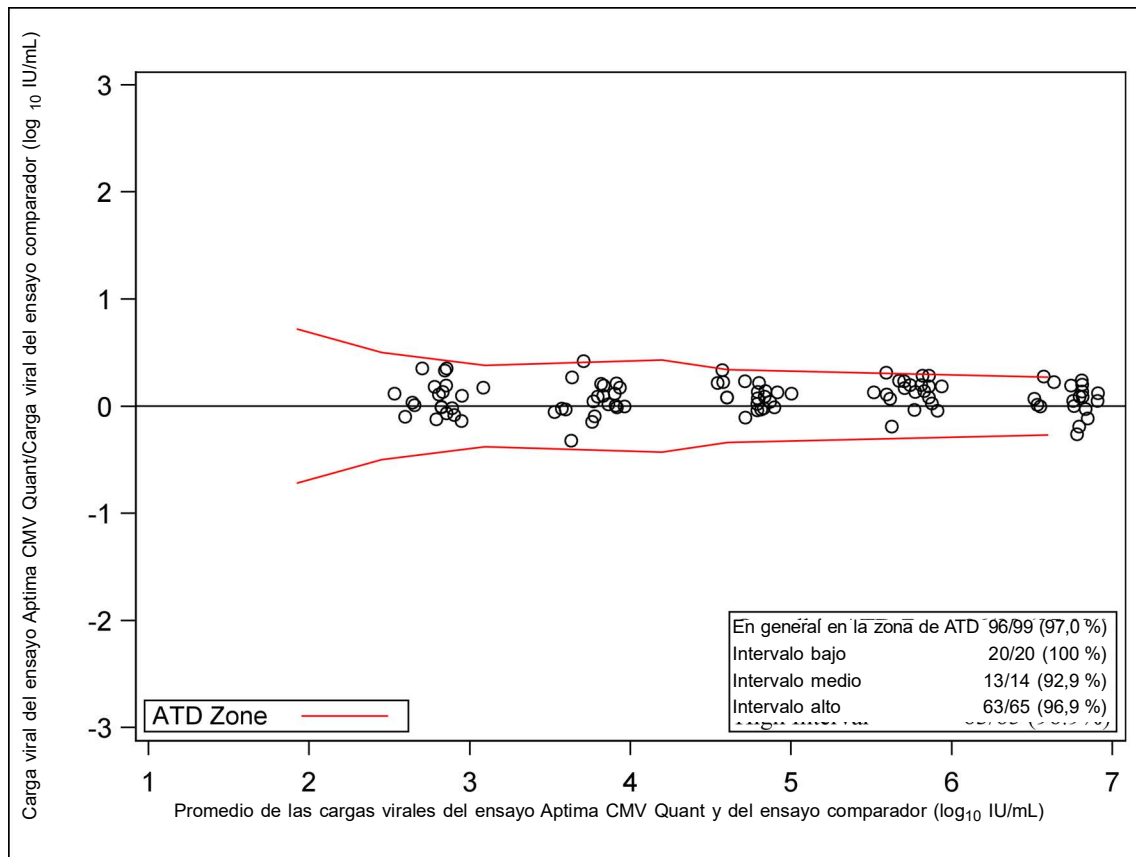


Figura 22. Gráfico de diferencia de muestras emparejadas y zona de ATD (muestras artificiales)

ATD = diferencia total permitida

Nota: Muestras emparejadas con resultados en el rango lineal común para ambos ensayos.

Bibliografía

1. **Bate SL, Dollard SC, Cannon MJ.** Cytomegalovirus Seroprevalence in the United States: The National Health and Nutrition Examination Surveys, 1988-2004. *Clinical Infectious Diseases* 2010; 50:531-540.
2. **Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB.** Review of Cytomegalovirus Seroprevalence and Demographic Characteristics Associated with Infection. *Reviews in Medical Virology* 2010;20:202-213.
3. **Wills MR, Poole E, Lau B, Krishna B, Sinclair JH.** The immunology of human cytomegalovirus latency: could latent infection be cleared by novel immunotherapeutic strategies *Cell and Mol Immunol.* 2015;12:128-138.
4. **Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.** The Third International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation. *Transplantation.* 2018;102(6):900-931.
5. **Emery VC, Sabin CA, Cope AV, et al.** Application of Viral-Load Kinetics to Identify Patients who Develop Cytomegalovirus Disease After Transplantation. *Lancet.* 2000; 10;355(9220):2032-6.
6. **Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al.** Clinical Utility of Quantitative Cytomegalovirus Viral Load Determination for Predicting Cytomegalovirus Disease in Liver Transplant Recipients. *Transplantation.* 1999; 15;68(9):1305-11.
7. **Humar A, Kumar D, Gilbert C, et al.** Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Genotypes and Response to Antiviral Therapy, in Solid-Organ–Transplant Recipients with CMV Disease. *The Journal of Infectious Diseases.* 2003;188(4):581–4,
8. **Razonable RR, Hayden RT.** Clinical Utility of Viral Load in Management of Cytomegalovirus Infection After Solid Organ Transplantation. *Clinical Microbiology Reviews.* 2013; 26(4):703-727.
9. **de la Cámara R.** CMV in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases.* 2016; 20;8(1):e2016031.
10. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
11. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
12. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2006. Metrological Traceability and Its Implementation; A Report. CLSI document EP32-R. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2014. Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline – Third Edition. CLSI document EO05-03. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Interference testing in Clinical Chemistry – Third Edition. CLSI document EP07, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Supplemental Tables for Interference Testing in Clinical Chemistry. CLSI document EP37, 1st Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2018. Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples. CLSI document EP09c, 3rd Ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
21. **1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/162),** Merlin strain

Información de contacto e historial de revisiones



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Para obtener la dirección de correo y el número de teléfono de la asistencia técnica y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Los incidentes graves que se produzcan en relación con el dispositivo en la Unión Europea deben comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o el paciente.

Hologic, Aptima y Panther Fusion son marcas comerciales o marcas comerciales registradas de Hologic, Inc. o sus filiales en Estados Unidos o en otros países.

El resto de las marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

© 2021-2024 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-27747-301 Rev. 002

2024-06

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-27747 Rev. 001	Junio de 2023	<ul style="list-style-type: none"> Se han creado las instrucciones de uso del ensayo Aptima CMV Quant AW-27747 Rev. 001 basadas en AW-25509 Rev. 003 para el cumplimiento normativo con el Reglamento sobre productos sanitarios de diagnóstico in vitro (IVDR). Se ha añadido la sección Resumen de seguridad y rendimiento. Se ha actualizado la sección Información general. Se ha actualizado la información sobre riesgos. Se han actualizado la sección Rendimiento analítico y la tabla de materiales proporcionados. Se han añadido los siguientes apartados en la sección Rendimiento clínico: Concordancia clínica, Comparación de métodos, Diferencia media de muestras emparejadas, Sesgo en niveles seleccionados de carga viral y Diferencia total permitida (ATD). Se ha actualizado la información de contacto, incluida la siguiente: información sobre el representante de la Unión Europea, el mercado CE, el representante de Australia y la asistencia técnica. Varias actualizaciones de estilo y formato.
AW-27747 Rev. 002	Junio 2024	<ul style="list-style-type: none"> Revisado para incorporar el flujo de trabajo de dilución de muestras de plasma Se han actualizado las secciones recogidas a continuación: <ul style="list-style-type: none"> Advertencias y precauciones Recogida y almacenamiento de muestras Material necesario que debe adquirirse por separado Procedimiento de prueba del Panther System Interpretación de los resultados Especificidad analítica