

REF 201400 NeuMoDx™ CMV Quant Test Strip

R only

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System

 Para ver actualizaciones en los folletos adjuntos, vaya a: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317

USO PREVISTO

El NeuMoDx CMV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* automatizada para la cuantificación del ADN del citomegalovirus (CMV) en muestras de plasma humano para los genotipos del gB1 al gB4 del CMV en personas infectadas por CMV. El NeuMoDx CMV Quant Assay implementado en el NeuMoDx 288 Molecular System y el NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Systems) incorpora la extracción automatizada de ADN para aislar el ácido nucleico diana de la muestra y la reacción en cadena de la polimerasa (RPC) inmediata para tratar las secuencias altamente conservadas en el genoma del citomegalovirus.

El NeuMoDx CMV Quant Assay está diseñado para la cuantificación *in vitro* de ADN del citomegalovirus (CMV) en muestras frescas y congeladas de plasma humano con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System. Este ensayo está diseñado para utilizarse junto con el cuadro clínico inicial y otros marcadores de laboratorio de progresión de la enfermedad para el tratamiento clínico y la supervisión de la infección por CMV. Este ensayo no está diseñado para su uso como prueba de detección de la presencia de CMV en sangre o en hemoderivados.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La sangre completa humana recogida en tubos estériles de recogida de sangre con EDTA o ACD como anticoagulante se puede utilizar para la preparación del plasma. Para preparar el análisis, el plasma recogido en un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System, se carga en el NeuMoDx System mediante un soporte de tubos de muestras designado para iniciar el procesamiento. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de 550 µl de muestra de plasma con el NeuMoDx Lysis Buffer 1 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante RCP inmediata y, si corresponde, amplificar y detectar los productos de la amplificación (secciones del genoma del CMV diana en regiones altamente conservadas). El NeuMoDx CMV Quant Assay incluye un control de proceso de muestras de ADN (Sample Process Control, SPC1) para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitorias, así como los fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse durante los procesos de extracción y amplificación.

El CMV es un virus común de ADN bicatenario de la familia de virus del herpes humano que infecta a personas de todas las edades. Se estima que a la edad de 40 años, más de la mitad de la población se habrá infectado por CMV.¹ El CMV se transmite a través de líquidos corporales como la saliva, la orina, la sangre, las lágrimas, el semen y la leche materna. Las personas inmunocompetentes infectadas por CMV suelen ser asintomáticas; sin embargo, la infección por el virus puede ser grave en los bebés y las personas con sistemas inmunitarios debilitados. Las mujeres embarazadas pueden contagiar el CMV al feto y provocar CMV congénito, lo que puede resultar en la pérdida de la audición entre otros retrasos del desarrollo psicomotor. El CMV es un patógeno importante para los pacientes inmunodeprimidos, incluidos los receptores de trasplantes de órganos sólidos, los receptores de trasplantes de células hemopoyéticas, los pacientes infectados por VIH y los pacientes tratados con fármacos inmunomoduladores.² La supervisión de la carga vírica de CMV se usa principalmente en estas poblaciones inmunodeprimidas, en las que causa muchas morbilidades, incluidas la neumonía, la enfermedad del tracto digestivo, la hepatitis y la encefalitis, y también aumenta la probabilidad de rechazo al órgano y de otras infecciones oportunistas.

El diagnóstico de la infección por CMV no se basa solamente en las pruebas de ácidos nucleicos (Nucleic Acid Testing, NAT), las pruebas NAT se usan junto con las pruebas de antígenos que implican la tinción de leucocitos polimorfonucleares (PMN) para detectar la proteína estructural temprana de la matriz inferior del CMV, así como otros síntomas que pueda presentar el paciente. La prueba de carga vírica de CMV se utiliza de manera sistemática para determinar cuándo es necesario recurrir a un tratamiento antivírico y para supervisar la efectividad de dichos tratamientos.³ Si bien las directrices actuales para la gestión y el tratamiento de las infecciones por CMV en personas inmunodeprimidas son ambiguas en cuanto a *cuándo* iniciar el tratamiento antivírico, todas ellas requieren una supervisión constante de la carga vírica una vez que se inicie el tratamiento antivírico para ayudar a mitigar los efectos secundarios graves de los medicamentos en dichas poblaciones.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx CMV Quant Assay en el NeuMoDx System utiliza la NeuMoDx CMV Quant Test Strip, los NeuMoDx CMV Calibrators, los NeuMoDx CMV External Controls, el NeuMoDx Lysis Buffer 1 y los reactivos de uso general de NeuMoDx general para realizar el análisis. El NeuMoDx CMV Quant Assay combina la extracción automatizada de ADN, la amplificación y la detección mediante RCP inmediata. Se recogen muestras de sangre completa en tubos con EDTA o ACD para la preparación del plasma. La muestra de plasma en un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System se coloca en un soporte de tubos de muestras y luego se carga en el NeuMoDx System para el procesamiento. No es necesaria ninguna otra intervención del operador.

Los NeuMoDx Systems utilizan una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis celular, la extracción del ADN y la eliminación de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con los ácidos nucleicos unidos, se cargan en el NeuMoDx Cartridge, donde los componentes no unidos y distintos del ADN se eliminan mediante el NeuMoDx Wash Reagent y el ADN unido se eluye mediante el NeuMoDx Release Reagent. A continuación, los NeuMoDx Systems utilizan el ADN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación por RCP de las dianas de SPC1 y específicas del CMV. Tras la reconstitución de los reactivos para RCP NeuDry, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para RCP en el NeuMoDx Cartridge. La amplificación y la detección de las secuencias de ADN de control y diana (si están presentes) tienen lugar en el área de la cámara de RCP del NeuMoDx Cartridge. El NeuMoDx Cartridge también está diseñado para contener el amplicón tras la RCP inmediata y prácticamente eliminar el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en el acto utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos.

Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, lo que provoca que la molécula supresora extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa de ADN Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y rompe la proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección por fluorescencia del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador de RCP cuantitativa del NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de ADN diana presente.

Se utiliza una sonda TaqMan marcada con un fluorocromo (excitación: 490 nm y emisión: 521 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el ADN del CMV. Para detectar el SPC1, la sonda TaqMan está marcada con un colorante fluorescente alternativo (excitación: 535 nm y emisión: 556 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3'. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado cualitativo final (POSITIVE [positivo], NEGATIVE [negativo], INDETERMINATE [indeterminado], UNRESOLVED [no resuelto]). Si un resultado es POSITIVE (Positivo), el software del NeuMoDx System también proporciona un valor cuantitativo asociado con la muestra o informa si la concentración calculada está dentro de los límites de cuantificación.

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
201400	NeuMoDx CMV Quant Test Strip <i>Reactivos secos para RCP que contienen sondas y cebadores TaqMan específicos de CMV, sondas y cebadores TaqMan específicos de SPC1.</i>	16	96

Reactivos y consumibles necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secos</i>
800400	NeuMoDx CMV Calibrators <i>Conjuntos de calibradores altos y bajos de CMV de un solo uso para establecer la validez de la curva estándar</i>
900401	NeuMoDx CMV External Controls <i>Conjuntos de controles positivos y negativos de CMV de un solo uso para establecer la validez diaria del NeuMoDx CMV Quant Assay</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

Instrumentos necesarios

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]

PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La NeuMoDx CMV Quant Test Strip es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems exclusivamente.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.

- Debe haber una calibración de prueba válida (generada mediante el procesamiento de calibradores altos y bajos de los NeuMoDx CMV Calibrators [REF 800400]) para que puedan generarse resultados de la prueba para muestras clínicas.
- Los NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401] se deben procesar cada 24 horas a lo largo del análisis con el NeuMoDx CMV Quant Assay.
- El volumen mínimo de muestra es 1 ml de plasma con EDTA/ACD al utilizar un soporte para 32 tubos; los volúmenes inferiores a 1 ml pueden causar un error del NeuMoDx System.
- La realización de un ensayo de CMV en muestras almacenadas a temperaturas incorrectas o que superen los tiempos de almacenamiento especificados puede dar lugar a resultados erróneos o no válidos cuando se utilice la NeuMoDx CMV Quant Test Strip.
- Evite la contaminación de todos los reactivos y consumibles con microbios y desoxirribonucleasa (DNasa) en todo momento. Se recomienda utilizar pipetas de transferencia estériles sin desoxirribonucleasa y desechables. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx CMV Quant Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual como los guantes y las batas de laboratorio y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip o de la NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superior del NeuMoDx Lysis Buffer 1; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar las superficies laterales.
- Las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) están disponibles bajo petición.
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fumar, beber ni comer en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁴ (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos) y en el documento M29-A4 del CLSI.⁵
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.

ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Todos los reactivos y consumibles NeuMoDx (con la excepción de los controles externos y los calibradores) son estables en el embalaje primario a una temperatura de entre 18 °C y 23 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto.
- Una NeuMoDx CMV Quant Test Strip cargada en el NeuMoDx System es estable durante 14 días; el software del NeuMoDx System le solicitará que retire las tiras reactivas que hayan estado en el NeuMoDx System durante más de 14 días y tendrá que abrir las nuevas NeuMoDx CMV Quant Test Strips y cargarlas en el NeuMoDx System.
- Los calibradores y controles NeuMoDx no son infecciosos, pero deben eliminarse en los desechos con riesgo biológico del laboratorio después de su uso, ya que contendrán material de analito después de procesarse en el sistema que puede causar contaminación si no se manipulan correctamente.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

1. Manipule todas las muestras como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.
2. No congele la sangre completa ni ninguna muestra almacenada en los tubos primarios.
3. Para preparar las muestras de plasma, la sangre completa se debe recoger en tubos estériles con EDTA o ACD como anticoagulantes. Siga las instrucciones del fabricante del tubo de recogida de muestras.
4. La sangre completa recogida en los dispositivos antes indicados puede almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 2°C y 25°C antes de la preparación del plasma. La preparación del plasma debe realizarse conforme a las instrucciones del fabricante.
5. Las muestras preparadas de plasma pueden permanecer en el NeuMoDx System hasta 8 horas antes del procesamiento. Si es necesario extender el tiempo de almacenamiento, se recomienda refrigerar o congelar las muestras.
6. Las muestras de plasma preparado deben almacenarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante 7 días como máximo antes de realizar la prueba y durante 8 horas como máximo a temperatura ambiente.
7. Las muestras preparadas pueden almacenarse a una temperatura ≤20 °C durante un máximo de 26 semanas para el plasma antes del procesamiento; las muestras de plasma no deben someterse a más de 2 ciclos de congelación/descongelación antes del uso.
 - a. Si las muestras están congeladas, deje que se descongelen por completo a temperatura ambiente (15-30 °C); agite en vórtex para generar una muestra distribuida de manera uniforme.
 - b. Una vez que las muestras congeladas se han descongelado, la prueba debe realizarse dentro de las 8 horas posteriores.

8. Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.
9. Etiquete claramente las muestras e indique que son para análisis del CMV.
10. Continúe con la sección *Preparación de las pruebas*.

El proceso general para la implementación del NeuMoDx CMV Quant Assay se resume a continuación en la *figura 1*.

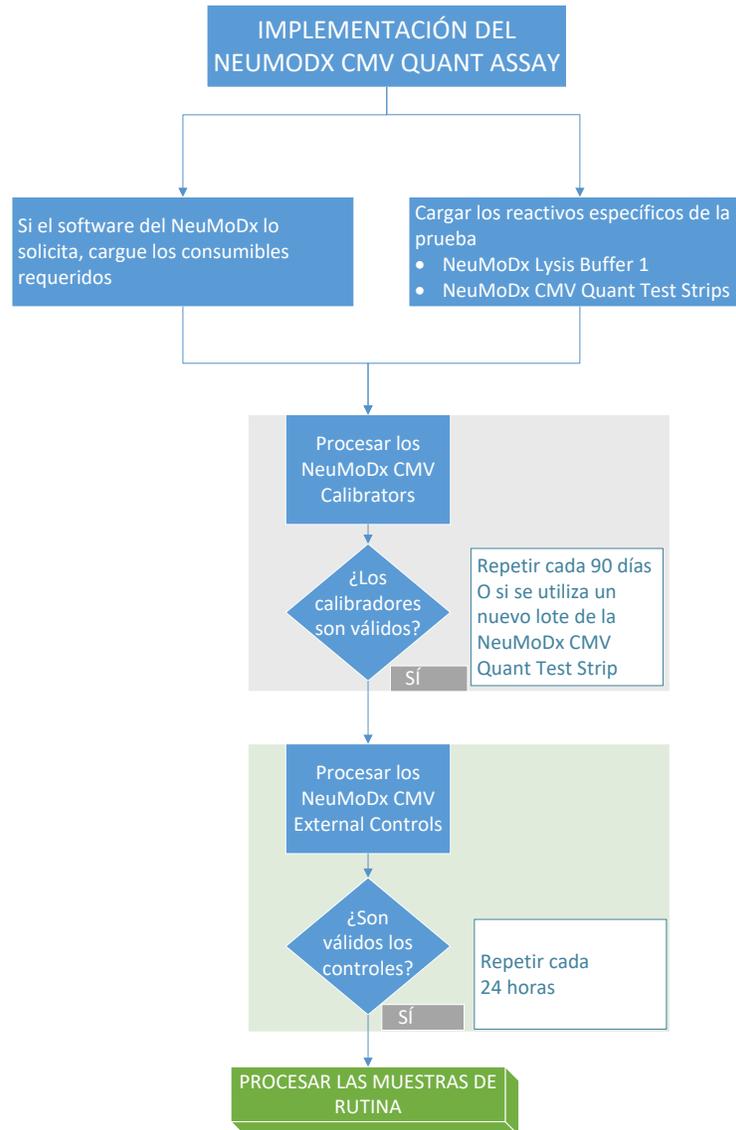


Figura 1: Flujo de trabajo de la implementación del NeuMoDx CMV Quant Assay

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de las pruebas

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System.
2. Con una pipeta de transferencia, transfiera ≥ 1 ml de plasma al tubo de muestras (secundario) con código de barras si usa el soporte para 32 tubos o >2 ml si usa el soporte para 24 tubos. Se debe tener cuidado de no transferir ningún coágulo de la muestra de plasma al tubo de muestras. Utilice una pipeta de transferencia diferente para cada muestra.

3. El tubo secundario debe cumplir con las siguientes especificaciones de tubos compatibles con el NeuMoDx System en función del soporte de tubos de muestras utilizado para el procesamiento.
 - Soporte para 32 tubos: entre 11 mm y 14 mm de diámetro y entre 60 mm y 120 mm de altura
 - Soporte para 24 tubos: entre 14,5 mm y 18 mm de diámetro y entre 60 mm y 120 mm de altura

Funcionamiento del NeuMoDx™ System

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 y del 96 Molecular Systems (ref. 40600108 y 40600317)

1. Rellene uno o más soportes de NeuMoDx System Test Strip con las NeuMoDx CMV Quant Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
2. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
3. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent, el NeuMoDx Release Reagent y vacíe los residuos de cebado o el contenedor para desechos con riesgo biológico, según corresponda.
4. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, procese los calibradores [REF 800400] y/o los controles externos [REF 900401] según sea necesario. Puede encontrar más información sobre los calibradores y los controles en la sección *Procesamiento de los resultados*.
5. Cargue los tubos de muestras/calibrador/control en un soporte estándar de 32 tubos y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos de muestras.
6. Coloque el soporte de tubos de muestras en cualquier posición abierta en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar el soporte en el NeuMoDx System. De este modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para las pruebas identificadas.

LIMITACIONES

- La NeuMoDx CMV Quant Test Strip solo puede utilizarse en NeuMoDx Systems.
- Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip para las muestras de plasma preparadas a partir de sangre completa recogida con EDTA/ACD como anticoagulante; no se ha evaluado el uso de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip con otros tipos de muestras clínicas y se desconocen las características del rendimiento de la prueba para otros tipos de muestras.
- Dado que la detección del CMV depende del número de microorganismos presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de la muestra.
- Los calibradores y controles externos deben procesarse según lo recomendado en los prospectos y según lo indicado por el software del NeuMoDx System antes del procesamiento de muestras clínicas de rutina.
- Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una confusión de los tubos de muestras. Además, podrían producirse resultados negativos falsos debido a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx CMV Quant Assay.
- El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
- Si tanto la diana del CMV como la diana del SPC1 no se amplifican, se notificará un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
- Si el resultado del NeuMoDx CMV Quant Assay es Positivo (Positivo), pero el valor de cuantificación supera los límites de la cuantificación, el NeuMoDx System informará si el CMV detectado estaba *por debajo* del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) o *por arriba* del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
- En caso de que el CMV detectado estuviera por debajo del LLoQ, el NeuMoDx CMV Quant Assay puede repetirse, si se desea, con otra alícuota de la muestra.
- En caso de que el CMV detectado estuviera por arriba del ULoQ, el NeuMoDx CMV Quant Assay puede repetirse con una alícuota diluida de la muestra original. Se recomienda una dilución de 1:100 o de 1:1000 en plasma negativo para CMV o diluyente Basematrix 53 (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). La concentración de la muestra original se puede calcular de la siguiente forma:

$$\text{concentración de la muestra original} = \log_{10}(\text{factor de dilución}) + \text{concentración notificada de la muestra diluida.}$$
- La presencia ocasional de inhibidores de la RCP en plasma puede causar un error de cuantificación en el sistema; si esto sucede, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra diluida en Basematrix en una proporción de 1:10 o de 1:100.
- Un resultado positivo no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, un resultado positivo puede indicar la presencia de ADN del citomegalovirus.
- La eliminación o las mutaciones en las regiones conservadas a las que se dirige el NeuMoDx CMV Quant Assay pueden afectar a la detección o podrían dar lugar a un resultado erróneo con la NeuMoDx CMV Quant Test Strip.

- Los resultados del NeuMoDx CMV Quant Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición; la prueba no está diseñada para diagnosticar la infección.
- Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña 'Results' (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System.

El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del NeuMoDx CMV Quant Assay utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo de NeuMoDx CMV (CMV Assay Definition File, CMV ADF). Un resultado del NeuMoDx CMV Quant Assay puede notificarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo) con una concentración de CMV notificada, Positive (Positivo) por arriba del ULoQ, Positive (Positivo) por debajo del LLoQ, Indeterminate (Indeterminado) o Unresolved (No resuelto) en función del estado de amplificación del analito y el control del procesamiento de muestras. En la *tabla 1* se notifican los resultados en función del algoritmo de decisión.

Tabla 1: Algoritmo de decisión del NeuMoDx CMV Quant Assay

Resultado	CMV	Control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1)
Positive (Positivo)	[$2 \leq Ct \leq 9$ AND (Y) $EPR > 2$ AND (Y) $EP \geq 1500$] OR (O) [$9 \leq Ct \leq 41$ AND (Y) $EP \geq 1500$]	N/A (N/D)
Positive (Positivo), por arriba del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) (\log_{10} UI/ml)	[CONC] (CONCEN.) $> 8,0 \log_{10}$ UI/ml, NO QUANT (SIN CUANT)	N/A (N/D)
Positive (Positivo), por debajo del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) (\log_{10} UI/ml)	[CONC] (CONCEN.) $< 1,3 \log_{10}$ UI/ml, NO QUANT (SIN CUANT)	N/A (N/D)
Negative (Negativo)	N/A (N/D) OR (O) [$2 \leq Ct < 9$ AND (Y) $EPR \leq 2$] OR (O) [$9 \leq Ct \leq 41$ AND (Y) $EP < 1500$] OR (O) $Ct > 41$	AMPLIFIED (AMPLIFICADO) ($28 \leq Ct \leq 34$) and (y) $EP \geq 2000$
Indeterminate (Indeterminado)	NOT AMPLIFIED/ Systems Errors Noted (No amplificado/errores del sistema observados)	
Unresolved (No resuelto)	NOT AMPLIFIED/ No System Errors Noted (No amplificado/sin errores del sistema observados)	

EP = End Point Fluorescence (fluorescencia final) (después de la corrección de la línea base); EPR = End Point Fluorescence Ratio (cociente de fluorescencia final); C_t = Cycling Threshold (umbral de ciclado);
Quant = Cantidad calculada de CMV presente expresada en \log_{10} UI/ml. Consulte Cálculo de la prueba a continuación.

Cálculo de la prueba

1. En el caso de las muestras comprendidas dentro del intervalo de cuantificación del NeuMoDx CMV Quant Assay, la concentración de ADN de CMV en las muestras se calcula usando la curva estándar guardada junto con el coeficiente de calibración.
 - a. Se calcula un "coeficiente de calibración" en función de los resultados de los NeuMoDx CMV Calibrators procesados para establecer la validez de la curva estándar para un lote en concreto de la NeuMoDx CMV Quant Test Strip en un NeuMoDx System específico.
 - b. El coeficiente de calibración se incorpora en la determinación final de la concentración de ADN del CMV.
2. Los resultados del NeuMoDx CMV Quant Assay se indican en \log_{10} UI/ml.
3. La cuantificación resultante de las muestras desconocidas concuerda con el 1.^{er} estándar internacional de la OMS para el CMV.

Calibración de prueba

Se requiere una calibración válida basada en la curva estándar para cuantificar el ADN del CMV en las muestras. Para generar resultados válidos, se debe llevar a cabo una calibración de prueba con los calibradores proporcionados por NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibradores externos

1. Los NeuMoDx CMV Calibrators se proporcionan en un kit [REF 800400] y contienen analito de CMV encapsulado no infeccioso preparado en Basematrix.
2. Se debe procesar un conjunto de CMV Calibrators con cada lote nuevo de NeuMoDx CMV Quant Test Strips, o si se carga un nuevo archivo de definición de ensayo del CMV en el NeuMoDx System, o si el conjunto de calibradores actual ha superado el periodo de validez (establecido actualmente en 90 días) o si se modifica el software del NeuMoDx System.
3. El software del NeuMoDx System indicará al usuario en qué momento se deben procesar los calibradores; no se puede usar un nuevo lote de tiras reactivas para las pruebas hasta que los calibradores se hayan procesado correctamente.
4. La validez de la calibración se establece de la siguiente manera:
 - a) Es preciso procesar un conjunto de dos calibradores, alto y bajo, para establecer la validez.
 - b) Para generar resultados válidos, al menos 2 de las 3 réplicas deben proporcionar resultados dentro de los parámetros predefinidos. El objetivo nominal del calibrador bajo es de $3 \log_{10}$ UI/ml y el del calibrador alto es de $5 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Se calcula un coeficiente de calibración para contemplar la variación esperada entre los lotes de tiras reactivas; este coeficiente de calibración se utiliza en la determinación de la concentración final de CMV.
5. Si uno o ambos calibradores no superan la comprobación de validez, repita el procesamiento de los calibradores no aprobados con un nuevo vial. En caso de que un solo calibrador no supere la comprobación de validez, es posible repetir únicamente el calibrador no aprobado, ya que el sistema no requiere que el usuario procese ambos calibradores de nuevo.
6. Si los calibradores no superan la comprobación de validez por segunda vez consecutiva, póngase en contacto con NeuMoDx Molecular, Inc.

Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

Controles externos

1. NeuMoDx Molecular, Inc. proporciona los materiales de control externo, que contienen el analito de CMV encapsulado y no infeccioso en Basematrix para controles positivos, en un kit que contiene los NeuMoDx CMV External Controls [REF 900401].
2. Los controles externos positivos y negativos deben procesarse una vez cada 24 horas. Si no existe un conjunto de controles externos válidos, el software del NeuMoDx System le indicará al usuario que se deben procesar estos controles para que puedan notificarse los resultados de las muestras.
3. Si se requieren controles externos, retire un conjunto de controles externos del congelador y deje que los viales se descongelen por completo a temperatura ambiente (15-30 °C). Agite en vórtex suavemente para garantizar la homogeneidad.
4. Con la pantalla táctil y un soporte de tubos de muestras colocado en el estante del cargador automático, cargue los viales de control positivo y negativo en el NeuMoDx System. El NeuMoDx System reconocerá los códigos de barras y comenzará a procesar los tubos de muestras a menos que los reactivos o los consumibles necesarios para el análisis no estén disponibles.
5. El NeuMoDx System evaluará la validez de los controles externos en función del resultado esperado. El control positivo debe proporcionar un resultado Positive (Positivo) para CMV y el control negativo debe proporcionar un resultado Negative (Negativo) para CMV.
6. La gestión de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
 - a) El resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo indica que existe un problema de contaminación de la muestra.
 - b) El resultado Negative (Negativo) de una prueba notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con un reactivo o con el instrumento.
 - c) En cualquiera de los casos anteriores, repita los NeuMoDx CMV External Control(s) no aprobados con un vial recién descongelado de los controles que no superaron la prueba de validez.
 - d) Si el NeuMoDx CMV External Control positivo sigue notificando un resultado Negative (Negativo), póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de NeuMoDx.
 - e) Si el NeuMoDx CMV External Control negativo sigue notificando un resultado Positive (Positivo), intente eliminar todas las fuentes de posible contaminación, lo que incluye sustituir TODOS los reactivos antes de ponerse en contacto con el servicio de atención al cliente de NeuMoDx.

Controles (internos) de proceso de muestras

Se incorpora un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) exógeno a la NeuMoDx Extraction Plate y se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y amplificación mediante RCP inmediata con cada muestra. La sonda y los cebadores específicos para el SPC1 también se incluyen en cada NeuMoDx CMV Quant Test Strip, lo que permite detectar la presencia del SPC1 junto con el ADN del CMV diana (si está presente) mediante RCP múltiple inmediata. La detección de la amplificación del SPC1 permite al software del NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ADN y amplificación por RCP.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx CMV Quant Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado, IND) o Unresolved (No resuelto, UNR) en función del tipo de error que se haya presentado.

Se notificará un resultado IND (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En el caso de que se notifique un resultado IND (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado UNR (No resuelto) si no se detecta ninguna amplificación válida del ADN del CMV ni del SPC1, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. En caso de que se notifique un resultado UNR (No resuelto), se puede repetir la prueba como primer paso. Si una nueva prueba falla, puede utilizarse una muestra diluida para mitigar los efectos de cualquier inhibición de la muestra.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica: límite de detección con el estándar de la OMS

La sensibilidad analítica del NeuMoDx CMV Quant Assay se caracterizó analizando muestras negativas y diluciones sucesivas del 1.º estándar internacional de la OMS en plasma humano de cribado negativo para determinar el límite de detección (Limit of Detection, LoD) en los NeuMoDx Systems. El LoD se definió como el nivel de diana más bajo que se detecta en una tasa del 95 % según lo determinado mediante el análisis Probit. El estudio se realizó durante 3 días en varios sistemas con varios lotes de reactivos NeuMoDx. Cada sistema procesó 18 réplicas en cada nivel de dilución por día. Las tasas de detección se muestran en la *tabla 2*.

Tabla 2: Tasas de detección positivas para la determinación del LoD del NeuMoDx CMV Quant Assay

Concentración de analitos [UI/ml]	Concentración de analitos [\log_{10} UI/ml]	PLASMA		
		Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección
50	1,70	108	108	100,0 %
30	1,48	108	107	99,1 %
25	1,40	108	106	98,1 %
20	1,30	108	105	97,2 %
15	1,18	108	99	91,7 %
NEG	---	108	0	0,0 %

Se determinó que el LoD del NeuMoDx CMV Quant Assay en plasma para la variante gB1 fue de 17,7 UI/ml (1,25 \log_{10} UI/ml) con un intervalo de confianza (IC) del 95 % de 13,8-21,0 UI/ml (1,14-1,32 \log_{10} UI/ml) [Figura 2]. El LoD entre los genotipos es de 20,0 UI/ml (1,30 \log_{10} UI/ml) según se determinó mediante análisis de la tasa de aciertos.

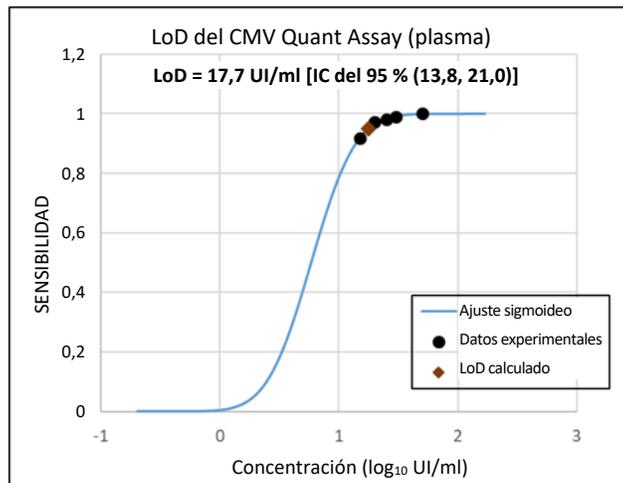


Figura 2: Análisis probit utilizado para determinar el LoD del NeuMoDx CMV Quant Assay en muestras de plasma

Sensibilidad analítica: límite de cuantificación; límite inferior de cuantificación (LLOQ)

El límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLOQ) se define como el nivel de diana más bajo en el que se logra una detección >95 % y el error analítico total (Total Analytical Error, TAE) es $\leq 1,0$. Para determinar el LLOQ, se calculó el error analítico total (Total Analytical Error, TAE) para cada uno de los niveles del analito del CMV que notificaron una detección >95 % como parte del cálculo del LoD. El TAE se define de la siguiente forma:

$$\text{TAE} = \text{sesgo} + 2 \cdot \text{SD} \text{ (estadística Westgard)}$$

El sesgo es el valor absoluto de la diferencia entre el promedio de la concentración calculada y la concentración esperada. SD se refiere a la desviación estándar (Standard Deviation, SD) del valor cuantificado de la muestra.

Los resultados compilados para los 5 niveles de las muestras de plasma de CMV (variante gB1) usadas en el estudio de LLoQ se muestran en la *tabla 3*. Basándose en este conjunto de datos y el LoD determinado previamente, se determinó que el LLoQ fue de 20,0 UI/ml (1,30 log₁₀ UI/ml) y se confirmó en los genotipos.

Tabla 3: LLoQ del NeuMoDx CMV Quant Assay, con el sesgo y el TAE

Conc. deseada [UI/ml]	Conc. deseada [log ₁₀ UI/ml]	Plasma				
		Conc. media [log ₁₀ UI/ml]	Detección (%)	SD	Sesgo	TAE
50	1,70	1,75	100,0	0,16	0,05	0,37
30	1,48	1,62	99,1	0,24	0,14	0,62
25	1,40	1,56	98,1	0,19	0,17	0,55
20	1,30	1,57	97,2	0,22	0,27	0,72
15	1,18	1,52	91,7	0,21	0,35	0,78

Según el resultado de estos estudios, se determinó que el LoD y el LLoQ del NeuMoDx CMV Quant Assay eran de 20,0 UI/ml [1,30 log₁₀ UI/ml].

Linealidad y determinación del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

Se establecieron la linealidad y el límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) del NeuMoDx CMV Quant Assay en plasma mediante la preparación de series de dilución.

con el analito de CMV encapsulado NeuMoDx y Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) con una concordancia establecida con el 1.er estándar internacional de la OMS. Se preparó un panel de 9 componentes en plasma negativo combinado para el CMV a fin de crear un panel que cubriera un intervalo de concentración de entre 8 y 1,7 log₁₀ UI/ml. Se determinó que el ULoQ del NeuMoDx CMV Quant Assay era de 8,0 log₁₀ UI/ml. Las concentraciones del ensayo de CMV notificadas por el NeuMoDx System en comparación con los valores esperados se presentan en la *figura 3*.

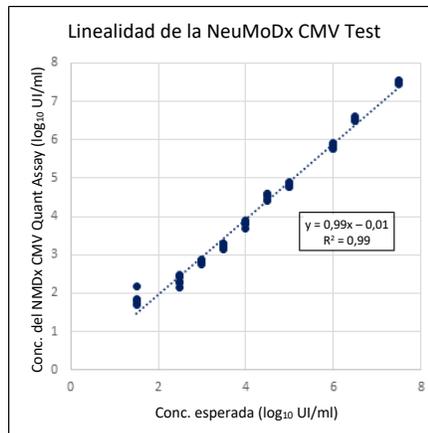


Figura 3: Linealidad del NeuMoDx CMV Quant Assay

Linealidad en los genotipos

La linealidad del NeuMoDx CMV Quant Assay en los cuatro genotipos del CMV (gB1, gB2, gB3 y gB4) se caracterizó mediante el análisis de cinco concentraciones diferentes de cada genotipo del CMV preparadas en plasma combinado negativo para CMV. Los niveles de los analitos del CMV analizados en este estudio dependían de la concentración de la muestra original y, por lo tanto, fueron diferentes entre los genotipos. El estudio se realizó analizando 6 réplicas de cada uno de los 4 genotipos en 5 concentraciones. La linealidad entre los cuatro genotipos del CMV se muestra en la *tabla 4* y la *figura 4*.

Tabla 4: Linealidad del NeuMoDx CMV Quant Assay entre los genotipos

Genotipo	Ecuación de linealidad y = cuantificación del NeuMoDx CMV Assay x = cuantificación esperada	R ²
gB1	$y = 0,960x + 0,103$	0,994
gB2	$y = 0,989x + 0,009$	0,996
gB3	$y = 1,023x + 0,099$	0,967
gB4	$y = 0,968x + 0,004$	0,992

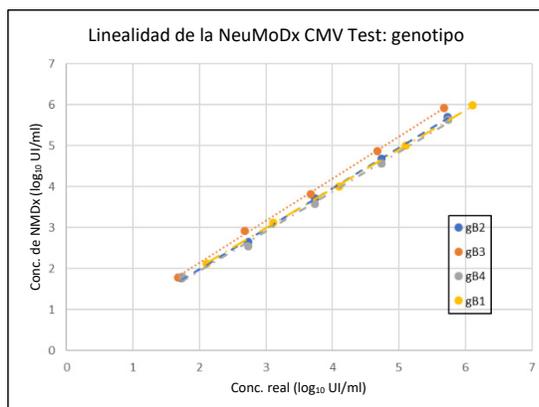


Figura 4: Linealidad del NeuMoDx CMV Quant Assay entre los genotipos

Especificidad analítica: reactividad cruzada

La especificidad analítica se mostró mediante el análisis de 35 microorganismos que pueden encontrarse frecuentemente en las muestras de sangre y plasma, así como en especies filogenéticamente similares al CMV para determinar la reactividad cruzada. Los microorganismos se prepararon en grupos de 5 a 6 microorganismos y se analizaron a una concentración elevada. Los microorganismos analizados se muestran en la *tabla 5*. No se observó reactividad cruzada con ninguno de los microorganismos analizados, lo que confirma una especificidad analítica del 100 % del NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabla 5: Patógenos utilizados para mostrar la especificidad analítica

Microorganismos no diana					
Poliomavirus BK	Adenovirus de tipo 5	Virus del herpes simple de tipo 1	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Virus de Epstein-Barr	Virus de la hepatitis C	Virus del herpes simple de tipo 2	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Virus del herpes humano de tipo 6	Parvovirus B19	Virus de la varicela-zóster	<i>Escherichia coli</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Virus del herpes humano de tipo 7	Virus JC	HIV 1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Candida albicans</i>
Virus del herpes humano de tipo 8	Virus del papiloma humano 16	HIV 2	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de la hepatitis B	Virus del papiloma humano 18	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	

Especificidad analítica: sustancias causantes de interferencias, microorganismos comensales

Se evaluó el NeuMoDx CMV Quant Assay para determinar interferencias en presencia de microorganismos no diana utilizando los mismos grupos de microorganismos que aquellos preparados para evaluar la reactividad cruzada que aparecen arriba en la *tabla 5*. Al plasma negativo para el CMV se le añadieron los microorganismos distribuidos en grupos de 4-7; y también se añadió un analito de CMV en una concentración de 3 log₁₀ UI/ml. No se observaron interferencias significativas en presencia de estos microorganismos comensales, tal como indica la desviación mínima de la cuantificación con respecto a las muestras de control que no contenían agentes causantes de interferencias.

Especificidad analítica: sustancias causantes de interferencias, sustancias endógenas y exógenas

Se evaluó el rendimiento del NeuMoDx CMV Quant Assay en presencia de sustancias exógenas y endógenas típicas causantes de interferencias que se encuentran en muestras clínicas de plasma del CMV. Estas incluían niveles anormalmente altos de hemoderivados y también de medicamentos antivirales comunes, los cuales se clasifican en la *tabla 6*. Cada sustancia se añadió a plasma humano negativo cribado para el CMV al que se añadió 3 log₁₀ UI/ml de CMV y las muestras se analizaron para detectar interferencias. Además, también se analizaron muestras de plasma de pacientes con enfermedades comunes asociadas con la infección por CMV para detectar posibles interferencias. La concentración promedio y el sesgo de todas las sustancias analizadas en comparación con las muestras de control a las que se añadió CMV del mismo nivel se informan en la *tabla 7*. Ninguna de las sustancias endógenas y exógenas influyó en la especificidad del NeuMoDx CMV Quant Assay.

Tabla 6: Análisis de interferencias: agentes exógenos (clasificaciones farmacológicas)

Grupo	Nombre del fármaco	Clasificación	Grupo	Nombre del fármaco	Clasificación
Grupo 1	Azatioprina	Inmunodepresor	Grupo 4	Trimetoprima	Antibiótico
	Ciclosporina	Inmunodepresor		Vancomicina	Antibiótico
	Foscarnet	Antivírico (Herpesviridae)		Tacrolimus	Inmunodepresor
	Ganciclovir	Antivírico (CMV)		Everolimus	Inmunodepresor
	Clorhidrato de valganciclovir	Antivírico (CMV)		Clavulanato de potasio	Antibiótico
Grupo 2	Prednisona	Corticoesteroide/inmunodepresor	Grupo 5	Famotidina	Antihistamínico
	Cidofovir	Antivírico (CMV)		Sulfametoxazol	Antibiótico
	Cefotetan	Antibiótico (amplio espectro)		Valaciclovir	Antivírico (Herpesviridae)
	Cefotaxima	Antibiótico (amplio espectro)		Letermovir	Antivírico (CMV)
	Fluconazol	Antifúngico		Ticarclina disódica	Antibiótico
Grupo 3	Micofenolato mofetilo	Inmunodepresor		Leflunomida	Inmunodepresor
	Micofenolato de sodio	Inmunodepresor			
	Piperacilina	Antibiótico			
	Sirolimus/rapamicina	Inmunodepresor			
	Tazobactam	Antibiótico modificado			

Tabla 7: Análisis de interferencias: agentes exógenos y endógenos

Endógena	Conc. media	Sesgo
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Hemoglobina	2,97	0,07
Triglicéridos	3,03	0,13
Bilirrubina	3,01	0,11
Albúmina	2,88	-0,02
Exógenos (fármacos)	Conc. media	Sesgo
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Grupo 1: Azatioprina, ciclosporina, foscarnet, ganciclovir, clorhidrato de valganciclovir	2,88	-0,02
Grupo 2: Prednisona, cidofovir, cefotetan, cefotaxima, fluconazol	2,91	0,01
Grupo 3: Micofenolato mofetilo, micofenolato de sodio, piperacilina, sirolimus/rapamicina, tazobactam	2,98	0,08
Grupo 4: Trimetoprima, vancomicina, tacrolimus, everolimus, clavulanato de potasio	3,05	0,15
Grupo 5: Famotidina, sulfametoxazol, letermovir, valaciclovir, ticarclina disódica, leflunomida	2,87	-0,03
Estado de la enfermedad	Conc. media	Sesgo
	log ₁₀ UI/ml	log ₁₀ UI/ml
Anticuerpo antinuclear (ANA)	2,90	0,00
Lupus eritematoso sistémico (LES)	3,04	0,14
Artritis reumatoide	2,99	0,09

Precisión en el laboratorio

Se determinó la precisión del NeuMoDx CMV Quant Assay analizando 3 copias de un panel de 4 componentes de las muestras de EBV preparadas con Exact CMV Positive Control (Exact Diagnostics, Fort Worth, TX) dos veces por día, utilizando dos NeuMoDx 288 Systems y un NeuMoDx 96 System durante 12 días. Se determinaron las precisiones dentro de la serie, en el día y dentro del sistema, y se determinó que la desviación estándar general fue $\leq 0,15 \log_{10}$ UI/ml. Se mostró una excelente precisión entre los sistemas, días o series, como se muestra en la *tabla 8*. No se determinó la precisión entre operadores, ya que el operador no desempeña un papel importante en el procesamiento de las muestras con el NeuMoDx System.

Tabla 8: Precisión en el laboratorio: NeuMoDx CMV Quant Assay en los NeuMoDx Systems

Conc. deseada de CMV [log ₁₀ UI/ml]	Conc. media de CMV [log ₁₀ UI/ml]	SD dentro del sistema	SD en el día	SD en la serie analítica	Global (dentro del laboratorio)
5,7	5,64	0,09	0,09	0,07	0,13
4,7	4,58	0,10	0,10	0,08	0,14
3,7	3,60	0,09	0,09	0,07	0,12
2,7	2,62	0,13	0,13	0,10	0,15

Reproducibilidad entre lotes

Se determinó la reproducibilidad entre lotes del NeuMoDx CMV Quant Assay con tres lotes de reactivos clave distintos: NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plates y las NeuMoDx CMV Quant Test Strips. Se usó un panel de 4 componentes de CMV preparado con Exact CMV Control para evaluar el rendimiento. El análisis se llevó a cabo con los tres lotes de reactivos en los tres sistemas durante 6 días. Se analizó la variabilidad del mismo lote y entre lotes distintos y los resultados se presentan en la *tabla 9*. El sesgo máximo total fue de $0,12 \log_{10}$ UI/ml y la SD máxima total fue de $0,39 \log_{10}$ UI/ml. Se mostró un rendimiento equivalente entre los lotes, ya que la cuantificación de todos los componentes del panel se encontraba dentro de la especificación de tolerancia.

Tabla 9: Reproducibilidad entre lotes: NeuMoDx CMV Quant Assay

Conc. deseada de CMV [log ₁₀ UI/ml]	Conc. media de CMV [log ₁₀ UI/ml]	N (Resultados válidos por lote)	Sesgo	SD entre lotes	SD dentro del lote	Global SD
5,7	5,65	36	0,05	0,27	0,15	0,31
4,7	4,63	36	0,07	0,22	0,13	0,26
3,7	3,58	36	0,12	0,34	0,18	0,39
2,7	2,64	36	0,06	0,12	0,14	0,18

Eficacia del control

El SPC1 está incluido en el NeuMoDx CMV Quant Assay para notificar cualquier fallo en los pasos del proceso o inhibición que afecte al rendimiento del ensayo. Se analizó la eficacia en condiciones representativas de fallos críticos de los pasos del proceso que podrían producirse durante el procesamiento de las muestras y que *es posible que no sean detectados* por los sensores que controlan el rendimiento del NeuMoDx System. Se pusieron a prueba muestras positivas (con $3 \log_{10}$ UI/ml) y muestras negativas en presencia de un control en las siguientes condiciones: presencia de inhibidor, sin administración de solución de lavado y sin expulsión de lavado. Las ineficiencias del proceso que tenían un efecto adverso en la detección o la cuantificación de CMV se reprodujeron en el rendimiento del valor diana del SPC1, tal como se muestra en la *tabla 10*. En todos los casos analizados, se mostró que el control de proceso de muestras supervisó adecuadamente las ineficiencias del proceso y la presencia de inhibidores o que la ineficiencia anticipada del proceso no tuvo un efecto adverso significativo sobre la detección del SPC1 ni sobre la detección y la cuantificación de CMV. Por tanto, el SPC1 puso de manifiesto ser satisfactorio a la hora de supervisar eficazmente el rendimiento del ensayo en el NeuMoDx System.

Tabla 10: Efectividad del control de procesos de muestras

Fallo del paso del proceso analizado	Estado de amplificación de control de procesos de muestras 1	Estado de amplificación deseado del CMV	Resultado del ensayo
Presence of Inhibitor (Presencia de inhibidor)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Delivered (Sin administración de lavado)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Blowout (Sin expulsión de lavado)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive (Positivo) con cuantificación dentro de $0,3 \log_{10}$ UI/ml de control

Tasa de resultados válidos

Se utilizó un análisis retrospectivo de los datos obtenidos durante la evaluación de rendimiento del NeuMoDx CMV Assay en los NeuMoDx Systems para la determinación del porcentaje de los resultados válidos. Los resultados válidos de la prueba se notificarán como Positive (Positivo) o Negative (Negativo); los resultados no válidos de la prueba pueden notificarse como Indeterminate (IND) (Indeterminado [IND]) o Unresolved (UNR) (No resuelto [UNR]) en función del estado de la amplificación del analito y el control de proceso de la muestra. Un resultado IND suele ser el resultado de un error del instrumento que da lugar a un fallo de amplificación del analito y/o del control del proceso interno. Se asigna un resultado UNR a las muestras cuando tanto el analito como el control de proceso interno no pueden realizar la amplificación en ausencia de un error de instrumento detectado. En el análisis retrospectivo se incluyeron 1.100 resultados individuales de NeuMoDx CMV Quant Assay, que incluían datos obtenidos en el NeuMoDx 288 System y el NeuMoDx 96 System. Se determinó que la tasa de UNR era del 0,91 % (10/1100) y que la tasa de IND era del 0,36 % (4/1100); con lo cual se cumple con el criterio de aceptación del análisis. Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que la tasa de resultados válidos del NeuMoDx CMV Assay en los NeuMoDx Systems era del 98,7 % con IC del 95 % (97,9-99,2).

Contaminación cruzada

La tasa de contaminación cruzada del NeuMoDx CMV Quant Assay se determinó mediante el análisis de tres conjuntos de muestras de CMV con muestras negativas y positivas altas alternas. En total, esto incluyó el análisis de 108 réplicas de plasma negativo para CMV y 108 réplicas de plasma de CMV añadido en 6,0 log₁₀ UI/ml. Las 108 réplicas de la muestra negativa resultaron ser negativas, lo que demuestra que no se produjo una contaminación cruzada durante el procesamiento de las muestras en el NeuMoDx System.

Equivalencia de la matriz de muestra

Se realizaron análisis para poner de manifiesto la equivalencia de la matriz de muestras entre la sangre completa recogida en tubos de recogida con ácido etilendiaminotetracético (EDTA) y ácido citrato-dextrosa (ACD) para la preparación del plasma. Se realizaron análisis adicionales para determinar la equivalencia entre las muestras de plasma frescas y congeladas (recogidas en los dos tipos de tubos). Las muestras frescas se mantuvieron a una temperatura de 4 °C hasta que se mezclaron con tres niveles de CMV y se analizaron para determinar la equivalencia. A continuación, se congelaron las muestras durante un mínimo de 24 horas a -20 °C. Tras este periodo de almacenamiento bajo congelación, se descongelaron las muestras y se volvieron a analizar. Los resultados de las muestras de plasma frescas frente a congeladas y también de las muestras de plasma con EDTA frente a ACD se compararon mediante un análisis de regresión para determinar la equivalencia. Los datos mostraron una excelente equivalencia entre las muestras de plasma con EDTA y ACD y muestras de plasma frescas y congeladas con pendientes en 0,02 de 1,0 y un sesgo muy bajo (intersección), tal como se presenta en la *tabla 11a* continuación.

Tabla 11: Equivalencia de la matriz de muestras

Requisito del parámetro	ACD frente a K2EDTA		Fresco frente a congelado	
	Fresco	Congelado	ACD	EDTA
Pendiente [0,9-1,1]	1,000	0,982	1,014	1,000
Intersección [<0,5 log ₁₀ UI/ml]	-0,050	0,018	-0,061	0,020
valor <i>p</i> >0,05	0,848	0,644	0,895	0,631

Comparación del método clínico

Se evaluó el rendimiento cuantitativo del NeuMoDx CMV Quant Assay comparándolo con ensayos comparativos aprobados por la FDA/CE mediante el análisis de las muestras clínicas no diluidas de pacientes con infección por el CMV. El análisis se realizó internamente en NeuMoDx mediante un estudio con enmascaramiento único de muestras clínicas residuales no identificadas obtenidas de cuatro laboratorios de referencia externos. Se procesaron en total 284 muestras de plasma con el NeuMoDx CMV Quant Assay con enmascaramiento (simple) en varios NeuMoDx Molecular Systems.

Los errores de procesamiento y del sistema obtenidos en los NeuMoDx Molecular Systems fueron mínimos y se cumplieron los criterios. Se obtuvieron 3 resultados Indeterminate (IND) (indeterminado) para las muestras, lo cual generó una tasa de IND inicial del 1 % con un IC del 95 % (0,27 %-3,32 %). El volumen era insuficiente para reprocesar estas 3 muestras según el flujo de trabajo normal. Inicialmente, se obtuvieron 10 resultados Unresolved (UNR) (No resuelto), pero al seguir el procedimiento recomendado de CMV Quant Assay para obtener una dilución 1:10 en Basematrix para resultados UNR, se obtuvieron resultados válidos al repetir el análisis de las 10 muestras UNR diluidas de forma adecuada. Por lo tanto, la tasa total de error de procesamiento fue del 1,06 % con un IC del 95 % (0,27-3,3 %) debido a los resultados Indeterminate (Indeterminado) que no pudieron volver a analizarse por su volumen insuficiente.

Cuatro muestras generaron un indicador de error de cuantificación y 3 de esas 4 muestras no pudieron volver a analizarse según el procedimiento recomendado utilizando una dilución 1:10 de la muestra en Basematrix para obtener un resultado cuantitativo válido. De los 283 resultados válidos obtenidos en el estudio, el NeuMoDx CMV Assay notificó 129 resultados Positive (Positivos), con los valores de concentración correspondientes asignados mediante los análisis de referencia. Para seis de esas muestras, el análisis de referencia notificó que cinco se encontraban por debajo del LLoQ y una por encima del ULoQ y, por lo tanto, un total de 123 muestras tuvo valores de concentración correspondientes asignados por el NeuMoDx CMV Quant Assay y las pruebas de CE DIV, y se usaron para el análisis de correlación cuantitativa. Se utilizaron los análisis de regresión de Deming y Passing-Bablok para establecer una correlación entre los valores de concentración del NeuMoDx CMV Assay y los valores notificados por las pruebas de referencia.

Se generaron gráficos de equivalencia para representar la correlación entre las concentraciones del NeuMoDx CMV Quant Assay y los valores de concentración de las pruebas de referencia para todas las muestras analizadas con el ajuste de regresión de Deming y Passing-Bablok, tal como se muestra en la *figura 5*.

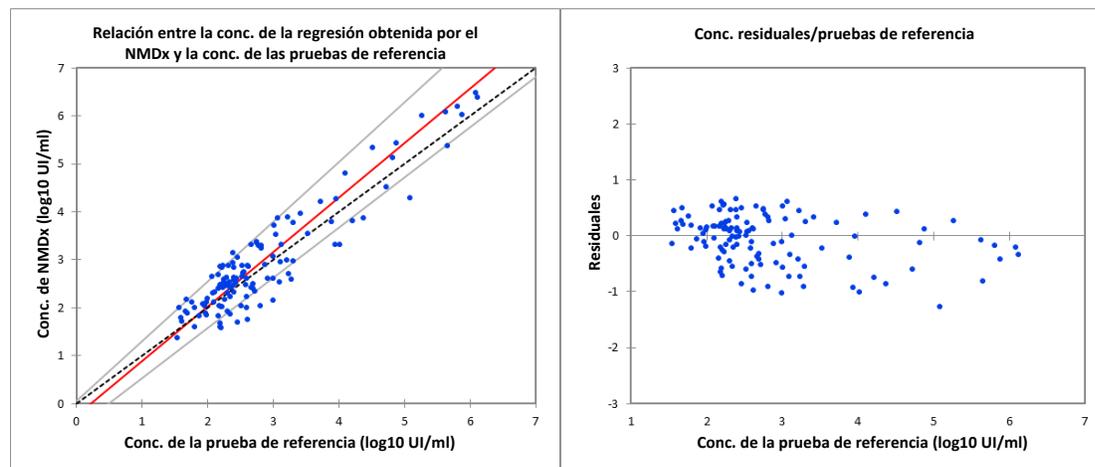


Figura 5: Gráfico de equivalencia (*izquierda*) y residual (*derecha*): análisis acumulativo (en ambos NeuMoDx Systems) de los resultados del NeuMoDx CMV Quant Assay en comparación con los resultados de la prueba de referencia de TODAS las muestras basado en el análisis de regresión de Passing-Bablok.

La calidad del ajuste de regresión de Deming se indica mediante un coeficiente de pendiente de 1,1 con un IC del 95 % (1,0; 1,2) y una intersección (sesgo) de -0,18 con un IC del 95 % (-0,39; 0,03), lo que muestra que los resultados de la concentración obtenidos entre el NeuMoDx CMV Quant Assay y las pruebas de referencia están altamente correlacionados y con un sesgo aceptable. La calidad del ajuste lineal de Passing-Bablok se indica mediante un coeficiente de pendiente de 1,1 con un IC del 95 % (1,0; 1,2) y una intersección (sesgo) de -0,24 con un IC del 95 % (-0,51; 0,06), lo que muestra que los resultados de la concentración obtenidos entre el NeuMoDx CMV Quant Assay y las pruebas de referencia están altamente correlacionados y con un sesgo aceptable, tal y como se muestra en la *tabla 12*.

Tabla 12: Resumen del análisis de regresión lineal de Deming y Passing-Bablok

Análisis de Deming		Análisis de Passing-Bablok	
Intersección	Coefficiente de pendiente	Intersección	Coefficiente de pendiente
-0,18 IC del 95 % (-0,39; 0,03)	1,1 IC del 95 % (1,0; 1,2)	-0,24 IC del 95 % (-0,51; 0,06)	1,1 IC del 95 % (1,0; 1,2)

REFERENCIAS

1. Centers for Disease Control (CDC). Cytomegalovirus (CMV) and Congenital CMV Infection. (2018). Retrieved from <https://www.cdc.gov/cmV/clinical/features.html>
2. Kraft, C. S., Armstrong, W. S., & Caliendo, A. M. (2012). Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clinical infectious diseases*, 54(12), 1793-1797.
3. A Ross, S., Novak, Z., Pati, S., & B Boppana, S. (2011). Overview of the diagnosis of cytomegalovirus infection. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, 11(5), 466-474.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.

NeuDry™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.

TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
R only	Solo para uso prescriptivo
	Fabricante
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
REF	Número de referencia
LOT	Código de lote
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura
	Limitación de humedad
	No reutilizar
	Contenido suficiente para $<n>$ pruebas
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Riesgos biológicos
CE	Marca CE



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Patrocinador (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents