

cobas[®] HSV 1 and 2 Test

para uso en el cobas[®] 4800 System

Para diagnóstico in vitro



cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235782190 P/N: 05235804190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 1	240 Tests 960 Tests	P/N: 06768253190 P/N: 06768270190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Internal Control Kit 1	20 Runs	P/N: 06768318190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit	80 Tests	P/N: 06768199190
cobas[®] 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit	10 Runs	P/N: 06768296190

TABLA DE CONTENIDO

Uso previsto

Resumen y explicación de la prueba/Principio del ensayo

Antecedentes: cribado de HSV-1 y HSV-2	4
Explicación de la prueba.....	5
Principios del ensayo	5
Preparación de las muestras.....	5
Amplificación mediante PCR y detección mediante TaqMan®	5
Amplificación selectiva.....	5

Materiales, reactivos y muestras

Materiales y reactivos suministrados.....	6
Almacenamiento y manipulación de los reactivos	13
Material adicional necesario	13
Material opcional.....	13
Equipos y programas necesarios pero no suministrados.....	14

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones.....	14
Prácticas de laboratorio recomendadas.....	15
Contaminación	15
Integridad	15
Eliminación de residuos	15
Limpieza de derrames.....	16
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	16
Obtención de las muestras	16
Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte.....	16

Instrucciones de uso

Realización de la prueba.....	17
Flujo de trabajo.....	17
Procedimiento analítico	17

Resultados

Control de calidad y validez de los resultados.....	22
Control positivo.....	22
Control negativo.....	22
Control interno.....	22
Interpretación de los resultados	22
Lista de avisos de resultados	24
Limitaciones del procedimiento.....	24

Evaluación no clínica del rendimiento.....	25
Sensibilidad analítica	25
Detección de cepas de HSV-1 y HSV-2.....	26
Precisión	27
Inhibición competitiva	28
Especificidad analítica	28
Interferencia.....	29
Rendimiento clínico con muestras clínicas	31
Información adicional	33
Características principales del ensayo	33
Símbolos	34
Asistencia técnica	36
Fabricante e importador.....	36
Copyright.....	36
Bibliografía	37
Revisión del documento.....	38

Uso previsto

La prueba cobas[®] HSV 1 y 2 para uso en el cobas[®] 4800 System es una prueba cualitativa automatizada de diagnóstico in vitro que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real para la detección directa y la tipificación de ADN del virus del herpes simple 1 y 2 (HSV-1 y HSV-2) en muestras de lesiones anogenitales obtenidas clínicamente de pacientes sintomáticos masculinos y femeninos. La prueba cobas[®] HSV 1 y 2 está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico de infecciones por HSV-1 y HSV-2 en pacientes sintomáticos.

Resumen y explicación de la prueba/Principio del ensayo

Antecedentes: cribado de HSV-1 y HSV-2

El herpes genital es una enfermedad de transmisión sexual (ETS) causada por el HSV-1 y el HSV-2, virus neurotrópicos ubicuos de tipo ADN bicatenario de la familia Herpesviridae.¹ Después de la infección primaria a través de secreciones, el virus persiste durante toda la vida. El virus puede permanecer latente durante un período prolongado de tiempo o bien causar episodios recurrentes de enfermedad sintomática reactivada; el número de recurrencias tiende a disminuir a lo largo de los años. La mayoría de los herpes genitales están causados por el HSV-2. El HSV-1 también puede provocar herpes genital, aunque generalmente causa infecciones en boca y labios. El herpes genital se suele transmitir a través de personas que no saben que están infectadas o que presentan infecciones asintomáticas.² La transmisión pre o perinatal del HSV al neonato puede causar una enfermedad grave o incluso mortal.

La infección por herpes genital es común en Estados Unidos, donde se ha observado una seroprevalencia del HSV-2 de hasta el 30% en mujeres embarazadas y podría ser superior al 50% en grupos de alto riesgo como personas con VIH y trabajadores del sexo.² Se ha observado una seroprevalencia del HSV-2 de hasta el 80% en adultos³; la seroprevalencia en mujeres llega a duplicar a la de los hombres y se incrementa con la edad.^{4,5}

Los signos y síntomas asociados al herpes son muy variados y, en un número significativo⁶ de personas infectadas, la infección permanece asintomática o sin diagnosticar. Generalmente, entre los 4 y 7 días después de un contacto sexual, puede aparecer dolor u hormigueo localizado seguido de agrupaciones bilaterales de pápulas eritematosas y vesículas en los genitales externos²; también pueden aparecer lesiones en la región perianal. Al mismo tiempo, pueden concurrir síntomas como fiebre, dolor de cabeza, malestar y linfadenopatía inguinal. La infección primaria por HSV-1 no puede distinguirse de la infección primaria por HSV-2 según criterios clínicos. Aproximadamente, entre el 70% y el 90% de la población con HSV-2 sintomático y entre el 20% y el 50% de la población con infección genital por HSV-1 sintomática sufrirá un episodio recurrente durante el primer año.⁷⁻⁹ Por lo tanto, el diagnóstico definitivo de la infección y la tipificación del virus reviste especial importancia para el inicio del tratamiento y la posterior gestión de los pacientes.¹⁰

El diagnóstico del herpes genital puede realizarse con el análisis de una muestra en torunda obtenida de lesiones anogenitales mediante cultivo seguido de inmunofluorescencia específica del tipo o mediante técnicas moleculares. Los ensayos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) combinan una elevada sensibilidad y un menor tiempo de obtención de resultados en comparación con el cultivo.^{11,12} Las pruebas de detección de anticuerpos se utilizan para el diagnóstico de infecciones por HSV latentes. La administración rápida de una terapia antiviral a las personas infectadas contribuirá a minimizar la transmisión del HSV y las complicaciones derivadas de la infección por HSV.

La prueba **cobas[®]** HSV 1 y 2 permite procesar muestras en torunda de lesiones anogenitales recogidas con el kit de obtención, transporte y conservación COPAN MSwab. Estas muestras primarias se cargan en el **cobas[®]** 4800 System, donde un proceso automatizado realiza la extracción de ácidos nucleicos y la configuración de la reacción PCR. El posterior proceso de PCR a tiempo real detecta y tipifica el ADN objetivo específico de HSV-1 y HSV-2 en la muestra. La prueba puede realizarse junto con las pruebas **cobas[®]** Cdiff y **cobas[®]** MRSA/SA en la modalidad de lote mixto durante la misma serie analítica. Las tres pruebas comparten el mismo proceso automatizado de extracción de las muestras así como el perfil de PCR para los pasos de amplificación y la detección.

Explicación de la prueba

La prueba **cobas[®]** HSV 1 y 2 se basa en dos procesos básicos: (1) preparación automatizada de las muestras para extraer ácidos nucleicos de las muestras de lesiones anogenitales; (2) amplificación mediante PCR de secuencias de ADN objetivo con ayuda de cebadores (primers) específicos para HSV-1 y HSV-2 y detección a tiempo real simultánea de sondas de detección de oligonucleótidos escindidas mediante marcadores fluorescentes específicas para HSV-1 y HSV-2. Antes de la preparación automatizada de las muestras, se añade un control interno, que contiene una secuencia aleatoria no relacionada de ADN, a todas las muestras y se amplifica y detecta simultáneamente en cada muestra para supervisar el proceso completo.

Principios del ensayo

Preparación de las muestras

La preparación de las muestras para la prueba **cobas[®]** HSV 1 y 2 se realiza de forma automática en el equipo **cobas x** 480. Se lleva a cabo la lisis de los virus de las muestras de lesiones anogenitales mediante un agente caotrópico, proteinasa K y reactivos SDS. Los ácidos nucleicos liberados, junto con el ADN del control interno añadido, se unen mediante micropartículas magnéticas. A continuación, se lavan y se eluden en un volumen reducido de tampón. El equipo extrae entonces una alícuota del material eluido y prepara la reacción PCR con la mezcla maestra activada.

Amplificación mediante PCR y detección mediante TaqMan[®]

Los pasos de la ciclación por PCR y la detección de la señal objetivo se producen en el analizador **cobas z** 480. El reactivo de mezcla maestra contiene pares de cebadores y sondas para cinco objetivos: la región B de la ADN polimerasa y la región C de la timidina quinasa del HSV-1; la región del extremo 3' de la glicoproteína B y la región C de la timidina quinasa del HSV-2 y el control interno. El diseño de detección doble para el HSV-1 y el HSV-2 mejora la solidez del ensayo. Si las secuencias objetivo de ácidos nucleicos están presentes, la amplificación con los cebadores correspondientes se producirá mediante ADN polimerasa termoestable que generará productos de PCR (amplicones). Estos productos se detectan mediante sondas TaqMan específicas que contienen un marcador fluorescente y un enmascarador. Por lo general, el enmascarador suprime la señal fluorescente del marcador. Sin embargo, con la presencia de un producto de PCR, la sonda se hibridiza con el producto y se escinde por la actividad de las nucleasas 5'-3' de la polimerasa. Esta reacción permite al marcador emitir la fluorescencia y el analizador **cobas z** 480 registra la señal a tiempo real durante cada ciclo de PCR. La señal se interpreta con el programa del **cobas[®]** 4800 System y se comunica como resultados finales.

Amplificación selectiva

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos objetivo de la muestra se logra en la prueba **cobas[®]** HSV 1 y 2 mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen

desoxiuridina¹³, pero no del ADN que contiene desoxitimidina. El ADN natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en los amplicones debido al empleo de trifosfato de desoxiuridina en lugar de trifosfato de timidina como uno de los dNTP del reactivo de mezcla maestra; por lo tanto, solamente el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina hace que la enzima AmpErase pueda destruir el amplicón contaminante antes de realizar la amplificación del ADN del fragmento objetivo. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico para alcanzar el pH alcalino de la mezcla maestra, la cadena de ADN del amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, lo que hace que el ADN ya no pueda amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo. La prueba **cobas**® HSV 1 y 2 ha demostrado que inactiva un mínimo de 1.000 copias del amplicón de HSV 1 y 2 que contiene desoxiuridina por cada ciclo de PCR.

Materiales, reactivos y muestras

Materiales y reactivos suministrados

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas ® 4800 System Sample Preparation Kit 240 pruebas (P/N: 05235782190)	MGP (Micropartículas magnéticas para el cobas ® 4800 System) Micropartículas magnéticas 93% de isopropanol**	10 × 4,5 ml	 PELIGRO H225 Líquido y vapores muy inflamables. H319 Provoca irritación ocular grave. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo. P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P370 + P378 En caso de incendio: Utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (Tampón de elución para el cobas ® 4800 System) Tampón Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 960 pruebas (P/N: 05235804190)	MGP (Micropartículas magnéticas para el cobas® 4800 System) Micropartículas magnéticas 93% de isopropanol**	10 × 13,5 ml	 PELIGRO H225 Líquido y vapores muy inflamables. H319 Provoca irritación ocular grave. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo. P210 Mantener alejado del calor, de superficies calientes, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P370 + P378 En caso de incendio: Utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (Tampón de elución para el cobas® 4800 System) Tampón Tris 0,09% de azida sódica	10 × 18 ml	N/A

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
<p>cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 pruebas (P/N: 06768253190)</p>	<p>LYS-1 (Tampón de lisis 1 para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio 5% de polidocanol** 42,6% de tiocianato de guanidina** Ditiotreitolo**</p>	<p>10 × 10 ml</p>	<p></p> <p>PELIGRO H302 + H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 pruebas (P/N: 06768253190)	PK (Proteinasa K para el cobas® 4800 System) Tampón Tris EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio < 2,0% de proteinasa K** Glicerina	10 × 0,9 ml	 <p>PELIGRO H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Utilice guantes protectores. P284 Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteinasa, serina de Triticachium album</p>
	SDS (Reactivo SDS para el cobas® 4800 System) Tampón Tris Sodecilsulfato sódico 0,09% de azida sódica	10 × 3 ml	N/A

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
<p>cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 pruebas (P/N: 06768270190)</p>	<p>LYS-1 (Tampón de lisis 1 para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio 5% de polidocanol** 42,6% de tiocianato de guanidina** Ditiotreitól**</p>	<p>10 × 36 ml</p>	 <p>PELIGRO H302 + H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 pruebas (P/N: 06768270190)	PK (Proteinasa K para el cobas® 4800 System) Tampón Tris EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio < 2,0% de proteinasa K** Glicerina	20 × 1,2 ml	 <p>PELIGRO H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Utilice guantes protectores. P284 Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteinasa, serina de Tritirachium album</p>
	SDS (Reactivo SDS para el cobas® 4800 System) Tampón Tris Sodecilsulfato sódico 0,09% de azida sódica	10 × 9 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 pruebas (P/N: 05235863190)	WB (Tampón de lavado para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 pruebas (P/N: 05235871190)	WB (Tampón de lavado para el cobas® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 × 200 ml	N/A
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 series (P/N: 06768318190)	IC-1 (IC-1 cobas® 4800) Tampón Tris EDTA < 0,01% de ARN Poli rA (sintético) 0,05% de azida sódica < 0,01% de ADN de control interno sintético no infeccioso, encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda	20 × 0,5 ml	N/A

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit 80 pruebas (P/N: 06768199190)	HSV MMX (Mezcla maestra cobas® HSV 1 y 2) Tampón tricina EDTA Acetato de potasio Hidróxido potásico Tween 20 Glicerol < 0,19% de dATP, dCTP, dGTP y dUTP < 0,01% de cebadores ascendentes y descendentes para HSV-1, HSV-2 y control interno < 0,01% de sondas con marcador fluorescente para HSV-1, HSV-2 y control interno < 0,01% de aptámero oligonucleótido < 0,01% de ADN polimerasa Z05 (microbiana) < 0,02% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) 0,09% de azida sódica	10 × 0,3 ml	N/A
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit 10 series (P/N: 06768296190)	HSV (+) C (Control positivo cobas® HSV 1 y 2) Tampón Tris EDTA < 0,01% de ARN poli Ar (sintético) 0,05% de azida sódica < 0,01% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de HSV 1 < 0,01% de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de HSV 2	10 × 0,5 ml	N/A
	(-) C (Control negativo para el cobas® 4800 System) Tampón Tris EDTA 0,05% de azida sódica < 0,01% de ARN poli Ar (sintético)	10 × 0,5 ml	N/A
	Cofactor-2 (Cofactor-2 cobas® 4800) Acetato de manganeso Acetato de magnesio 0,09% de azida sódica	10 × 1,7 ml	N/A

* Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

** Sustancia peligrosa.

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

Reactivo	Temperatura de almacenamiento	Periodo de almacenamiento
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de preparación de muestras para el cobas® 4800 System)	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Kit de lisis 1 para el cobas® 4800 System)	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Kit de control interno 1 para el cobas® 4800 System)	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Amplification/Detection Kit (Kit de amplificación/detección cobas® 4800 HSV 1 y 2)	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 HSV 1 and 2 Controls and Cofactor Kit (Kit de controles y cofactor cobas® 4800 HSV 1 y 2)	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de tampón de lavado para el cobas® 4800 System)	15-25 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada

Nota: no congele los reactivos.

La fecha de caducidad de los reactivos se basa en el tiempo universal coordinado (UTC). La hora local para la caducidad de los reactivos puede variar en ± 12 horas, en función de la zona horaria local con relación al UTC.

Material adicional necesario

Material	P/N
Puntas CORE, 1.000 μ l, bandeja de 96	04639642001
Depósito de reactivo de 50 ml	05232732001
Depósito de reactivo de 200 ml	05232759001
Placa de extracción (plasmoteca) para el cobas® 4800 System	05232716001
Placa de amplificación y detección (PCR) de 0,3 ml y plástico de sellado para el cobas® 4800 System	05232724001
Sellador	04900383001
Transportador de 32 posiciones	04639529001
Bolsa para residuos sólidos	05530873001 (pequeña) o 04691989001 (grande)
Salida de plástico Hamilton STAR	04639669001
Sistema de obtención, transporte y conservación MSwab	7007248190 o COPAN 404C.R
Guantes desechables, sin polvo	Se aceptan todos los tipos de guantes desechables sin polvo.
Agitador (un solo tubo)	Se aceptan todos los tipos de agitadores.

Para obtener más información sobre el material de venta independiente, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Material opcional

Material	P/N
Tapa para placa de plasmoteca	Hamilton 6474-01
Tapones de color blanco (para volver a tapar las muestras primarias después del análisis)	07033893001 o COPAN 2U008N100.R

Para obtener más información sobre el material opcional, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Equipos y programas necesarios pero no suministrados

Equipos y programas necesarios, no suministrados
cobas® 4800 System Equipo cobas x 480 Analizador cobas z 480 Unidad de control
Programa cobas® HSV 1 y 2 AP para el cobas® 4800 System versión 1.0.0 o superior
Programa de aplicaciones (Core) para el cobas® 4800 System versión 2.2.0 o superior

Para obtener más información sobre el material de venta independiente, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial utilizar las prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad analítica de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos, las muestras y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico in vitro exclusivamente.
- Evite la contaminación microbiana y del ADN de los reactivos y las muestras.
- Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheets, SDS) en las oficinas locales de Roche.
- El reactivo LYS-1 contiene tiocianato de guanidina. Evite el contacto directo entre el tiocianato de guanidina y el hipoclorito de sodio (lejía) u otros reactivos altamente reactivos como ácidos o bases. Tales mezclas pueden producir gases nocivos.
- MGP contiene isopropanol y es altamente inflamable. Mantenga el producto lejos de las llamas y lugares donde puedan producirse chispas.
- Los reactivos EB, HSV 1 and 2 MMX, SDS, Cofactor-2, (-)C, HSV 1 y 2 (+)C e IC-1 contienen azida sódica.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas x 480** instrument o el **cobas z 480** analyzer, consulte la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**. Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**.

- Informe a la autoridad competente local de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Nota: *para obtener instrucciones específicas, consulte el apartado “Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras”.*

Prácticas de laboratorio recomendadas

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio.
- Lávese a conciencia las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si no se actúa adecuadamente. Si se producen derrames, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado de etanol al 70%.

Contaminación

- A fin de evitar la contaminación, es obligatorio el uso de guantes durante la manipulación de las muestras y los reactivos **cobas**® HSV 1 y 2, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Utilice guantes y bata de laboratorio junto con protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit.
- Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos.
- Podrían obtenerse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante su manipulación.
- Las muestras deben tratarse como material infeccioso, por lo que deben utilizarse procedimientos de seguridad de laboratorio como los descritos en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁴ y en el documento M29-A3 del CLSI.¹⁵

Integridad

- No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
- No haga pools con los reactivos.
- No utilice elementos desechables caducados.
- Los elementos desechables son de un solo uso. No deben reutilizarse.
- Debe realizarse un correcto mantenimiento del equipo, de acuerdo con lo establecido en las instrucciones del fabricante.
- No utilice reactivos o recipientes que se hayan dañado o que muestren indicios de contener fugas.

Eliminación de residuos

- Los reactivos **cobas**® 4800 y los reactivos específicos de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 contienen azida sódica (consulte el apartado “Advertencias y precauciones”). La azida sódica puede

reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.

- Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.

Nota: *para la eliminación de residuos líquidos, consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.*

Limpieza de derrames

- El reactivo LYS-1 contiene tiocianato de guanidina. Si se derrama líquido que contenga tiocianato de guanidina, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. Si el líquido vertido contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie PRIMERO el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- Si el derrame se produce sobre el **cobas® 4800** instrument, siga las instrucciones de limpieza que se detallan en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**.
- No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el equipo **cobas x 480** o el analizador **cobas z 480**. Limpie el **cobas x 480** instrument o el **cobas z 480** analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Nota: *manipule todas las muestras como si pudieran transmitir agentes infecciosos.*

Obtención de las muestras

Las muestras de lesiones anogenitales recogidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab han sido validadas para su uso con la prueba **cobas® HSV 1 y 2**. Las muestras deben obtenerse de acuerdo con el procedimiento descrito en el apartado “Procedimiento de obtención de las muestras” y según los procedimientos normalizados de trabajo de su centro.

Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte

Las muestras de lesiones anogenitales recogidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab permanecen estables durante el transporte y el almacenamiento a 2-30 °C durante 4 días o bien a 2-8 °C durante 14 días; si se congelan, son estables durante 30 días como mínimo antes de proceder a su análisis en el **cobas® 4800 System** (datos comprobados con el análisis de muestras después de un almacenamiento consecutivo a 31 ± 1 °C durante 4 días, seguido de un almacenamiento a 2-8 °C durante 14 días y, finalmente, un almacenamiento a -20 °C durante 30 días).

El transporte de las muestras de HSV 1 y 2 debe cumplir la reglamentación nacional, federal, estatal y local para el transporte de agentes etiológicos.

Instrucciones de uso

Realización de la prueba

Flujo de trabajo

Ilustración 1: Flujo de trabajo de cobas® HSV 1 y 2

1	Inicie el sistema.
2	Efectúe el mantenimiento del equipo.
3	Extraiga las muestras y los reactivos del almacenamiento.
4	Inicie la serie analítica: <ul style="list-style-type: none"> • Cargue las bandejas con las muestras.
5	Con LIS: confirme la petición de trabajo. Sin LIS: cree la petición de trabajo.
6	Cargue los consumibles (placa de plasmoteca, placa de PCR, bandejas de puntas) y los reactivos.
7	Inicie la serie de preparación de las muestras.
8	Descargue y selle la placa de PCR.
9	Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de plasmoteca.
10	Cargue la placa de PCR en el analizador.
11	Revise los resultados.
12	Con LIS: envíe los resultados al LIS.
13	Descargue el analizador.

Procedimiento analítico

Procedimiento de obtención de las muestras

Una obtención correcta de la muestra del paciente es fundamental para conseguir unos resultados óptimos. Puede consultar las instrucciones específicas sobre la obtención de muestras y la detección de virus en los manuales de referencia publicados (CLSI M41-A).¹⁷

Para obtener unos resultados óptimos, las muestras para la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 deberían obtenerse en la fase aguda de la enfermedad siempre que sea posible, preferiblemente en el plazo de entre 3 días y 7 días después del inicio de la enfermedad (erupción de lesiones).

Las muestras deben recogerse de acuerdo con los procedimientos normalizados de trabajo de su centro y/o los siguientes:

A. Con vesículas (ampolla llena de líquido transparente)

1. Lave/limpie la superficie de la lesión con solución salina estéril.
 2. Rompa con cuidado la vesícula con una torunda FLOQSwab (método preferido), una aguja o un bisturí y recoja el líquido con la FLOQSwab.
 3. Con la misma FLOQSwab, frote vigorosamente la base de la vesícula para recoger células de la base de la lesión.
 4. Introduzca la torunda en su tubo de transporte MSwab. Haga palanca con el mango de la torunda contra el borde del tubo para romperlo por el punto de corte.
 5. Cierre bien el tapón asegurándose de que el extremo superior del mango de la torunda está situado en el centro del tapón.
- B. Sin vesículas (vesícula reventada o exudativa o úlcera con costra)
1. Sin costra (vesícula reventada y/o exudativa)
 - a. Con la ayuda de una torunda FLOQSwab seca o humedecida previamente con dos gotas de solución salina fisiológica estéril, frote vigorosamente la base de la lesión para obtener células.
 - b. Introduzca la torunda en el tubo de transporte MSwab. Haga palanca con el mango de la torunda contra el borde del tubo para romperlo por el punto de corte.
 - c. Cierre bien el tapón asegurándose de que el extremo superior del mango de la torunda está situado en el centro del tapón.
 2. Lesión con costra (úlceras con costra)
 - a. Levante la costra con cuidado con la ayuda de una torunda FLOQSwab humedecida previamente con solución salina estéril.
 - b. Obtenga la muestra frotando vigorosamente la base de la lesión.
 - c. Un método alternativo consiste en raspar suavemente la lesión con un bisturí o una aguja estériles hasta que aparezca líquido seroso (evite el sangrado). A continuación, recoja la muestra con una torunda FLOQSwab humedecida previamente frotando con vigor la base de la vesícula.
 - d. Introduzca la torunda con la muestra en el tubo de transporte MSwab. Haga palanca con el mango de la torunda contra el borde del tubo para romperlo por el punto de corte.

Etiquete la muestra y transpórtela al laboratorio de análisis de acuerdo con los procedimientos normalizados de trabajo de su centro (consulte también el apartado “Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras”). Consulte el apartado “Flujo de trabajo” para obtener información adicional sobre las muestras.

Todos los reactivos, excepto MMX y Cofactor-2 para HSV 1 y 2, deben estar a temperatura ambiente antes de introducirlos en el equipo **cobas x 480**. Los reactivos MMX y Cofactor-2 para HSV 1 y 2 pueden obtenerse directamente del almacenamiento a 2-8 °C, puesto que alcanzarán la temperatura ambiente para cuando vayan a ser utilizados después de cargarse en el equipo **cobas x 480**.

Nota: *consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener información detallada sobre el funcionamiento.*

Tamaño de la serie

El **cobas® 4800 System** admite la modalidad de lote mixto entre las pruebas **cobas® HSV 1 y 2**, **cobas® Cdiff** y **cobas® MRSA/SA**. El kit de preparación de muestras genérico para el **cobas® 4800 System**, el kit de lisis 1 genérico para el **cobas® 4800 System** y el kit de tampón de lavado genérico para el **cobas® 4800 System** se encuentran disponibles en dos tamaños de kit, ambos suficientes para 10 series de hasta 24 o

96 muestras, y que incluyen controles y muestras para el análisis de todos los ensayos. El kit de amplificación/detección **cobas**® 4800 HSV 1 y 2 se encuentra disponible en dos tamaños, ambos suficientes para analizar hasta 80 o 240 muestras, y que incluyen controles y muestras de HSV 1 y 2 para el análisis. Pueden utilizarse varios viales de reactivo de mezcla maestra **cobas**® 4800 HSV 1 y 2 tal como sea necesario en una serie, siempre y cuando sean del mismo tamaño de kit. El kit de control interno 1 genérico para el **cobas**® 4800 System y el kit de controles y cofactor **cobas**® 4800 HSV 1 y 2 se encuentran disponibles en un único tamaño de kit, el cual es suficiente para 20 y 10 series, respectivamente, y admiten todas las configuraciones de series de análisis. Para cada serie con muestras de HSV 1 y 2, se deben analizar un control positivo **cobas**® 4800 HSV 1 y 2 así como un control negativo para el **cobas**® 4800 System (consulte el apartado “Control de calidad”). Para una serie de análisis individual, el número máximo de muestras permitido es 94 muestras y 2 controles.

Nota: *se puede utilizar un reactivo genérico para 96 pruebas para una serie de 1-22 muestras, si bien no supone una utilización óptima de los reactivos. Sin embargo, no es posible mezclar tamaños distintos del kit de tampón de lavado para el **cobas**® 4800 System (WB), del kit de preparación de muestras para el **cobas**® 4800 System ni del kit de lisis 1 para el **cobas**® 4800 System. Por ejemplo, si se escanea una botella de reactivo WB para 96 pruebas en el momento de iniciar la serie analítica, es preciso utilizar reactivos con un tamaño para 96 pruebas de los otros dos kits.*

Nota: *se puede utilizar un reactivo MMX para HSV 1 y 2 en el **cobas**® 4800 System para 24 pruebas en una serie de 1-6 muestras de HSV, si bien no supone una utilización óptima de los reactivos. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para obtener información detallada sobre el cambio de tamaño del kit.*

Flujo de trabajo

La prueba **cobas**® HSV 1 y 2 se realiza mediante el flujo de trabajo completo del programa **cobas**® 4800. Consta de la preparación de las muestras en el **cobas x** 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el **cobas z** 480 analyzer. La serie puede analizarse únicamente para la prueba HSV 1 y 2 o bien en la modalidad de lote mixto con las pruebas **cobas**® Cdiff y/o **cobas**® MRSA/SA. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para obtener información detallada.

Muestras

Nota: *la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 ha sido validada para su uso con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab. No utilice otros tipos de dispositivos o medios de recogida en torunda.*

Nota: *una muestra de lesión anogenital en torunda recogida correctamente debe contener una sola torunda flocada con el mango capturado por el tapón. Las muestras recibidas sin torunda o con más de una torunda no han sido recogidas de acuerdo con las instrucciones y no deben analizarse.*

Nota: *no procese muestras de lesiones anogenitales con aspecto sangriento o de color marrón oscuro.*

Nota: *las muestras deben encontrarse en recipientes de muestras primarias con un código de barras adecuado para su procesamiento en el equipo **cobas x** 480. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para conocer los procedimientos adecuados referentes a los códigos de barras y la lista de códigos de barras compatibles con el **cobas**® 4800 System.*

Nota: *para evitar la contaminación cruzada, se recomienda procesar los tubos primarios en el **cobas**® 4800 System antes de realizar otros pasos de procesamiento y análisis.*

Nota: *para evitar la contaminación cruzada de las muestras procesadas, utilice tapones adicionales para el recipiente de muestra MSwab de un color distinto (blanco, consulte el apartado “Material opcional”) para volver a tapar las muestras después de procesarlas.*

Nota: *las muestras en torunda de lesiones anogenitales obtenidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab contienen volumen suficiente para dos ensayos en el cobas® 4800 System. El volumen mínimo para realizar una serie cobas® HSV 1 y 2 es de 700 µl en el recipiente de muestra primaria MSwab.*

Realización de la prueba cobas® HSV 1 y 2

Nota: *es posible realizar series de lote mixto entre las pruebas cobas® HSV 1 y 2 y cobas® Cdiff y/o cobas® MRSA/SA. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener más información.*

1. Inicie el sistema y lleve a cabo los procedimientos de mantenimiento con ayuda de las instrucciones que aparecen en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**.
2. Reúna todos los reactivos y consumibles necesarios. Los reactivos deben encontrarse a temperatura ambiente en el momento de iniciar la serie, a excepción de los reactivos MMX y Cofactor-2 para **cobas® HSV 1 y 2**.

Nota: *todos los reactivos y los depósitos de reactivos tienen códigos de barras y están diseñados para un solo uso. El programa cobas® 4800 realiza un seguimiento del uso de los reactivos y de los depósitos de reactivos y rechaza los reactivos o depósitos de reactivos usados previamente.*

3. Compruebe la apariencia de las muestras de lesiones anogenitales recogidas con el sistema MSwab y asegúrese de que cumplen los requisitos especificados en el apartado “Muestras”. Cerciórese de que todos los tapones están apretados. Agite la mezcla durante un mínimo de 5 segundos. Destape el tubo (la parte superior de la torunda debe quedar capturada por el tapón) y gire la torunda presionando la pared interna del tubo para eliminar el exceso de líquido. Deseche el tapón con la torunda justo antes de la carga de la muestra en el **cobas® 4800 System**. Asegúrese de que la torunda se extrae con el tapón. Si la torunda queda dentro del vial de muestra, puede interferir con la prueba **cobas® HSV 1 y 2**.
4. Inicie una serie nueva y defina una petición de trabajo para la misma. Existen tres formas de crear una petición:
 - Mediante el editor de muestras antes de cargar la bandeja de muestras en el equipo **cobas x 480** (botón “Editor” a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario.
 - Mediante las instrucciones del asistente del programa para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el equipo **cobas x 480** cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y deben definirse los resultados solicitados para cada muestra.
 - Mediante el sistema LIS de su centro.

Consulte la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System** para obtener información detallada. Elija “HSV 1 and 2” cuando seleccione los resultados solicitados.

5. Cargue las muestras y defina/seleccione la petición de trabajo o utilice el LIS, según corresponda. La opción “Unload sample carriers after transferring to deep well plate” está seleccionada de forma predeterminada. Esta opción permite al usuario recuperar las muestras restantes tan pronto como sea posible después de extraer alícuotas para su procesamiento en el equipo **cobas x 480**. Los recipientes de muestras deben volverse a tapar con un dispositivo de cierre nuevo (consulte el apartado “Material opcional”) si precisan almacenamiento.

6. Siga las instrucciones del asistente del programa y cargue los consumibles. No cargue ni extraiga puntas individuales en una bandeja para puntas parcialmente utilizada puesto que el programa controla el número de puntas que quedan. En el caso de no haber puntas suficientes para realizar la serie, el programa emitirá una alerta para el usuario.
7. Cargue los reactivos para la preparación de las muestras en los depósitos de reactivos con código de barras. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del programa para seleccionar el tamaño correcto de depósito de reactivo. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben estar colocados frente al lateral derecho de la bandeja. Utilice el método de doble identificación y llenado para cargar los reactivos para la preparación de las muestras:
 - Leer el código de barras de la botella de reactivo
 - Leer el código de barras del depósito de reactivo
 - Verter el reactivo en el depósito
 - Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

Nota: el cobas® 4800 System posee un reloj interno que supervisa el tiempo que llevan cargados los reactivos. Tras leer el WB, se concede 1 hora para completar el proceso de carga y hacer clic en el botón “Start”. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema no permite iniciar la serie si se ha superado el tiempo de carga permitido.

Nota: para garantizar una transferencia precisa de MGP, agite contundentemente el vial de MGP justo antes de dispensarlo en el depósito de reactivo.

8. Cargue los reactivos de amplificación/detección (MMX y Cofactor-2 para HSV 1 y 2), la proteinasa K (PK) y los controles [(+) C, IC y (-) C para HSV 1 y 2] directamente en los transportadores de reactivos. A fin de evitar la contaminación, cámbiese de guantes después de manipular los controles positivos.

Nota: el asistente del programa calculará el número óptimo y el tamaño del reactivo MMX para cobas® HSV 1 y 2 que debe utilizarse. El resultado se mostrará en la columna “Kit size” de la pantalla de carga de MMX y Cofactor. Para utilizar un tamaño distinto del reactivo MMX para cobas® HSV 1 y 2, haga clic en el botón “Change kit size”.

9. Haga clic en “Start run” para iniciar la preparación de las muestras.
10. Si la serie de preparación de las muestras se realiza correctamente, se activan los botones “Sample Preparation results” y “Unload”. Si lo desea, seleccione el botón “Sample Preparation results” para revisar los resultados y seleccione a continuación “Unload” para descargar el transportador de placas. También puede seleccionar “Unload” para descargar el transportador de placas sin revisar los resultados. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
11. Siga las instrucciones indicadas en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para sellar la microplaca, transportar la placa al cobas z 480 analyzer y empezar la serie de amplificación y detección.

Nota: el cobas® 4800 System posee un reloj interno que supervisa el tiempo transcurrido tras añadir las muestras preparadas a la mezcla maestra activada. La amplificación y la detección se deben iniciar tan pronto como sea posible, nunca después de los 90 minutos posteriores a la finalización de la serie del equipo cobas x 480. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema cancela la serie si el cronómetro agota el tiempo.

12. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la placa de PCR del analizador cobas z 480.

13. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para revisar y aceptar los resultados.

Resultados

Control de calidad y validez de los resultados

En cada serie se incluye un juego de control positivo y negativo para la prueba **cobas**® HSV 1 y 2. Para todas las series, es necesario haber obtenido resultados válidos tanto para el control positivo como para el control negativo para que el programa **cobas**® 4800 muestre los resultados de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 de dicha serie.

Control positivo

El control (+) para HSV 1 y 2 contiene ADN plasmídico no infeccioso de HSV-1 y HSV-2. El control (+) para HSV 1 y 2 supervisa los pasos de extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos en una serie concreta de la prueba. El resultado del control (+) para HSV 1 y 2 debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control (+) para HSV 1 y 2 no son válidos de forma recurrente, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control negativo

El control (-) debe tener el valor "Valid". Si los resultados obtenidos para el control (-) no son válidos de forma recurrente, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control interno

El control interno es una molécula fago lambda que contiene secuencias aleatorias y fragmentos objetivo de los cebadores y la sonda específicos para el control interno. El control interno debe añadirse a todas las pruebas y a los controles positivos y negativos durante la preparación de las muestras en el equipo **cobas x** 480. El control interno supervisa los pasos de extracción, amplificación y detección de ácidos nucleicos en una muestra concreta. El control interno también se requiere para la validación de los controles de la serie.

Interpretación de los resultados

Nota: el programa **cobas® 4800 lleva a cabo la validación de los ensayos y las series.**

Nota: una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.

En las series consideradas válidas, los resultados de las muestras se interpretan tal como se indica en la Tabla 1.

Tabla 1: Interpretación de los resultados de la prueba cobas® HSV 1 y 2

Prueba cobas® HSV 1 y 2	Notificación e interpretación de los resultados
POS HSV 1, POS HSV 2	Positiva para HSV-1, positiva para HSV-2 La muestra es positiva para el ADN de HSV-1 y HSV-2.
NEG HSV 1, NEG HSV 2	Negativa* para HSV-1, negativa* para HSV-2 No se ha podido detectar la presencia de ADN de HSV-1 ni de HSV-2.
NEG HSV 1, POS HSV 2	Negativa* para HSV-1, positiva para HSV-2 No se ha podido detectar la presencia de ADN de HSV-1. La muestra es positiva para el ADN de HSV-2.
POS HSV 1, NEG HSV 2	Positiva para HSV-1, negativa* para HSV-2 La muestra es positiva para el ADN de HSV-1. No se ha podido detectar la presencia de ADN de HSV-2.
Invalid HSV 1, NEG HSV 2	No válida para HSV-1, negativa* para HSV-2 El resultado para HSV-1 no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para HSV-1. No se ha podido detectar la presencia de ADN de HSV-2.
NEG HSV 1, Invalid HSV 2	Negativa* para HSV-1, no válida para HSV-2 No se ha podido detectar la presencia de ADN de HSV-1. El resultado para HSV-2 no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para HSV-2.
Invalid HSV 1, Invalid HSV 2	No válida para HSV-1, no válida para HSV-2 Ambos resultados (HSV-1 y HSV-2) no son válidos. La muestra original debe volverse a analizar para obtener resultados válidos para HSV-1 y HSV-2.
Invalid HSV 1, POS HSV 2	No válida para HSV-1, positiva para HSV-2 El resultado para HSV-1 no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para HSV-1. La muestra es positiva para el ADN de HSV-2.
POS HSV 1, Invalid HSV 2	Positiva para HSV-1, no válida para HSV-2 La muestra es positiva para el ADN de HSV-1. El resultado para HSV-2 no es válido. La muestra original debe volverse a analizar para obtener un resultado válido para HSV-2.
Failed	Muestra sin resultados Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener instrucciones sobre la revisión de los avisos de la serie y las acciones recomendadas. La muestra original debe volverse a agitar durante 5 segundos como mínimo y analizarse de nuevo para obtener resultados válidos para HSV.

* Un resultado negativo no implica la presencia de HSV-1 y/o HSV-2 porque los resultados dependen de una recogida adecuada de las muestras, de la ausencia de inhibidores y de que haya ADN suficiente para detectarlo.

Pueden obtenerse resultados no válidos si la muestra contiene sustancias inhibitoras que impiden la extracción y/o amplificación y detección de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo. Consulte el apartado "Limitaciones del procedimiento" para obtener una lista de las sustancias interferentes. En el caso de obtener resultados no válidos, diluya la muestra original añadiendo 0,2 ml de ella en un nuevo vial de MSwab. Agite durante un mínimo de 5 segundos y vuelva a realizar el ensayo.

Pueden obtenerse resultados erróneos si la muestra contiene coágulos que interfieren en el procedimiento de preparación de las muestras en el equipo cobas® 4800.

Lista de avisos de resultados

En la siguiente tabla se indican los avisos relevantes para la interpretación de los resultados.

Tabla 2 Lista de avisos para la prueba cobas® HSV 1 y 2

Prueba cobas® HSV 1 y 2	Prueba cobas® HSV 1 y 2	Notificación e interpretación de los resultados
R20	El control positivo no es válido.	Un control externo no es válido. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R21	El control negativo no es válido.	Un control externo no es válido. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
X3	Error: se ha detectado un coágulo y no se ha podido procesar la muestra.	Asegúrese de que las muestras se hayan manipulado según la descripción del flujo de trabajo. 1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra. 2. Vuelva a analizar la muestra.
X4	Error: se ha producido un error de pipeteo. No se ha procesado la muestra.	Lo más probable es que el volumen de muestra sea insuficiente o se haya producido un error mecánico durante el pipeteo. 1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente. 2. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada. 3. Vuelva a analizar la muestra.

Limitaciones del procedimiento

1. La prueba **cobas®** HSV 1 y 2 ha sido validada únicamente para su uso con muestras de lesiones anogenitales recogidas con el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab.
2. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos que encontrará en este documento de instrucciones de uso (también denominado “prospecto”), en los prospectos del sistema de obtención, transporte y conservación MSwab y en la Asistencia al usuario del **cobas®** 4800 System.
3. Pueden obtenerse falsos negativos o resultados no válidos debido a la interferencia de diversas sustancias. En la prueba **cobas®** HSV 1 y 2 se incluye un control interno para identificar las muestras que contengan sustancias que puedan interferir en el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR. Entre las sustancias interferentes conocidas se incluyen, entre otras:
 - Las muestras que contienen sangre en un volumen superior al 40% del volumen absorbido por torunda pueden generar resultados falsos negativos. No analice muestras que presenten un color rojo oscuro o marrón.
 - Las muestras con un contenido superior a 4,8 mg de mucina por torunda pueden generar resultados falsos negativos.
 - Las muestras con un contenido superior a 1,6 mg de heces por torunda pueden generar resultados falsos negativos.
 - Las muestras con un contenido de 20 mg o superior de crema Vagisil pueden generar resultados falsos negativos.

4. Un resultado positivo indica la presencia de ADN de HSV y no necesariamente de virus viables. Un resultado negativo no descarta la presencia de HSV, si bien cabe la posibilidad de existir insuficiente ADN en la muestra clínica.
5. Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden interferir en la detección de variantes nuevas o no conocidas, lo que resulta en un falso negativo con el ensayo **cobas**® HSV 1 y 2.
6. El valor predictivo de un ensayo depende de la prevalencia de la enfermedad en una población concreta.
7. La incorporación de la enzima AmpErase a la mezcla maestra **cobas**® 4800 HSV 1 y 2 permite realizar una amplificación selectiva del ADN objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar las prácticas de laboratorio recomendadas y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos y de las mezclas de amplificación.
8. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del **cobas**® 4800 System.
9. Solamente el equipo **cobas x** 480 y el analizador **cobas z** 480 se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.
10. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. No cabe esperar un porcentaje de concordancia del 100% entre los resultados debido a las diferencias entre tecnologías indicadas anteriormente.
11. La contaminación cruzada puede causar resultados falsos positivos. Según un estudio no clínico, la tasa de contaminación cruzada entre muestras de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 en el **cobas**® 4800 System es del 1,18% tras análisis de muestras positivas muy altas y negativas alternantes en varias series. No se ha observado contaminación cruzada entre series.

Evaluación no clínica del rendimiento

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LOD) de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 se ha determinado mediante el análisis cuantitativo de cultivos víricos de HSV-1 y HSV-2 diluidos a varios niveles de concentración en una matriz simulada de torundas con lesiones anogenitales. La matriz simulada compuesta por mucina y células humanas reproduce el efecto de fondo de muestras anogenitales clínicas en la prueba **cobas**® HSV 1 y 2. Todos los niveles se analizaron con 21 réplicas como mínimo mediante el flujo de trabajo completo de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 en cinco lotes de reactivos de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2. El LOD de esta prueba es la concentración objetivo que puede detectarse como positiva en $\geq 95\%$ de las réplicas analizadas, según los resultados generados por el lote con un peor rendimiento.

Las cepas MacIntyre del HSV-1 y G del HSV-2 se analizaron en el estudio de sensibilidad analítica. En la Tabla 3 se muestra el LOD de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 para estos aislados.

Tabla 3: LOD (límite de detección) de la prueba cobas® HSV 1 y 2

Microorganismo	Cepa	ID ATCC	Niveles analizados	LOD (unidades TCID ₅₀ /ml)
HSV-1	MacIntyre	VR-539	6	0,479
HSV-2	G	VR-734	6	0,112

Detección de cepas de HSV-1 y HSV-2

Los límites de detección de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 para 4 cepas del HSV-1 (VR-260, VR-733, VR-735 y VR-1493) y 3 cepas del HSV-2 (VR-1779, VR-1781 y VR-540) se verificaron mediante el análisis de 40 réplicas por nivel a varios niveles de concentración. Las diluciones y muestras para el análisis se prepararon de manera similar al estudio del límite de detección (LOD). En la Tabla 4 y la Tabla 5 se indican los niveles mínimos con una tasa de positividad observada de un 95% como mínimo.

Tabla 4: LOD (límite de detección) de la prueba cobas® HSV 1 y 2 para cepas del HSV-1

Cepas del HSV-1	ID ATCC	Niveles analizados	LOD (unidades TCID ₅₀ /ml)
KOS	VR-1493	5	3,41
HF	VR-260	6	14,07
F	VR-733	5	5,20
MP	VR-735	4	0,04

Tabla 5: LOD (límite de detección) de la prueba cobas® HSV 1 y 2 para cepas del HSV-2

Cepas del HSV-2	ID ATCC	Niveles analizados	LOD (unidades TCID ₅₀ /ml)
ATCC-2011-2	VR-1779	5	0,26
ATCC-2011-4	VR-1781	5	0,24
MS	VR-540	5	2,34

Precisión

La precisión interna se determinó con los virus HSV-1 y HSV-2 diluidos en una matriz simulada de torundas anogenitales con niveles de concentración por debajo del límite de detección (LOD), próximos al LOD y superiores al LOD de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2. También se analizó un nivel negativo compuesto únicamente por la matriz simulada de torundas anogenitales. En el estudio se utilizaron tres lotes únicos de reactivos de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 y tres instrumentos para un total de 36 series realizadas durante 12 días. En la Tabla 6 figura una descripción de los paneles de precisión y los resultados del estudio. Se realizó un análisis de la variación de los valores de Ct procedentes de pruebas válidas con miembros del panel positivo en concentraciones superiores al LOD. El análisis arrojó un CV global (%) del 2,2% para el Ct del HSV-1 y del 1,9% para el Ct del HSV-2 (consulte la Tabla 7 y la Tabla 8).

Tabla 6: Análisis de la tasa de positividad del estudio de precisión interna

Miembro del panel	Concentración		HSV-1 (N=72)			HSV-2 (N=72)		
	HSV-1	HSV-2	Resultados positivos	Tasa de positividad	LC superior bilateral al 95%	Resultados positivos	Tasa de positividad	LC superior bilateral al 95%
P1	Negativa	Negativa	0	0%	5%	0	0%	5%
P2	< LOD	< LOD	36	50%	62%	40	56%	67%
P3	~ LOD	Negativa	72	100%	100%	0	0%	5%
P4	Negativa	~ LOD	0	0%	5%	71	99%	100%
P5	~3 x LOD	~ LOD	72	100%	100%	72	100%	100%
P6	~ LOD	~ 3 x LOD	72	100%	100%	72	100%	100%

Tabla 7: Análisis de los componentes de variación para el panel de precisión a 3 x LOD (límite de detección)

Fragmento objetivo	Nivel de HSV	Ct medio	Componentes de variación/Porcentaje de contribución al total					
			Lote	Tamaño del kit	Instrumento	Serie/Día	Aleatorios	Total
HSV-1	~ 3 x LOD	37,4	0	0,06	0	0,355	0,289	0,704
			0%	8,60%	0%	50,40%	41,10%	100%
HSV-2	~ 3 x LOD	38,2	0,035	0	0,049	0,102	0,345	0,53
			6,50%	0%	9,10%	19,30%	65,00%	100%

Tabla 8: Análisis de las desviaciones estándar y los coeficientes de variación (%) para el panel de precisión a 3 x LOD (límite de detección)

Fragmento objetivo	N	Ct medio	Componentes de desviación estándar/CV (%)					
			Lote	Tamaño del kit	Instrumento	Serie/Día	Aleatorios	Total
HSV-1	72	37,4	0	0,245	0	0,595	0,538	0,839
			0%	0,70%	0%	1,60%	1,40%	2,20%
HSV-2	72	38,2	0,186	0	0,22	0,32	0,587	0,728
			0,50%	0%	0,60%	0,80%	1,50%	1,90%

Inhibición competitiva

Se formaron paneles con HSV-1 con un LOD (límite de detección) ~ 3 x el de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2, así como con HSV-2 competitivo a ~ 300 x LOD, y viceversa. Una concentración 100 veces mayor del HSV-1 no afectó a la detección del HSV-2 a una concentración ~ 3 x LOD y una concentración 100 veces mayor del HSV-2 no afectó a la detección del HSV-1 a una concentración ~ 3 x LOD.

Especificidad analítica

Para valorar la especificidad analítica de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 se analizaron los siguientes paneles de organismos: 1) 71 bacterias, hongos y virus que pueden estar presentes en muestras anogenitales en torunda (Tabla 9), 2) células humanas (Tabla 9) y 3) HSV-1 o HSV-2 de título elevado (Tabla 9). Se añadieron todos los organismos, las células humanas y los virus HSV-1 y HSV-2 a 1×10^6 unidades*/ml como mínimo, a excepción de *Treponema pallidum*, virus del herpes humano 8, *Chlamydia trachomatis* serovar H, *Mycoplasma genitalium* y *Mycoplasma hominis*, los cuales se añadieron en concentraciones inferiores debido a las limitaciones de concentración de stock. El análisis se realizó con organismos y células humanas únicamente para determinar la especificidad analítica de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 o bien en presencia de HSV-1 y HSV-2 a ~ 3 x LOD para valorar la posible interferencia de los organismos y las células humanas en la detección del HSV-1 y del HSV-2 por parte de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2. Los resultados indicaron que ninguno de estos organismos o una concentración elevada de células humanas producía falsos positivos en ausencia de HSV-1 y HSV-2 objetivo. Ninguno de estos organismos ni una concentración elevada de las células humanas interfirió en la detección de los fragmento objetivo de HSV-1 y HSV-2. Una concentración elevada de HSV-1 ($1e6$ vp/ml) no produjo falsos positivos para HSV-2 y una concentración elevada de HSV-2 ($1e6$ vp/ml) no produjo falsos positivos para HSV-1.

*Todas las bacterias se cuantificaron como unidades formadoras de colonias (UFC), a excepción de *Chlamydia trachomatis* serovar H y *Chlamydia trachomatis* serovar I, las cuales se cuantificaron como unidades formadoras de inclusión (UFI); los microorganismos *Toxoplasma gondii* y *Treponema pallidum* se cuantificaron como copias de ADN y el *Trichomonas vaginalis* se cuantificó en células. El citomegalovirus (HHV5), el virus del herpes humano 6B cepa Z29, el virus del herpes humano 7 cepa SB, el virus del herpes humano 8, el echovirus 11, el enterovirus humano 71 y el virus de la rubeola se cuantificaron como unidades TCID₅₀; el HHV-6A cepa GS, el HSV-1 y el HSV-2 se cuantificaron en partículas víricas y, finalmente, el HIV-1 cepa IIIB y el HBV se cuantificaron en unidades internacionales (UI). El HIV-2 cepa NIH-Z, el virus de Epstein-Barr (HHV4), el virus de la varicela zóster (HHV3) y los plásmidos del HPV (HPV11, HPV16, HPV18, HPV06) se cuantificaron como copias de ADN. Las células mononucleares de sangre periférica humana (CMSP) se cuantificaron como número de células.

Tabla 9: Microorganismos y células analizados para especificidad analítica

Adenovirus humano tipo 7	<i>Staphylococcus aureus</i> (SARM)	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Citomegalovirus (HHV5)	<i>Staphylococcus aureus</i> (SASM)	<i>Moraxella lacunata</i>
Virus de Epstein-Barr (HHV4)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Virus de la varicela zóster (HHV3)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> *
Virus del herpes humano 6A cepa GS	<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma hominis</i> *
Virus del herpes humano 6B cepa Z29	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar H*	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Virus del herpes humano 7 cepa SB	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar I	<i>Neisseria meningitidis</i>
Virus del herpes humano 8*	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
Echovirus 11	<i>Clostridium difficile</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
Enterovirus 71	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
HBV	<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>
HIV-1 cepa IIIB	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
HIV-2 cepa NIH-Z	<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	<i>Streptococcus mitis</i>
HPV11	<i>Enterococcus faecium</i> vanA	<i>Streptococcus mutans</i>
HPV16	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
HPV18	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
HPV6	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
Virus de la rubeola	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Treponema pallidum</i> *
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>ozaenae</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	CMSP (ADN genómico humano)
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	Virus del herpes simple 1
<i>Candida albicans</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i> spp. <i>curtisii</i>	Virus del herpes simple 2
<i>Candida glabrata</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-

* El virus del herpes humano 8 se analizó a $1,3 \times 10^4$ unidades TCID₅₀/ml; *Chlamydia trachomatis* serovar H se analizó a $1,9 \times 10^4$ UFI/ml; *Mycoplasma genitalium* se analizó a $1,0 \times 10^5$ UFC/ml; *Mycoplasma hominis* se analizó a $1,5 \times 10^4$ UFC/ml; *Treponema pallidum* se analizó a $9,0 \times 10^4$ copias/ml.

Interferencia

Se analizaron 20 productos de uso común y medicamentos antivirales disponibles en el mercado, así como sangre total, albúmina sérica humana, orina, heces y mucina en busca de posibles efectos interferentes con la prueba cobas® HSV 1 y 2. Todos los productos disponibles en el mercado se analizaron a unos niveles iguales o superiores (20 mg o 40 mg por torunda respectivamente para sólidos y el 100% de capacidad de la torunda para líquidos) a lo que cabría esperar razonablemente en una torunda de lesión anogenital. Todos los antivíricos se analizaron a $3 \times C_{max}$ en la muestra recogida. Se añadieron los virus HSV-1 y HSV-2 a un límite de detección (LOD) $\sim 3 \times$ de la prueba cobas® HSV 1 y 2 y se utilizaron como valores objetivo de los ensayos.

No se observó ninguna interferencia de los productos disponibles en el mercado, excepto con la crema Vagisil (se observó una interferencia a 20 mg). En el caso de la sangre total, no se observaron interferencias hasta el 40% de la capacidad de la torunda; para la mucina, no se observaron interferencias hasta 4,8 mg por torunda: para orina, no se observaron interferencias hasta el 100% de la capacidad de la

torunda; para las heces, no se observaron interferencias hasta 1,6 mg por torunda y para la albúmina sérica humana, no se observaron interferencias hasta 16 mg por torunda. Los resultados se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10: Resultados del análisis de sustancias interferentes

Sustancia	Interpretación
Sangre total	Ninguna interferencia observada hasta el 40% de capacidad de la torunda
Mucina	Ninguna interferencia observada hasta 4,8 mg por torunda
Orina	Ninguna interferencia observada
Heces	Ninguna interferencia observada hasta 1,6 mg por torunda
Albúmina sérica humana	Ninguna interferencia observada hasta 16 mg por torunda
K-Y Jelly (lubricante íntimo)	Ninguna interferencia observada
Gynol II (gel espermicida)	Ninguna interferencia observada
Supositorios YeastGard	Ninguna interferencia observada
Monistat 1	Ninguna interferencia observada
Monistat 3	Ninguna interferencia observada
VagiStat 1	Ninguna interferencia observada
Crema vaginal Clotrimazole	Ninguna interferencia observada
Crema para hemorroides Preparation H	Ninguna interferencia observada
Crema para el herpes labial Abreva	Ninguna interferencia observada
Crema para tratamiento de herpes labial Releev	Ninguna interferencia observada
Crema Acyclovir	Ninguna interferencia observada
Crema Vagisil	Interferencia observada a 20 mg*
Loción limpiadora higiénica Balneol	Ninguna interferencia observada hasta 20 mg*
Crema antipicoros Vagicaïne	Ninguna interferencia observada hasta 20 mg*
Ducha vaginal VH Essentials	Ninguna interferencia observada
Denavir	Ninguna interferencia observada
Famciclovir	Ninguna interferencia observada
Valacyclovir	Ninguna interferencia observada
Cidofovir	Ninguna interferencia observada
Aciclovir	Ninguna interferencia observada

* 20 mg es la cantidad habitual de producto no líquido que absorbe directamente una torunda flocada.

Rendimiento clínico con muestras clínicas

Se comparó el rendimiento de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 con una avanzada prueba de ácidos nucleicos (NAAT) de comparación autorizada por la FDA y con marcado CE. Se obtuvieron dos muestras anogenitales de cada sujeto inscrito en el estudio. La muestra para la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 se obtuvo mediante el sistema de obtención, transporte y conservación MSwab, mientras que la muestra para la prueba de comparación se obtuvo mediante el sistema de transporte de virus universal COPAN.

Se recogieron un total de 370 torundas de lesiones anogenitales en varios centros de Estados Unidos y se analizaron con la prueba **cobas**® HSV-1 y 2 y con la prueba de comparación. Había 33 muestras positivas al HSV-1 y 147 positivas al HSV-2 según la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 (prevalencia: 8,9% al HSV-1, 39,7% al HSV-2). El rendimiento de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 con la prueba NAAT de comparación sin resolución discrepante se muestra en la Tabla 11. Los resultados discrepantes entre la prueba **cobas**® HSV 1 y 2 y la prueba de comparación se resolvieron mediante la técnica de secuenciación. Después de la resolución de las discrepancias, se calculó la sensibilidad y la especificidad de la prueba **cobas**® HSV 1 y 2. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 11: Resultados de la prueba cobas® HSV 1 y 2 y la prueba de ácidos nucleicos (NAAT) comparativa

HSV-1		NAAT de comparación		
		Positiva	Negativa	Total
cobas ® HSV 1 y 2	Positiva	31	2	33
	Negativa	1	336	337
	Total	32	338	370
		Estimación	IC inferior unilateral al 95%	
Porcentaje de concordancia de positividad		96,9%	86,0%	
Porcentaje de concordancia de negatividad		99,4%	98,1%	

HSV-2		NAAT de comparación		
		Positiva	Negativa	Total
cobas ® HSV 1 y 2	Positiva	127	20	147
	Negativa	0	223	223
	Total	127	243	370
		Estimación	IC inferior unilateral al 95%	
Porcentaje de concordancia de positividad		100%	97,7%	
Porcentaje de concordancia de negatividad		91,8%	88,3%	

Tabla 12: Resultados de la prueba cobas® HSV 1 y 2 y la prueba de ácidos nucleicos (NAAT) comparativa después de la resolución de discrepancias

HSV-1		NAAT de comparación		
		Positiva	Negativa	Total
cobas® HSV 1 y 2	Positiva	32	1	33
	Negativa	0	337	337
	Total	32	338	370
		Estimación	IC inferior unilateral al 95%	
Sensibilidad*		100%	91,1%	
Especificidad*		99,7%	98,6%	

HSV-2		NAAT de comparación		
		Positiva	Negativa	Total
cobas® HSV 1 y 2	Positiva	141	5	146
	Negativa	0	223	223
	Total	141	228	369**
		Estimación	IC inferior unilateral al 95%	
Sensibilidad*		100%	97,9%	
Especificidad*		97,8%	95,4%	

* únicamente se secuenciaron las muestras discrepantes para resolver la discrepancia.

** se excluyó del análisis una muestra discrepante sin datos de secuenciación disponibles.

Según los valores estimados de sensibilidad y especificidad después de la resolución de discrepancias mediante secuenciación, los valores predictivos positivos observados de la prueba **cobas®** HSV 1 y 2 para las muestras del estudio es del 97,0% para HSV-1 y del 96,8% para HSV-2; los valores predictivos negativos observados son del 100% para HSV-1 y HSV-2.

Información adicional

Características principales del ensayo

Tipo de muestra	Muestras de lesiones anogenitales
Cantidad de muestra necesaria	1,6 ml de medio MSwab en viales primarios; se necesitan 700 µl como mínimo para una prueba cobas ® HSV 1 y 2.
Duración de la prueba	Los resultados están listos al cabo de 2,5 horas de la carga de la muestra en el sistema (entre 1 y 22 muestras).
Sensibilidad analítica	0,479 unidades TCID ₅₀ /ml para HSV-1 (cepa MacIntyre, ATCC VR-539); 0,112 unidades TCID ₅₀ /ml para HSV-2 (cepa G, ATCC VR-734)
Especificidad	Sin reactividad cruzada con 71 organismos estrechamente relacionados o que suelen estar presentes en las muestras de lesiones anogenitales. No se observaron falsos positivos para el HSV-2 en presencia de 1×10^6 vp/ml de HSV-1; no se observaron falsos positivos para el HSV-1 en presencia de 1×10^6 vp/ml de HSV-2.
Inclusividad	Se analizaron 5 cepas del HSV-1 y 4 cepas del HSV-2.

Símbolos

Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

Tabla 13: Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos para diagnóstico mediante PCR de Roche

 Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	 UI QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
 Software auxiliar	 Dispositivo no apto para autoexamen	
 Intervalo asignado (copias/ml)	 Distribuidor (Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)	 Número de serie
 Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 Centro
 Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 Procedimiento estándar
 Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Esterilizado con óxido de etileno
 Código de serie	 Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	 Almacenar en la oscuridad.
 Riesgo biológico	 Importador	 Límite de temperatura
 Número de catálogo	 Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Archivo de definición de pruebas
 Marca CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el mercado CE de un producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Límite inferior del intervalo asignado	 Este lado hacia arriba
 Fecha de recogida	 Fabricante	 Procedimiento ultrasensible
 Consulte las instrucciones de uso	 Control negativo	 Identificación exclusiva del dispositivo
 Suficiente para $<n>$ pruebas	 Sin esterilizar	 Límite superior del intervalo asignado
		 Línea de llenado de orina

CONTENT Contenido del kit

 Nombre del paciente

Rx Only

Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.

CONTROL Control

 Número del paciente



Fecha de caducidad

 Fecha de fabricación

 Abrir aquí

 Dispositivo para pruebas cerca del paciente

CONTROL + Control positivo

 Dispositivo para autoexamen

QS copies / PCR

Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabla 14: Fabricante e importador



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

Fabricado en Estados Unidos



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim
 Germany

Marcas registradas y patentes

Este producto está cubierto por una o más patentes de EE. UU. con n.º 8097717, 8192958, 10059993, 10358675, 8609340, 9234250 y 6727067 y por las patentes equivalentes extranjeras.

COBAS, TAQMAN y AMPERASE son marcas registradas de Roche.

El resto de nombres de producto y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios.

La tecnología de prevención de contaminación cruzada de la enzima AmpErase® está protegida por la patente estadounidense n.º 7,687,247 propiedad de Life Technologies y con licencia para Roche Molecular Systems, Inc.

Consulte la página <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Bibliografía

1. Fatahzadeh M, Schwartz RA. Human herpes simplex virus infections: epidemiology, pathogenesis, symptomatology, diagnosis, and management. *J Am Acad Dermatol.* 2007;57(5):737-763; quiz 764-766.
2. Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. *Lancet.* 2007;370(9605):2127-2137.
3. Paz-Bailey G, Ramaswamy M, Hawkes SJ, Geretti AM. Herpes simplex virus type 2: epidemiology and management options in developing countries. *Sex Transm Infect.* 2007;83(1):16-22.
4. Xu F, Sternberg MR, Kottiri BJ, et al. Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA.* 2006;296(8):964-973.
5. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years--United States, 2005-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2010;59(15):456-459.
6. Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. Chiron HSV vaccine study group. *N Engl J Med.* 1999;341(19):1432-1438.
7. Lafferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med.* 1987;316(23):1444-1449.
8. Engelberg R, Carrell D, Krantz E, Corey L, Wald A. Natural history of genital herpes simplex virus type 1 infection. *Sex Transm Dis.* 2003;30(2):174-177.
9. Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. *Ann Intern Med.* 1994;121(11):847-854.
10. Ryan C, Kinghorn G. Clinical assessment of assays for diagnosis of herpes simplex infection. *Expert Rev Mol Diagn.* 2006;6(5):767-775.
11. Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic. *Sex Transm Infect.* 2002;78(1):21-25.
12. Strick LB, Wald A. Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? *Mol Diagn Ther.* 2006;10(1):17-28.
13. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93(1):125-128.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. CLSI document M29-A3 Villanova, PA. Approved guideline-third edition. 2005.
16. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations. 48th edition. 2007.
17. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Viral Culture. CLSI document M41-A Wayne, PA. Approved guideline. 2006.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc. Rev. 3.0 02/2022	<p>Se ha actualizado la sección Precauciones y requisitos de manipulación para avisar al usuario de que debe ponerse en contacto con la autoridad competente local.</p> <p>Se ha actualizado la sección Integridad para avisar al usuario de que no debe utilizar reactivos o recipientes que se hayan dañado o muestren indicios de contener fugas.</p> <p>Se ha cambiado el nombre de la sección Correlación a Rendimiento clínico con muestras clínicas.</p> <p>Se ha añadido un enlace web al resumen del informe sobre seguridad y rendimiento.</p> <p>Se ha revisado con fines de conformidad con IVDR.</p> <p>Se ha insertado el símbolo Rx Only en la primera página.</p> <p>Se ha eliminado una referencia al kit 06768202190 (descatalogado).</p> <p>Se ha actualizado la sección Marcas registradas y patentes.</p> <p>Se han actualizado los operadores económicos.</p> <p>Se ha añadido una declaración de Fabricado en.</p> <p>Se ha añadido la sección Asistencia técnica.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizada.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>

Puede consultar el resumen del informe de seguridad y rendimiento en el siguiente enlace: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>