

cobas[®] HEV

Para diagnóstico *in vitro*



cobas[®] HEV – 192	P/N: 09040986190
cobas[®] HEV Control Kit	P/N: 09040889190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 09051554190
cobas[®] omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas[®] omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas[®] omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas[®] omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Reactivos y materiales.....	7
Reactivos y controles de cobas® HEV	7
Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras.....	10
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	11
Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System	11
Requisitos para la manipulación de reactivos en los cobas® 6800/8800 Systems	12
Material adicional necesario para el cobas® 5800 System	12
Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems.....	13
Instrumentos y software necesarios.....	13
Precauciones y requisitos de manipulación	14
Advertencias y precauciones.....	14
Manipulación de reactivos	14
Buenas prácticas de laboratorio.....	15
Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras.....	15
Muestras de donantes vivos	15
Instrucciones de uso	19
Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional).....	19
Notas sobre el procedimiento.....	19
Ejecución de la prueba cobas® HEV en el cobas® 5800 System.....	20
Ejecución de la prueba cobas® HEV en los cobas® 6800/8800 Systems.....	21
Resultados	22
Control de calidad y validez de los resultados en el cobas® 5800 System	22
Resultados del control en el cobas® 5800 System	22
Control de calidad y validez de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems.....	23
Avisos de controles en los cobas® 6800/8800 Systems	23
Interpretación de los resultados	23

Información adicional para la interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System	24
Repetición de pruebas de muestras individuales	24
Limitaciones del procedimiento	24
Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas	25
Evaluación no clínica del rendimiento realizada en los cobas® 6800/8800 Systems.....	26
Características clave de rendimiento — muestras de donantes vivos	26
Límite de detección (LoD)	26
Reproducibilidad	27
Verificación del genotipo	28
Especificidad analítica	29
Especificidad analítica: sustancias interferentes	30
Correlación	31
Fallo de todo el sistema	31
Información adicional	32
Características principales de la prueba	32
Símbolos	33
Asistencia técnica	34
Fabricante e importador	34
Marcas registradas y patentes	34
Copyright	34
Bibliografía	35
Revisión del documento	38

Uso previsto

La prueba cobas® HEV para uso en los cobas® 5800/6800/8800 Systems es una prueba cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la detección directa de ARN del virus de la hepatitis E (VHE) (genotipos 1-4) en plasma humano.

Esta prueba se ha diseñado como cribado de muestras de donantes para detectar ARN de VHE en muestras de plasma de donantes de sangre individuales, incluyendo donantes de sangre total, componentes sanguíneos (glóbulos rojos, plaquetas y plasma) y otros donantes vivos. El plasma de todos los donantes se puede cribar como muestras individuales. En el caso de las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos, las muestras de plasma se pueden analizar individualmente o el plasma en pools compuestos por alícuotas de muestras individuales.

Esta prueba no está diseñada para su uso en muestras de sangre del cordón umbilical.

Esta prueba no está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico de VHE.

Resumen y explicación de la prueba

Antecedentes: cribado de sangre para la detección de infecciones virales que pueden transmitirse por transfusión

El virus de la hepatitis E (VHE), un virus ARN pequeño no encapsulado del género *Hepevirus* (familia *Hepeviridae*), es un patógeno humano de distribución mundial.¹ El virus consta de una cápside icosaédrica que alberga ARN monocatenario positivo genómico de 7,2 kb.² Se han identificado cuatro genotipos principales de VHE, que pertenecen a un único serotipo, en humanos y animales, incluidos cerdos domésticos, jabalíes, ciervos y roedores.^{1, 3, 4}

La caracterización molecular de las diferentes cepas de VHE que circulan entre humanos y animales ha llevado a la identificación de cuatro genotipos principales.¹ El genotipo 1, que se presenta básicamente en Asia, y el genotipo 2, que ocurre en África y México, se limitan a los humanos y se transmiten por vía de agua contaminada en países en desarrollo.^{1, 5} Los genotipos 3 y 4 infectan a humanos, cerdos y otras especies de mamíferos y provocan casos esporádicos de VHE autóctono tanto en países en desarrollo como en países desarrollados.⁶ El genotipo 3 es el único genotipo que se ha identificado como causa de infección autóctona en los Estados Unidos⁷ y provoca la gran mayoría de infecciones en Europa, Nueva Zelanda y América del Norte.^{1, 8-12} Tanto el genotipo 3 como el 4 están presentes en Japón.¹ Los genotipos 1, 3 y 4 del VHE son endémicos en China.¹ La hepatitis E aguda es más común que la hepatitis A en China, Francia, el Reino Unido y Japón.¹

El principal modo de transmisión del VHE es por vía fecal-oral a través de agua para beber contaminada,¹ aunque también se han dado casos de transmisión por consumo de carne de cerdo cruda o poco hecha, vísceras o marisco, así como transmisiones zoonóticas como consecuencia del contacto con cerdos, domésticos o salvajes.^{7, 13-16} Todavía se desconocen todos los posibles orígenes del VHE.¹

La infección por VHE suele provocar una infección leve o subclínica con una enfermedad autolimitada de entre 4 y 6 semanas de duración.^{1, 8-11, 17, 18} Los síntomas son muy similares a los de otras formas de infección por el virus de la hepatitis, especialmente por la hepatitis A, tales como fatiga, ictericia, fiebre, malestar, náuseas, vómitos, anorexia y dolor abdominal.¹ Los pacientes suelen tener niveles altos de alanina transaminasa (~1.500 UI/l) y muchos de ellos presentan ictericia.¹ Las infecciones por VHE pueden llegar a ser más graves ocasionalmente y provocar un fallo hepático fulminante, en especial en mujeres embarazadas, población en la que la tasa de mortalidad puede alcanzar el 10% o el 25%, en bebés y niños menores de 2 años, en personas con una enfermedad hepática subyacente (p. ej., cirrosis) y en personas inmunodeprimidas.^{1, 19-23} La infección por VHE provoca más de 3 millones de casos sintomáticos de hepatitis E aguda

cada año, lo que se traduce en unas 70.000 mujeres anuales.²⁴ La tasa de mortalidad general oscila entre un 0,2% y un 4,0%.¹ La mayoría de las muertes provocadas por la infección con el genotipo 3 (VHE3) son consecuencia de un fallo hepático agudo o subagudo en pacientes con una enfermedad hepática previa, tales como enfermedad del hígado relacionadas con el alcohol.^{1, 22, 25, 26}

El VHE3 genera infección crónica, también en hasta un 60% de pacientes inmunodeprimidos, un 10% de los cuales acaba desarrollando cirrosis.¹ La infección crónica se define como persistencia de ARN-VHE en suero o heces durante 6 meses o más.¹ La mayoría de los casos se producen en pacientes trasplantados con órganos sólidos, aunque se han detectado casos de infección en pacientes con patologías hematológicas receptores de transfusiones y quimioterapia y algunos sujetos con VIH.²⁷⁻³³ No se conocen casos de infección crónica por VHE1 o VHE2.¹

La infección por VHE también se asocia a síndromes neurológicos, incluido el síndrome de Guillain-Barré, parálisis de Bell, mielitis transversa aguda, meningoencefalitis aguda, ataxia y encefalitis; los síntomas neurológicos suelen desaparecer en los pacientes que eliminan el virus.¹ Se han identificado casos de glomerulonefritis membranoproliferativa y membranosa, así como de pancreatitis aguda y trombocitopenia aguda durante la infección aguda por VHE, aunque no se han establecido los mecanismos patofisiológicos y relaciones causales, si existen.¹ Se ha demostrado que el tratamiento con ribavirina resulta efectivo contra la infección aguda grave por VHE3 y los pacientes trasplantados con infección crónica por VHE suelen ser tratados con reducción de inmunosupresión (sobre todo con fármacos dirigidos a las células T), interferon-α y ribavirina.¹

Motivos para el uso de las pruebas NAT

Como con otras hepatitis, el VHE se puede transmitir por transfusión sanguínea o hemoderivados. Se han detectado casos de hepatitis E post-transfusión en muchos países.^{1, 33-38} La tasa de seropositividad para VHE entre los donantes de sangre del mundo oscila entre un 0,4% y un 20,6%.³⁹⁻⁴⁷ La tasa de infecciones por VHE asintomáticas es alta en todo el mundo y, debido a la prevalencia del virus, muchos donantes de sangre pueden estar infectados y transmitir el virus a destinatarios de sus productos sanguíneos. Por ejemplo, un estudio reciente realizado con donantes de sangre británicos demostró que el 11 % del suero de los donantes fue reactivo para IgG de HEV, lo que indica una infección anterior, mientras que el 0,7 % del suero resultó reactivo para IgM, lo que indica una infección aguda.⁴⁵ Además, el 0,7% de los minipool de plasma de donantes ingleses contenía ARN de VHE.⁴⁶ En un estudio realizado con donantes de sangre chinos se obtuvieron resultados similares: el 32,6% del suero de donantes resultó reactivo a IgG; el 0,94% fue reactivo a IgM y el 0,07% de donaciones presentaron viremia del VHE.⁴⁷ En una investigación global con pools de plasma para fraccionamiento, el 10% de los pools analizados resultaron positivos para ARN de VHE.^{47, 48}

Explicación de la prueba

La prueba cobas® HEV es una prueba de PCR cualitativa para la detección de ARN del VHE que se ejecuta en los cobas® 5800/6800/8800 Systems. La prueba cobas® HEV permite detectar simultáneamente ARN de VHE y el control interno en una única prueba con una donación individual infectada o un pool de plasma de donaciones individuales.

Principios del procedimiento

La prueba cobas® HEV se basa en la tecnología PCR a tiempo real en un sistema totalmente automático para la preparación de muestras (extracción y purificación de ácidos nucleicos), la amplificación y la detección mediante PCR. El cobas® 5800 System consta de un único instrumento integrado. Los cobas® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software cobas® 5800 o el cobas® 6800/8800 Systems, que asigna los resultados a las pruebas como no reactivos, reactivos o no válidos. Si se utiliza el cobas® 5800 System, se recomienda usar

el software **cobas® Synergy** para la revisión de resultados y la impresión de informes, y este es necesario para enviar los resultados a un sistema de gestión de información del laboratorio (LIS) o a otro sistema de gestión de resultados. Si se utiliza el **cobas® 6800/8800 System**, los resultados se pueden revisar directamente en la pantalla del sistema y luego imprimirlos como informe o bien enviarlos a un sistema de gestión de información del laboratorio (LIS) o a otro sistema de gestión de resultados.

Las muestras se pueden analizar de forma individual o bien en pools de varias muestras.

Si las pruebas se realizan en el **cobas® 5800 System**, es necesario utilizar el software **cobas® Synergy** incluso si no se realiza el pooling. Si el pooling se lleva a cabo en un paso preanalítico, puede utilizarse el software **cobas® Synergy** con el Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD.

Si las pruebas se realizan en los **cobas® 6800/8800 Systems**, se puede utilizar el instrumento **cobas® p 680** o el software **cobas® Synergy** con el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD en el paso preanalítico.

Los ácidos nucleicos de la muestra y las moléculas de control interno (IC) de Armored RNA añadidas (utilizadas como control del proceso de preparación de muestras y amplificación/detección) se extraen simultáneamente. Además, la prueba utiliza dos controles de kit: uno positivo y uno negativo. Los ácidos nucleicos víricos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y potenciales inhibidores de la PCR (como la hemoglobina) se eliminan en los siguientes pasos de reactivo de lavado y los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

Para llevar a cabo la amplificación selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra del donante se utilizan cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus que se seleccionan de regiones altamente conservadas de los ácidos nucleicos víricos. Para los procesos de transcripción inversa y amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).⁴⁹⁻⁵¹ La enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa), que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina el amplicón contaminado de la serie de PCR anterior. Sin embargo, no se destruye el amplicón nuevo porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo de Master Mix de **cobas® HEV** contiene sondas de detección específicas para los ácidos nucleicos de VHE y IC. Cada una de estas sondas de detección específicas para VHE y IC se marca con uno de los dos marcadores fluorescentes que actúan como emisor. Además, cada sonda dispone de un segundo marcador que actúa como silenciador. Los dos marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, lo que permite detectar y discriminar simultáneamente la diana amplificada de VHE y el IC.^{52, 53} La señal fluorescente de la sonda intacta se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación de la PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisores y silenciadores y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. Como los dos marcadores emisores específicos se miden en longitudes de onda definidas, es posible detectar y discriminar simultáneamente el fragmento objetivo del VHE amplificado y el IC.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® HEV

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda en la Tabla 1 a Tabla 4.

Tabla 1 Prueba cobas® HEV
(HEV)

Almacenar a 2-8 °C

Casete para 192 pruebas (P/N 09040986190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit 192 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % (p/v) de proteinasa, glicerol EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina de <i>Bacillus subtilis</i> . Puede provocar una reacción alérgica.	22,3 ml
Control interno (IC)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, < 0,001 % de constructo de Armored RNA como control interno (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,002 % de ARN Poli rA (sintético), < 0,1 % de azida sódica	21,2 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para VHE (HEV MMX-R2)	Buffer tricina, acetato de potasio, glicerol, 18% de sulfóxido de dimetilo, Tween 20, EDTA, < 0,06% de dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% de dUTP, < 0,01% de cebadores ascendentes y descendentes para VHE y control interno, < 0,01% de sondas marcadas con fluorescente para VHE, < 0,01% de sonda marcada con fluorescente para control interno, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D, < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	9,7 ml

Tabla 2 cobas® HEV Control Kit
(HEV (+) C)

Almacenar a 2-8 °C
(P/N 09040889190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control positivo para VHE (HEV (+) C)	< 0,001% de ARN de VHE sintético (Armored) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, ARN de VHE no detectable mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  ADVERTENCIA H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 Masa de reacción de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

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

** Sustancia peligrosa.

Tabla 3 cobas® NHP Negative Control Kit
(NHP-NC)

Almacenar a 2-8 °C
(P/N 09051554190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control negativo para plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, ARN de VHE no detectable mediante métodos de PCR < 0,1 % de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  ADVERTENCIA H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 Masa de reacción de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).

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

** Sustancia peligrosa.

Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos cobas® omni para la preparación de muestras*

Reactivos	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas® omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas® omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1 % de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
cobas® omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	42,56 % (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5 % (p/v) de polidocanol***, 2 % (p/v) de ditiotreitól, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	 PELIGRO H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. 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. P391: Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol
cobas® omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4 hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit de la prueba cobas® HEV. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 8 y Tabla 9).

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

*** Sustancia peligrosa.

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 5, la Tabla 6 y la Tabla 7.

Cuando los reactivos no están cargados en los cobas® 5800/6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

Tabla 5 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® HEV – 192	2-8 °C
cobas® HEV Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas® omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas® omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas® omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas® omni Wash Reagent	15-30 °C

Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System

Los reactivos cargados en el cobas® 5800 System se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. El sistema solamente permite utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 6. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 6 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos del cobas® 5800 System.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos del cobas® 5800 System

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® HEV – 192	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 36 días
cobas® HEV Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 36 días
cobas® NHP Negative Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 36 días
cobas® omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable

* Reactivo de un solo uso.

** El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en el cobas® 5800 System.

Requisitos para la manipulación de reactivos en los cobas® 6800/8800 Systems

Los reactivos cargados en los cobas® 6800/8800 Systems se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. El sistema solamente permite utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 7. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 7 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems.

Tabla 7 Condiciones de caducidad de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® HEV – 192	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 40 horas
cobas® HEV Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas® omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable
cobas® omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga**	No aplicable	No aplicable

* Reactivo de un solo uso.

** El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en los cobas® 6800/8800 Systems.

Material adicional necesario para el cobas® 5800 System

Tabla 8 Material y fungibles para el uso en el cobas® 5800 System

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate 24	08413975001
cobas® omni Amplification Plate 24	08499853001
cobas® omni Liquid Waste Plate 24	08413983001
Puntas CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Puntas CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos	07435967001
o	o
Bolsa para residuos sólidos con complemento	08030073001

Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems

Tabla 9 Material y fungibles para el uso en los cobas® 6800/8800 Systems

Material	P/N
cobas® omni Processing Plate	05534917001
cobas® omni Amplification Plate	05534941001
cobas® omni Pipette Tips	05534925001
cobas® omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas® omni Lysis Reagent	06997538190
cobas® omni MGP Reagent	06997546190
cobas® omni Specimen Diluent	06997511190
cobas® omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos	07435967001
Recipiente de residuos sólidos o	07094361001 o
Bolsa para residuos sólidos con complemento	08030073001

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el paquete de análisis **cobas® HEV** para el **cobas® 5800 System** en el **cobas® 5800 System**. El software **x800 Data Manager** para el **cobas® 5800 System** se suministran con el sistema. Debe instalarse el software **cobas® Synergy**.

Es necesario instalar el software **cobas® 6800/8800** y el paquete de análisis **cobas® HEV** en los instrumentos. El servidor IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema. El software **cobas® Synergy** debe instalarse si es necesario.

Tabla 10 Instrumentos

cobas® 6800/8800 Systems	P/N
cobas® 6800 System (opción móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas® 6800 System (fijo)	05524245001 y 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras para los cobas® 6800/8800 Systems	06301037001
Licencia electrónica del software cobas® Synergy (solo para el cobas® 5800 System)	09311246001
Opciones de pipeteo y pooling	P/N
Instrumento cobas® p 680	06570577001
Licencia electrónica del software cobas® Synergy (cobas® 6800/8800 Systems) (opcional)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STAR/let IVD	04872649001

Consulte la Asistencia al usuario del **cobas® 5800 System** o la Asistencia al usuario de los **cobas® 6800/8800 Systems** para obtener información adicional. Consulte la Asistencia al usuario del instrumento **cobas® p 680** o la Asistencia al usuario del software **cobas® Synergy** para obtener información adicional sobre los tubos primarios y secundarios compatibles con cada instrumento.

Nota: póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras, racks para puntas obstruidas y bandejas de racks compatibles con cada instrumento.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Todas las muestras deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados tal como se describe en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{54,55} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® HEV, los cobas® 5800/6800/8800 Systems, el instrumento cobas® p 680 (para los cobas® 6800/8800 Systems) o el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD con el software cobas® Synergy.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,6 % en agua destilada o desionizada o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- El cobas® HEV Control Kit y el cobas® NHP Negative Control Kit contienen plasma procedente de sangre humana. El análisis del plasma humano normal mediante métodos de PCR no muestra niveles detectables de ARN del VHE. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- No congele la sangre total.
- Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin nucleasa. Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- La alteración de la superficie de contacto entre las células y el plasma o la difusión de material generado por la centrifugación puede provocar tasas más elevadas de resultados no válidos.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Informe a la autoridad competente local y al fabricante de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.

- El **cobas® omni** Lysis Reagent contiene tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- Los kits de la prueba **cobas® HEV**, el **cobas® omni** MGP Reagent y el **cobas® omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas® omni** Lysis Reagent, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y de los kits de la prueba **cobas® HEV** y los reactivos **cobas® omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Si el derrame se produce sobre un instrumento **cobas® 5800**, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario del **cobas® 5800 System** para limpiar y descontaminar correctamente la superficie del instrumento.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,6% en agua destilada o desionizada. A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.
- Si el derrame se produce sobre un instrumento **cobas® 6800/8800**, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario de los **cobas® 6800/8800 Systems** para limpiar y descontaminar correctamente las superficies de los instrumentos.

Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras

Nota: manipule todas las muestras y los controles como si pudieran transmitir agentes infecciosos.

Almacene todas las muestras de donantes a las temperaturas especificadas.

La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

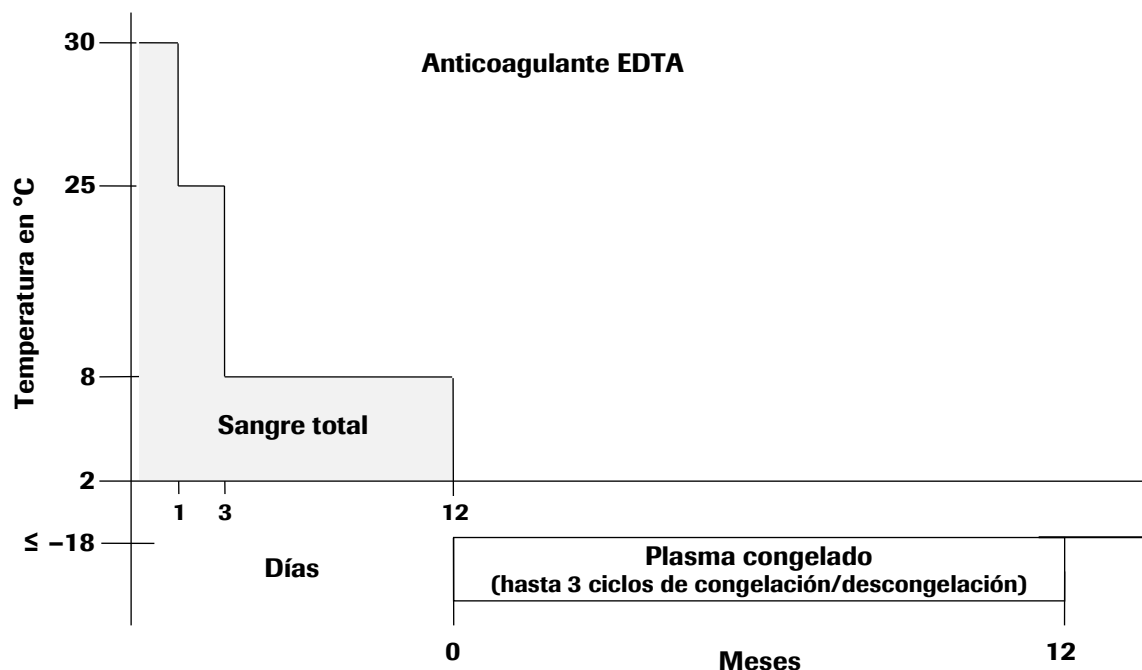
Muestras de donantes vivos

- Puede utilizarse plasma recogido en anticoagulante EDTA, CPD, CPDA1, CP2D y citrato de sodio al 4 % para la prueba **cobas® HEV**. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos/las bolsas de recogida de muestras para conocer los procesos de manipulación y centrifugación.
- La sangre recogida en anticoagulante EDTA, tubos para preparación de plasma con EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) o tubos con gel para análisis de plasma Greiner Vacuette® K2EDTA puede someterse a procesos adicionales de centrifugación a $600 \times g$ durante 5 minutos antes de la carga, procedimientos de pooling opcionales o repeticiones de análisis.

- La sangre recogida en anticoagulante EDTA puede almacenarse hasta 12 días en las siguientes condiciones:
 - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
 - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

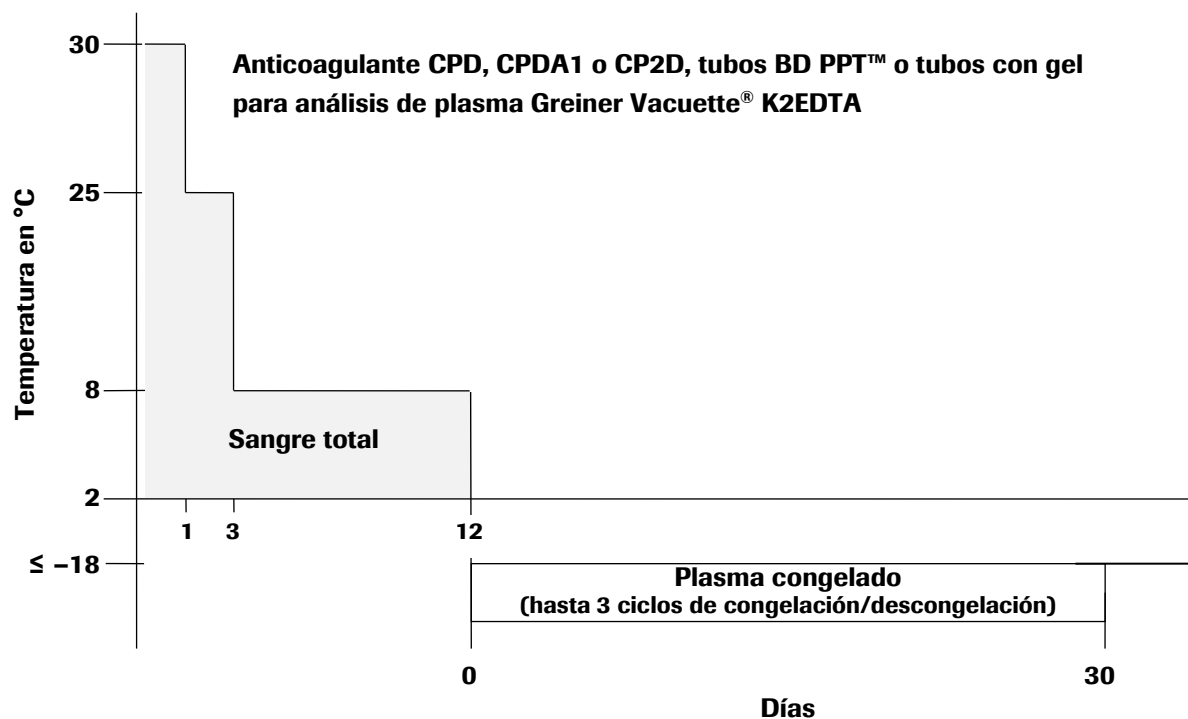
En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el plasma separado de las células se puede almacenar hasta 12 meses a una temperatura ≤ -18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 1.

Ilustración 1 Condiciones de almacenamiento de muestras recogidas en anticoagulante EDTA



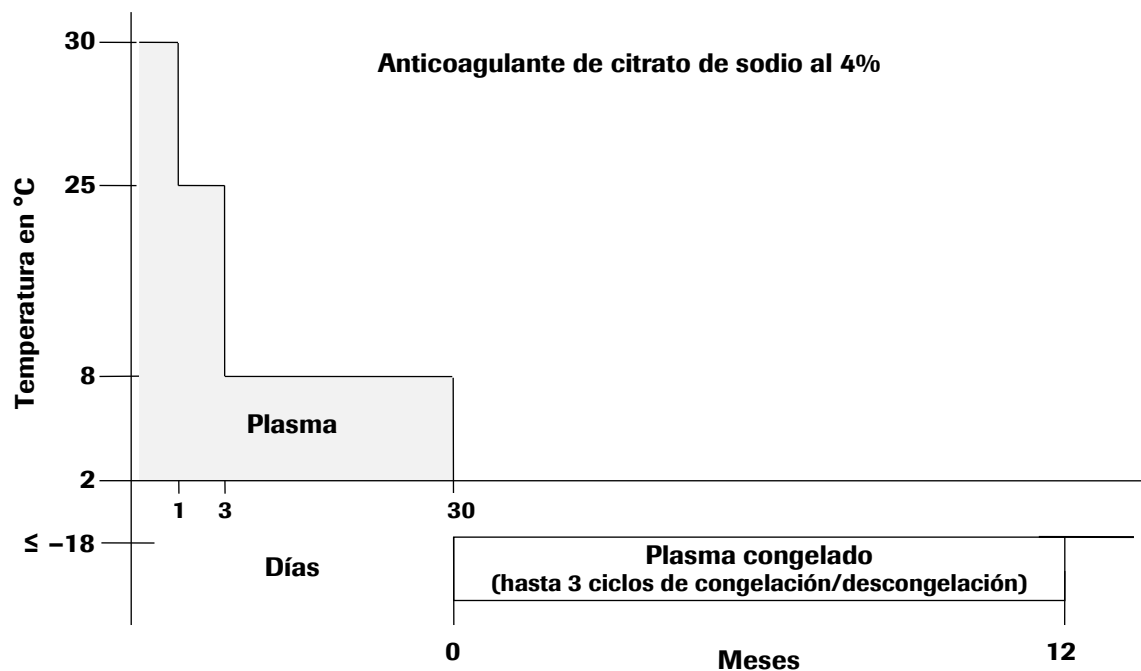
- La sangre recogida en anticoagulante CPD, CPDA1 o CP2D, los tubos para preparación de plasma con EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) o los tubos con gel para análisis de plasma Greiner Vacuette® K2EDTA pueden almacenarse durante un máximo de 12 días en las condiciones siguientes:
 - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
 - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el plasma separado de las células se puede almacenar hasta 30 días a una temperatura ≤ -18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 2.

Ilustración 2 Condiciones de almacenamiento de muestras

- El plasma obtenido en anticoagulante de citrato de sodio al 4% puede almacenarse hasta 30 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.
 - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el plasma separado de las células se puede almacenar hasta 12 meses a una temperatura ≤ -18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 3.

Ilustración 3 Condiciones de almacenamiento de muestras recogidas en anticoagulante de citrato de sodio al 4%

- Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

Instrucciones de uso

Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional)

Tanto el instrumento **cobas**® p 680 como el software **cobas**® Synergy con el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet pueden utilizarse como un instrumento opcional de los **cobas**® 6800/8800 Systems para el pipeteo y el pooling automatizados de alícuotas de varias muestras primarias en un pool de muestras.

El software **cobas**® Synergy con el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD se puede utilizar como un accesorio del **cobas**® 5800 System para el pipeteo y el pooling automatizados de alícuotas de varias muestras primarias en una muestra en pool.

Si desea obtener más información, consulte la Asistencia al usuario del instrumento **cobas**® p 680 o la Asistencia al usuario del software **cobas**® Synergy.

Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos **cobas**® HEV, el **cobas**® HEV Control Kit, el **cobas**® NHP Negative Control Kit ni ningún reactivo **cobas**® omni después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Son de un solo uso.
- Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 5800 System para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.
- Consulte la Asistencia al usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Ejecución de la prueba cobas® HEV en el cobas® 5800 System

El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario del cobas® 5800 System. En la Ilustración 4 se resume el procedimiento. Consulte la Asistencia al usuario del software cobas® Synergy según corresponda para obtener información detallada sobre los procedimientos de pooling opcionales.

Ilustración 4 Procedimiento de la prueba cobas® HEV en el cobas® 5800 System

1	Pipeteo y pooling
2	Carga de los racks de muestras en el sistema: • Cargue los racks de muestras en el sistema. • Solicite las pruebas manualmente si no hay peticiones del LIS disponibles.
3	Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema: • Cargue el casete de reactivo específico de la prueba. • Cargue los miniracks de control. • Cargue las puntas de procesamiento. • Cargue las puntas de elución. • Cargue las placas de procesamiento. • Cargue las placas de residuos líquidos. • Cargue las placas de amplificación. • Cargue el casete de MGP. • Cargue el diluyente de muestras. • Cargue el reactivo de lisis. • Cargue el reactivo de lavado.
4	Inicie la serie analítica seleccionando el botón de inicio manualmente en la interfaz. Las series siguientes se iniciarán de manera automática si no se posponen manualmente.
5	Revise los resultados.
6	Retire los tubos de muestra. Limpieza del instrumento: • Vacíe los casetes de reactivo. • Vacíe los miniracks de control. • Vacíe el cajón de placas de amplificación. • Vacíe los residuos líquidos. • Vacíe los residuos sólidos.

Ejecución de la prueba cobas® HEV en los cobas® 6800/8800 Systems

El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario de los cobas® 6800/8800 Systems; consulte la Asistencia al usuario del instrumento cobas® p 680 o la Asistencia al usuario del software cobas® Synergy según corresponda para obtener información detallada sobre los procedimientos de pooling opcionales. En la Ilustración 5 se resume el procedimiento.

Ilustración 5 Procedimiento de la prueba cobas® HEV en los cobas® 6800/8800 Systems

1	Pipeteo y pooling
2	Creación de la petición
3	Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema: • Carga del reactivo de lavado, el reactivo de lisis y el diluyente • Carga de las placas de procesamiento y las placas de amplificación • Carga de las partículas de vidrio magnéticas • Carga de reactivos específicos de la prueba • Carga de los casetes de control • Carga de las bandejas de puntas • Sustitución de los racks para puntas obstruidas
4	Inicie la serie analítica: • Carga de las bandejas con las muestras • Selección del botón de inicio en la interfaz
5	Revise y exporte los resultados.
6	Descarga del material fungible: • Descarga de las placas de amplificación del módulo analítico • Descargue los casetes de control vacíos. • Vacíe los residuos sólidos. • Vacíe los residuos líquidos.

Resultados

Los cobas® 5800 o cobas® 6800/8800 Systems detectan automáticamente el ARN de VHE simultáneamente en muestras y controles.

Control de calidad y validez de los resultados en el cobas® 5800 System

El cobas® 5800 System se suministrará con la configuración predeterminada de los controles (positivo y negativo) programados con cada serie, pero se puede modificar por un programa de controles menos frecuente avisando a un ingeniero técnico de Roche o poniéndose en contacto con el servicio técnico de Roche, según los procedimientos de laboratorio y la reglamentación local.

- Se procesan un control negativo [(-) C] y un control positivo [HEV (+) C] al menos cada 24 horas o con cada lote de kit nuevo.
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el cobas® 5800 System como en el informe para garantizar la validez del control.
- Las muestras asociadas se consideran válidas cuando no hay avisos para ninguno de los controles.

El cobas® 5800 System invalida automáticamente los resultados cuando los controles positivos o negativos fallan.

Resultados del control en el cobas® 5800 System

Los resultados de los controles se muestran en el software cobas® 5800, en la aplicación de controles.

- Los controles se marcan como “Valid” en la columna “Resultados de control” cuando todas las dianas del control se han notificado como válidas. Los controles se marcan como “Invalid” en la columna “Resultados de control” cuando todas o alguna de las dianas del control se han notificado como no válidas.
- Los controles marcados como “Invalid” muestran un aviso en la columna “Aviso”. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que el control se ha notificado como no válido, además de información sobre el aviso.
- Si el control positivo no es válido, repita el análisis de los controles positivos y de todas las muestras asociadas. Si el control negativo no es válido, repita el análisis de todos los controles y de todas las muestras asociadas.

Tabla 11 Avisos de control para controles negativos y positivos procesados en el cobas® 5800 System

Control negativo	Aviso	Resultado de control	Interpretación
(-) C	Se muestra un aviso	Invalid	Toda la serie se considera inválida si el resultado del (-) C no es válido.
Control positivo	Aviso	Resultado de control	Interpretación
HEV (+) C	Se muestra un aviso	Invalid	Toda la serie se considera inválida si el resultado de HEV (+) C no es válido.

Control de calidad y validez de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems

- Con cada serie se procesa un control negativo [(-) C] y un control positivo [HEV (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software **cobas® 6800/8800** como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- La serie se considera válida cuando no hay avisos para ninguno de los dos controles.

El software **cobas® 6800/8800** invalida automáticamente los resultados cuando los controles positivos y negativos fallan.

Avisos de controles en los cobas® 6800/8800 Systems

Tabla 12 Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	Aviso	Resultado	Interpretación
(-) C	Q02	Invalid	Toda la serie se considera inválida si el resultado del (-) C no es válido.
Control positivo	Aviso	Resultado	Interpretación
HEV (+) C	Q02	Invalid	Toda la serie se considera inválida si el resultado de HEV (+) C no es válido.

Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie, incluyendo muestras y controles.

Interpretación de los resultados

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas® 5800/6800/8800 Systems** y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras de donantes tanto válidos como inválidos, según los avisos obtenidos para cada muestra.
- Los resultados de las muestras se consideran válidos solamente si los respectivos controles positivo y negativo de la serie correspondiente también son válidos.

Para cada muestra se miden simultáneamente dos parámetros: HEV y el control interno. El software informa de los resultados finales de las muestras obtenidos con la prueba **cobas® HEV**. Además de los resultados globales, el software **cobas® 5800/6800/8800 Systems** también muestra los resultados individuales para cada diana, que deberían interpretarse como se indica a continuación:

Tabla 13 Resultados de diana para la interpretación de los resultados de diana individuales

Resultados de la diana	Interpretación
HEV Non-Reactive	No se ha detectado ninguna señal del fragmento objetivo para el VHE y se ha detectado señal del IC.
HEV Reactive	Se ha detectado señal del fragmento objetivo para el VHE y la señal del IC puede detectarse o no.
Invalid	No se ha detectado señal de la diana ni del control interno.

Si utiliza el software **cobas® Synergy**, la revisión del cálculo del resultado final debería realizarse mediante el software del **cobas® Synergy**.

Información adicional para la interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System

Los resultados de las muestras se muestran en el cobas® 5800 System. Se recomienda revisar los resultados en el software cobas® Synergy.

- Las muestras asociadas a una serie de control válida (según la definición de la configuración de control del sistema) se muestran como “Válido” en la columna “Resultados de control”. Las muestras asociadas a una serie de control errónea se muestran como “No Válido” en la columna “Resultados de control”.
- Si los controles asociados al resultado de una muestra no son válidos, se añade un aviso específico al resultado de la muestra de la siguiente manera:
 - Q05D: fallo de validación del resultado por un control positivo no válido
 - Q06D: fallo de validación del resultado por un control negativo no válido
- Los valores en la columna “Resultados” para el resultado de la diana de la muestra individual deben interpretarse como se muestra en la Tabla 13 anterior.
 - El cobas® 5800 System muestra los resultados individuales de cada diana. El resultado general solo se muestra en la vista de resultado del software cobas® Synergy.
 - Para obtener información detallada sobre los resultados de las muestras y los avisos, consulte la Asistencia al usuario del cobas® 5800 System.

Repetición de pruebas de muestras individuales

Es necesario repetir las pruebas para los tubos de muestra cuyo resultado final no es válido para la diana.

Una centrifugación adicional a $600 \times g$ durante 5 minutos puede ayudar a reducir la repetición de resultados no válidos de sangre recogida en anticoagulante EDTA, tubos para la preparación de plasma con EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) o tubos con gel para análisis de plasma Greiner Vacuette® K2EDTA.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba cobas® HEV se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el cobas® HEV Control Kit, el cobas® NHP Negative Control Kit, el cobas® omni MGP Reagent, el cobas® omni Lysis Reagent, el cobas® omni Specimen Diluent y el cobas® omni Wash Reagent en los cobas® 6800/8800 Systems.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- No utilice plasma heparinizado con esta prueba porque se ha demostrado que la heparina inhibe la PCR.
- La detección del ARN del VHE depende del número de partículas víricas presentes en la muestra y se puede ver afectada por los métodos de obtención de las mismas, el almacenamiento y la manipulación, factores propios del paciente (como la edad o la presencia de síntomas) o la fase de infección y el tamaño del pool.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en regiones muy conservadas de un genoma vírico cubiertas por la prueba cobas® HEV pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar errores en la detección de la presencia del virus.
- 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. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.

Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas

La equivalencia entre el **cobas**® 5800 System y los **cobas**® 6800/8800 Systems se demostró a partir de estudios de equivalencia.

Los resultados incluidos en las Instrucciones de uso se basa en el rendimiento equivalente entre todos los sistemas.

Evaluación no clínica del rendimiento realizada en los cobas® 6800/8800 Systems

Características clave de rendimiento — muestras de donantes vivos

Límite de detección (LoD)

Estándar internacional de la OMS

El límite de detección (LoD) de la prueba cobas® HEV para el ARN del VHE se ha determinado según el estándar internacional de la OMS para el VHE (código PEI 6329/10).

Para el estándar internacional de la OMS, se prepararon 3 series de dilución independientes del estándar vírico con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VHE). Cada serie de dilución se analizó con 3 lotes distintos de kits de la prueba cobas® HEV, con unas 63 réplicas por lote, lo que supone un total aproximado de 189 réplicas por concentración. Para estimar el límite de detección (LoD) del virus VHE se utilizó el análisis PROBIT 95% (Tabla 14) y PROBIT 50% (Tabla 15) con los datos combinados de series de dilución y lotes de reactivos, junto con el límite inferior y superior de los intervalos de confianza del 95%. En la Tabla 16 se resumen las tasas de reactividad observadas en los estudios de LoD para VHE.

Tabla 14 Resultados del análisis PROBIT 95 % sobre los datos del LoD obtenidos con el estándar vírico en plasma conservado en EDTA

Analito	Unidades de medición	LoD	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
VHE	UI/ml	18,6	15,9	22,6

Tabla 15 Resultados del análisis PROBIT 50 % sobre los datos del LoD obtenidos con el estándar vírico en plasma conservado en EDTA

Analito	Unidades de medición	LoD	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
VHE	UI/ml	3,9	3,4	4,3

Tabla 16 Resumen de las tasas de reactividad para el VHE en plasma conservado en EDTA

Concentración de ARN de VHE (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza al 95 % (unilateral)
40	187	187	100,0 %	98,4 %
20	179	188	95,2 %	91,8 %
10	165	189	87,3 %	82,6 %
6	113	187	60,4 %	54,2 %
2	52	189	27,5 %	22,2 %

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba cobas® HEV en los cobas® 6800/8800 Systems se ha determinado a partir del estándar internacional de la OMS para el VHE (código PEI 6329/10). El estudio se basó en el análisis de 3 paneles de VHE con concentraciones aproximadas de $0,5 \times$, $1 \times$ y $2 \times$ el LoD de la prueba cobas® HEV. Las pruebas se han realizado para determinar los siguientes componentes de variabilidad:

- Variabilidad entre días durante 3 días
- Variabilidad entre lotes con 3 lotes de reactivos diferentes de la prueba cobas® HEV
- Variabilidad entre instrumentos con 3 cobas® 8800 Systems diferentes

Se analizaron aproximadamente 21 réplicas con cada uno de los 3 paneles, lo que supone un total de 63 réplicas con cada lote de reactivos. Todos los datos de reproducibilidad válidos se evaluaron calculando el porcentaje de resultados reactivos para cada nivel de concentración en todos los componentes variables.

Se calcularon los límites de los intervalos de confianza del 95% bilaterales de cada tasa de reactividad para cada uno de los tres niveles de VHE analizados durante 3 días, con 3 lotes de reactivos y 3 cobas® 8800 Systems distintos. La prueba cobas® HEV ofrece reproducibilidad durante varios días, en varios lotes de reactivos y en diferentes equipos. En la Tabla 17 se resumen los resultados de la variabilidad entre lotes.

Tabla 17 Resumen de la reproducibilidad entre lotes de reactivos de la prueba cobas® HEV

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/ válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95 %	Límite superior del intervalo de confianza del 95 %
VHE	$2 \times$ LoD	1	100,0 % (61/61)	94,1 %	100,0 %
VHE	$2 \times$ LoD	2	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
VHE	$2 \times$ LoD	3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
VHE	$1 \times$ LoD	1	88,9 % (56/63)	78,4 %	95,4 %
VHE	$1 \times$ LoD	2	96,8 % (60/62)	88,8 %	99,6 %
VHE	$1 \times$ LoD	3	100,0 % (63/63)	94,3 %	100,0 %
VHE	$0,5 \times$ LoD	1	82,5 % (52/63)	70,9 %	90,9 %
VHE	$0,5 \times$ LoD	2	95,2 % (60/63)	86,7 %	99,0 %
VHE	$0,5 \times$ LoD	3	84,1 % (53/63)	72,7 %	92,1 %

Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba **cobas**® HEV para la detección de los 4 genotipos del VHE se ha determinado mediante el análisis de un total de 16 muestras clínicas exclusivas y 7 aislados en cultivo de VHE con genotipo conocido. Se cuantificaron todas las muestras según el estándar de la OMS para el VHE. Las 16 muestras clínicas se analizaron tras la dilución con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al VHE añadido a una concentración de $5 \times \text{LoD}$ de la prueba **cobas**® HEV. Del total de muestras, 10 se analizaron también sin diluir. Los 7 aislados en cultivo se analizaron tras la dilución con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al VHE añadido a una concentración de $5 \times \text{LoD}$ de la prueba **cobas**® HEV. Todas las muestras clínicas y los aislados en cultivo se detectaron sin diluir y/o con una concentración de $5 \times \text{LoD}$ (Tabla).

Tabla 18 Muestras clínicas y aislados en cultivo de VHE

Genotipo	Muestras clínicas	Muestras clínicas	Aislados en cultivo
	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) sin diluir	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a $5 \times \text{LoD}$	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a $5 \times \text{LoD}$
1	No analizado*	No analizado*	100,0 % (3/3)
2	No analizado*	No analizado*	100,0 % (1/1)
3	100,0 % (10/10)	100,0 % (10/10)	No analizado*
4	No analizado*	100,0 % (6/6)	100,0 % (3/3)

* Volumen insuficiente para el análisis sin dilución/diluido

Especificidad analítica

Se evaluó la especificidad analítica de la prueba **cobas® HEV** mediante la reactividad cruzada con 28 microorganismos a una concentración de 10^6 partículas, copias o UFP/ml, incluyendo 21 aislados víricos, 6 cepas bacterianas y 1 aislado de levadura (Tabla 19). Los microorganismos se añadieron a plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus y se analizaron con y sin virus del VHE añadido a una concentración de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ de la prueba **cobas® HEV**. Los microorganismos analizados no interfieren con la prueba **cobas® HEV**.

Tabla 19 Microorganismos analizados para la especificidad analítica

Virus	Flavivirus	Bacterias	Levadura
Adenovirus 5	Virus del Nilo Occidental	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	Virus del dengue tipo 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	-
Virus de Epstein-Barr	Virus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
Virus del herpes simple tipo 1	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Virus del herpes simple tipo 2	-	<i>Streptococcus viridans</i>	-
Virus de la hepatitis A	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
Virus de la hepatitis B	-	-	-
Virus de la hepatitis C	-	-	-
Virus de la hepatitis G	-	-	-
Virus de inmunodeficiencia humana (VIH-1 grupo M)	-	-	-
Virus de inmunodeficiencia humana (VIH-2)	-	-	-
Virus linfotrópico de células T humanas tipo I	-	-	-
Virus linfotrópico de células T humanas tipo II	-	-	-
Virus del herpes humano tipo 6	-	-	-
Virus de la gripe A	-	-	-
Parvovirus B19	-	-	-
Virus Chikungunya	-	-	-
Virus de la varicela zóster	-	-	-

Se analizaron las muestras de plasma de cada uno de los estadios de la enfermedad (Tabla 20) sin y con VHE añadido a una concentración aproximada de $3 \times \text{LoD}$ de la prueba **cobas® HEV**. Estos estadios de la enfermedad no interfieren con la prueba **cobas® HEV**.

Tabla 20 Muestras de cada estadio de la enfermedad analizadas para la especificidad analítica

Estadio de la enfermedad	Estadio de la enfermedad	Estadio de la enfermedad
Adenovirus tipo 5	Virus de la hepatitis B	Virus linfotrópico de células T humanas tipo I
Citomegalovirus	Virus de la hepatitis C	Virus linfotrópico de células T humanas tipo II
Virus del dengue	Virus del herpes simple tipo 1	Parvovirus B19
Virus de Epstein-Barr	Virus del herpes simple tipo 2	Virus del Nilo Occidental
Virus de la hepatitis A	Virus de inmunodeficiencia humana (VIH-1)	-

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Sustancias endógenas causantes de interferencias

Se analizaron las muestras de plasma con niveles anormalmente elevados de triglicéridos (hasta 33,2 g/l), hemoglobina (hasta 4,7 g/l), bilirrubina no conjugada (hasta 0,28 g/l), albúmina (hasta 60 g/l) y ADN humano (hasta 0,004 g/l) con y sin VHE añadido a una concentración de $3 \times \text{LoD}$ de la prueba **cobas® HEV**. Las muestras que contienen estas sustancias endógenas no influyeron en la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas® HEV**.

Sustancias exógenas causantes de interferencias

Se analizaron muestras de plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VHE) con concentraciones anormalmente elevadas de fármacos (Tabla 21) sin y con VHE añadido a una concentración de $3 \times \text{LoD}$ de la prueba **cobas® HEV**. Estas sustancias exógenas no influyeron en la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas® HEV**.

Tabla 21 Muestras clínicas analizadas con fármacos

Nombre del fármaco analizado	Concentración
Acetaminofeno	1.324 µmol/l
Ácido acetilsalicílico	3.620 µmol/l
Ácido ascórbico	342 µmol/l
Atorvastatina	600 µg eq/l
Fluoxetina	11,2 µmol/l
Ibuprofeno	2.425 µmol/l
Loratadina	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxeno	2.170 µmol/l
Paroxetina	3,04 µmol/l
Fenilefrina HCL	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

Correlación

Evaluación del rendimiento de la prueba cobas® HEV mediante comparación con la prueba Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® HEV con el de la prueba Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 (Altona Diagnostics) mediante 100 muestras de plasma individuales positivas para VHE mediante NAT. Se analizaron 100 muestras positivas sin diluir y 67 muestras positivas con una dilución de 1:6. También se analizaron 100 muestras de plasma negativas para VHE sin diluir con ambos métodos.

Las muestras seronegativas mostraron una especificidad del 100% al generar 100 de 100 resultados no reactivos con ambos métodos.

En el caso de las muestras positivas, ambos métodos generaron resultados concordantes en la prueba McNemar, lo que demuestra que el rendimiento de la prueba cobas® HEV y de la prueba Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 es equivalente (Tabla 22).

Tabla 22 Correlación de muestras positivas (sin diluir)

Métodos	Métodos	Resultado de VHE	Resultado de VHE
Prueba Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0	cobas® HEV	Sin diluir	Dilución 1:6
No reactivo	No reactivo	0	3
Reactivo	No reactivo	0	3
No reactivo	Reactivo	1	9
Reactivo	Reactivo	99	52
Total	Total	100	67
Prueba de McNemar, valor p (bilateral, $\alpha = 0,05$)	Prueba de McNemar, valor p (bilateral, $\alpha = 0,05$)	1,00	0,09

Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba cobas® HEV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió VHE. Estas muestras se analizaron con una concentración de la diana de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ y se ejecutaron en pools de 1 (sin diluir). El estudio se realizó con el cobas® 8800 System y el instrumento cobas® p 680 (pipeteo y pooling).

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron reactivas para VHE, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95 % fue del 0 % para el límite inferior y del 3,62 % para el límite superior [0 %: 3,62 %].

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma
Cantidad de muestra necesaria	1.000 µl*
Cantidad de muestra procesada	850 µl

* Otros tubos utilizados para el análisis pueden tener volúmenes muertos diferentes y requerir un volumen mínimo menor o mayor. Póngase en contacto con su representante local del servicio técnico de Roche para obtener más información.

Símbolos

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

Tabla 23 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

Age/DOB	Edad o fecha de nacimiento		Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	QS IU/PCR	UI de 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	SN	Número de serie
Assigned Range [copies/mL]	Intervalo asignado (copias/mL)		Distribuidor (Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)	Site	Centro
Assigned Range [IU/mL]	Intervalo asignado (UI/mL)		No deben reutilizarse	Procedure Standard	Procedimiento estándar
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Mujeres	STERILE EO	Esterilizado con óxido de etileno
	Hoja de datos del código de barras		Para evaluación del rendimiento IVD únicamente		Almacenar en la oscuridad
LOT	Código de serie	GTIN	Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)		Límite de temperatura
	Riesgo biológico		Importador		Archivo de definición de pruebas
REF	Número de catálogo	IVD	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>		Este lado hacia arriba
	Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> .	LLR	Límite inferior del intervalo asignado	Procedure UltraSensitive	Procedimiento ultrasensible
Collect Date	Fecha de recogida		Hombres	UDI	Identificación exclusiva del dispositivo
	Consulte las instrucciones de uso		Fabricante	ULR	Límite superior del intervalo asignado
	Suficiente para <n> pruebas	CONTROL -	Control negativo	Urine Fill Line	Línea de llenado de orina
CONTENT	Contenido del kit		Sin esterilizar	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		Nombre del paciente		Fecha de caducidad
	Fecha de fabricación		Número del paciente		
	Dispositivo para pruebas cerca del paciente		Abrir aquí		
	Dispositivo para autoexamen	CONTROL +	Control positivo		
		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 afiliada local:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabla 24 Fabricante e importador



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

Fabricado en los EE. UU.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas registradas y patentes

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477-88.
2. Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2011;161:47-58.
3. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:9860-5.
4. Yugo DM, Meng XJ. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10:4507-33.
5. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*. 1983;20:23-31.
6. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:698-709.
7. Meng XJ. Hepatitis E as a zoonotic disease in the United States. Oral presentation at: National Institutes of Health Research Workshop: Hepatitis E in the United States; 7-8 March 2012; Bethesda, Maryland.
8. Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F, et al. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol*. 2004;74:419-24.
9. Dalton HR, Stableforth W, Thuraiajah P, et al. Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20:784-90.
10. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008;198:1732-41.
11. Dalton HR, Fellows HJ, Gane EJ, et al. Hepatitis E in New Zealand. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1236-40.
12. Tsang TH, Denison EK, Williams HV, et al. Acute hepatitis E infection acquired in California. *Clin Infect Dis*. 2000;30:618-9.
13. Teo CG. Much meat, much malady: changing perceptions of the epidemiology of hepatitis E. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:24-32.
14. Colson P, Borentain P, Queyriaux B, et al. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis*. 2010;202:825-34.
15. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis*. 2003;188:944.
16. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003;362:371-3.
17. Gotanda Y, Iwata A, Ohnuma H, et al. Ongoing subclinical infection of hepatitis E virus among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan. *J Med Virol*. 2007;79:734-42.
18. Mitsui T, Tsukamoto Y, Suzuki S, et al. Serological and molecular studies on subclinical hepatitis E virus infection using periodic serum samples obtained from healthy individuals. *J Med Virol*. 2005;76:526-33.
19. Nelson KE, Kmush B, Labrique AB. The epidemiology of hepatitis E virus infections in developed countries and among immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2011;9:1133-48.

20. Navaneethan U, Al Mohajer M, Shata MT. Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008;28:1190-9.
21. Jilani N, Das BC, Husain SA, et al. Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:676-82.
22. Peron JM, Bureau C, Poirson H, et al. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat.* 2007;14:298-303.
23. Ramachandran J, Eapen CE, Kang G, et al. Hepatitis E superinfection produces severe decompensation in patients with chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:134-8.
24. Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012;55:988-97.
25. Dalton HR, Bendall RP, Rashid M, et al. Host risk factors and autochthonous hepatitis E infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:1200-5.
26. Dalton HR, Hazeldine S, Banks M, Ijaz S, Bendall R. Locally acquired hepatitis E in chronic liver disease. *Lancet.* 2007;369:1260.
27. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2008;358:811-7.
28. Gerolami R, Moal V, Colson P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *N Engl J Med.* 2008;358:859-60.
29. Haagsma EB, van den Berg AP, Porte RJ, et al. Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2008;14:547-53.
30. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology.* 2011;140:1481-9.
31. Colson P, Kaba M, Moreau J, Brouqui P. Hepatitis E in an HIV-infected patient. *J Clin Virol.* 2009;45:269-71.
32. Peron JM, Mansuy JM, Recher C, et al. Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:1223-4.
33. Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, et al. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res.* 2007;37:113-20.
34. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion.* 2004;44:934-40.
35. Mitsui T, Tsukamoto Y, Yamazaki C, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *J Med Virol.* 2004;74:563-72.
36. Boxall E, Herborn A, Kochethu G, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. *Transfus Med.* 2006;16:79-83.
37. Colson P, Coze C, Gallian P, et al. Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:648-9.
38. Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:778-84.
39. Zaaijer HL, Kok M, Lelie PN, et al. Hepatitis E in the Netherlands: imported and endemic. *Lancet.* 1993;341:826.

40. Christensen PB, Engle RE, Hjort C, et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clin Infect Dis*. 2008;47:1026-31.
41. Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2009-10.
42. Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, et al. Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. *PLoS One*. 2011;6:e21150.
43. Vollmer T, Diekmann J, Johne R, et al. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2708-13.
44. Takeda H, Matsubayashi K, Sakata H, et al. A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. *Vox Sang*. 2010;99:307-13.
45. Beale MA, Tettmar K, Szypulska R, Tedder RS, Ijaz S. Is there evidence of recent hepatitis E virus infection in English and North Welsh blood donors? *Vox Sang*. 2011;100:340-2.
46. Ijaz S, Szypulska R, Tettmar KI, Kitchen A, Tedder RS. Detection of hepatitis E virus RNA in plasma mini-pools from blood donors in England. *Vox Sang*. 2012;102:272.
47. Guo QS, Yan Q, Xiong JH, et al. Prevalence of hepatitis E virus in Chinese blood donors. *J Clin Microbiol*. 2010;48:317-8.
48. Baylis SA, Hanschmann KM, Blumel J, Nubling CM, HEV Collaborative Study Group. Standardization of hepatitis E virus (HEV) nucleic acid amplification technique-based assays: an initial study to evaluate a panel of HEV strains and investigate laboratory performance. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1234-9.
49. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
50. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
51. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
52. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
53. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
54. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 2.0 09/2023	Se ha incluido la mención al instrumento cobas® 5800 a lo largo de todo el documento. Se ha actualizado el apartado Principios del procedimiento. Se ha añadido el apartado Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System. Se ha añadido el apartado Material adicional necesario para el cobas® 5800 System. Se ha actualizado el apartado Instrumentos y software necesarios. Se ha actualizado el apartado Precauciones y requisitos de manipulación. Se ha actualizado el apartado Instrucciones de uso. Se ha actualizado el apartado Resultados y se ha añadido el apartado Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas. Se ha actualizado la marca cobas®. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.
Doc Rev. 3.0 08/2024	Se ha actualizado la marca cobas®. Se ha corregido la Tabla 6 en referencia al periodo de estabilidad, que pasa de 10 horas a 36 días para cobas® HEV Control Kit y cobas® NHP Negative Control Kit. Se ha actualizado la página de símbolos armonizados. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.

Puede consultar el resumen del informe de seguridad y rendimiento en el siguiente enlace:

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>