

cobas[®] **WNV**

**Prueba de ácidos nucleicos
para uso en los cobas**[®] **6800/8800 Systems***Para diagnóstico in vitro*

cobas [®] WNV – 96	P/N: 07001061190
cobas [®] WNV – 480	P/N: 07001070190
cobas [®] WNV Control Kit	P/N: 07001118190
cobas [®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190
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.....	8
Reactivos y controles de cobas® WNV.....	8
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras.....	11
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	12
Material adicional necesario	13
Instrumentos y software necesarios	13
Precauciones y requisitos de manipulación.....	14
Advertencias y precauciones	14
Manipulación de reactivos.....	15
Buenas prácticas de laboratorio	15
Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras.....	16
Muestras de sangre de donantes vivos.....	16
Muestras de sangre cadavéricas	17
Instrucciones de uso	19
Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional)	19
Notas sobre el procedimiento	19
Realización de la prueba cobas® WNV	19
Resultados	20
Control de calidad y validez de los resultados.....	20
Interpretación de los resultados.....	21
Limitaciones del procedimiento	21

Evaluación no clínica del rendimiento	22
Características clave de rendimiento - Muestras de donantes vivos	22
Límite de detección (LoD).....	22
Reproducibilidad	24
Inclusividad	25
Especificidad analítica.....	26
Especificidad analítica: sustancias interferentes	27
Correlación	28
Fallo de todo el sistema	28
Características clave de rendimiento - Muestras cadavéricas.....	29
Sensibilidad.....	29
Especificidad.....	29
Reproducibilidad	30
Evaluación clínica del rendimiento	32
Sensibilidad clínica – Pruebas de muestra positivas conocidas para el virus del Nilo Occidental....	32
Especificidad clínica.....	32
Resultados de las pruebas de pooling.....	33
Resultados de las pruebas individuales	33
Reproducibilidad	34
Información adicional	35
Características principales de la prueba.....	35
Símbolos.....	36
Asistencia técnica	37
Fabricante	37
Marcas registradas y patentes.....	37
Copyright	37
Bibliografía.....	38
Revisión del documento.....	41

Uso previsto

La prueba cobas® WNV para uso en los cobas® 6800 y cobas® 8800 Systems es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección directa de ARN del Virus del Nilo Occidental (VNO) en plasma humano.

Esta prueba está diseñada como una prueba de cribado de muestras de donantes para detectar el ARN del VNO en muestras de plasma de donantes humanos individuales, incluyendo donantes de sangre total y componentes sanguíneos, así como otros donantes vivos. Esta prueba también se ha concebido para el cribado de donantes de órganos y tejidos cuando las muestras se obtienen a corazón latiente del donante y en análisis de muestras de donantes cadavéricos (a corazón parado).

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

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 en pools compuestos por alícuotas de muestras individuales. En el caso de los donantes cadavéricos de órganos y tejidos (a corazón parado), las muestras solamente se pueden cribar como muestra individual.

Esta prueba no está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico de la infección por VNO.

Resumen y explicación de la prueba

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

El Virus del Nilo Occidental (VNO) es un virus ARN monocatenario positivo, transmitido por artrópodos (arbovirus), que pertenece a la familia *Flaviviridae*, género *Flavivirus* y al serocomplejo del virus de la encefalitis japonesa.^{1,2} El serocomplejo del virus de la encefalitis japonesa también incluye el virus de la encefalitis japonesa, el virus de la encefalitis de San Luis, el virus de la encefalitis de Murray Valley y el virus Kunjin (ahora conocido como variante del VNO).³⁻⁵ Estudios filogenéticos han identificado 2 linajes principales del VNO: el linaje 1 y el linaje 2. Las cepas del linaje 1 se encuentran en África, India, Australia y el hemisferio occidental y han sido las responsables de las últimas epidemias en Europa, la cuenca del Mediterráneo y América. Las cepas del linaje 2 se han detectado en el África subsahariana⁶ y, más recientemente, en el Sur de Europa.^{7,8}

Al igual que otros arbovirus, el VNO se mantiene en un ciclo enzoótico entre mosquitos que se alimentan de sangre y posibles huéspedes vertebrados (pájaros).⁹ Los pájaros actúan como huéspedes vertebrados del reservorio natural y los mosquitos del género *Culex* constituyen los principales vectores enzoóticos para el VNO, mientras que los humanos y los mamíferos (p. ej., los caballos) actúan como huéspedes accidentales y, normalmente, terminales porque es poco frecuente que desarrollen viremia con un título suficiente para infectar eficientemente vectores artrópodos.^{2,9,10}

El VNO cuenta con una amplia presencia en toda África, Oriente Medio, el Sur de Europa, Rusia occidental, Asia sudoccidental y Australia (subtipo Kunjin de VNO) debido a su capacidad de infectar varias especies de mosquitos y pájaros.¹ Las epidemias humanas, asociadas principalmente a enfermedades febriles moderadas, tuvieron una baja incidencia en Israel y África hasta mediados de la década de 1990.¹ A partir de mediados de los 90, nuevas cepas de virus, probablemente originarias de África, han provocado un aumento de las infecciones en partes de Rusia y el Sur y el Este de Europa, además de importantes epidemias de mayor importancia clínica en Rumanía, Rusia, Israel y Grecia.^{1,8,11} El VNO circula ahora en muchos países del hemisferio occidental, pero solamente Estados Unidos y Canadá han experimentado una incidencia significativa de la enfermedad en humanos.^{1,12}

El VNO apareció por primera vez en Estados Unidos en 1999, en Nueva York, y se propagó rápidamente por todo el país durante los siguientes años.¹³ En la actualidad, el VNO es endémico en los 48 estados contiguos de Estados Unidos, así como en todas las provincias de Canadá.¹ El VNO ha sido el causante de las 3 epidemias de la enfermedad neuroinvasiva provocada por arbovirus (encefalitis, meningitis o parálisis flácida aguda) registradas en los Estados Unidos hasta la actualidad, con casi 3.000 casos de enfermedades neuroinvasivas registradas cada año en 2002, 2003 y 2012.¹ Durante los meses cálidos del año se registra una alta actividad vírica.¹ El 94% de los pacientes infectados por el VNO empiezan a desarrollar síntomas durante los meses de verano.¹

Se calcula que el VNO ha infectado a más de 4 millones de personas en los Estados Unidos entre 1999 y 2012,¹ con un total de 16.196 pacientes infectados por la enfermedad del VNO (neuroinvasiva), incluidas 1.549 muertes relacionadas.¹

Motivos para el uso de las pruebas NAT

Durante el estudio de una epidemia ocurrida en Estados Unidos en 2002, se descubrió que el VNO podía transmitirse mediante transfusiones y el trasplante de órganos.^{14,15} El VNO puede transmitirse mediante glóbulos rojos transfundidos, plasma fresco congelado y trasplantes de corazón, riñón, hígado y pulmones, aunque son las picaduras de mosquito las que provocan la mayoría de las infecciones por VNO en humanos.^{1,2,14,16} El VNO puede llegar a transmitirse también a través del trasplante de progenitores hematopoyéticos. También se han identificado transmisiones del VNO transplacentarias y perinatales.¹ La transmisión por leche materna, pacientes sometidos a diálisis de riñón y la exposición en lugares de trabajo (p. ej., trabajadores de laboratorios [exposición percutánea o conjuntival]; trabajadores de granjas avícolas) son otras vías poco frecuentes de transmisión del VNO.^{1,12} La infección suele generar inmunidad permanente.⁹

El VNO transmitido por transfusión suele producirse durante la fase aguda de la infección, cuando los sujetos infectados son virémicos y asintomáticos pero todavía no se han seroconvertido.¹⁷ Dado que son muy pocos los pacientes infectados que desarrollan una enfermedad clínicamente significativa, resulta poco efectivo preguntar a los donantes de sangre si han padecido recientemente alguna enfermedad que pudiera indicar una infección por VNO para identificar donantes infectados/seropositivos.^{18,19} Los datos recopilados del cribado de donantes de sangre muestran que una viremia por VNO con un título extremadamente bajo en donantes infectados recientemente y que todavía no han desarrollado anticuerpos frente al VNO transmiten eficazmente la infección por VNO.^{9,20} Se han dado casos de donaciones con una carga vírica muy baja implicadas en la transmisión del VNO por transfusión,²¹ lo que es especialmente problemático para pacientes inmunocomprometidos, quienes suelen ser los destinatarios de la mayor parte de las transfusiones.²²

En 2003 se implementaron a nivel nacional pruebas de ácidos nucleicos (NAT) para la detección de ARN del VNO a fin de garantizar la seguridad de las transfusiones.⁹ Durante los 2 primeros años del cribado NAT del VNO para las donaciones de sangre en los Estados Unidos, se identificaron 1.039 donantes positivos entre las 27,2 millones de donaciones (0,4 por cada 10.000 donaciones), pero la cifra llegó a ser de 1 entre 150 donantes en algunas áreas durante los brotes epidémicos.¹⁸ El cribado NAT de las donaciones de sangre en los Estados Unidos y Canadá prácticamente ha eliminado el riesgo de infección por el virus del Nilo Occidental mediante transfusión sanguínea.¹ Entre 2003 y 2013 se consiguieron evitar unas 3.000 infecciones por VNO.²³

Entre las personas que se infectan con el VNO, aproximadamente un 80% permanecen asintomáticas, entre un 20% y un 25% desarrollan la fiebre del Nilo Occidental^{1,24} y 1 entre 150 a 250 sujetos desarrollan la enfermedad neuroinvasiva.^{1,25} La fiebre del Nilo Occidental se caracteriza por la aparición repentina de dolor de cabeza, malestar y fiebre (normalmente baja), mialgia, escalofríos, vómitos y otros síntomas gastrointestinales, sarpullidos, fatiga y dolor de

ojos, síntomas que pueden durar desde unos días a unas semanas o, incluso, meses.^{1,24} La enfermedad neuroinvasiva del Nilo Occidental puede manifestarse en forma de meningitis, encefalitis, meningoencefalitis o parálisis flácida aguda, que puede llegar a provocar daños neurológicos irreversibles, coma y la muerte.^{1,26-31} La infección por VNO también está relacionada con miocarditis, pancreatitis, hepatitis fulminante, rabdomiolisis, coroiditis multifocal, vitritis e inestabilidad autonómica.¹

Las secuelas de la enfermedad neuroinvasiva pueden persistir durante meses o años tras la recuperación de una infección aguda. Después de recibir el alta en el hospital, los pacientes con encefalitis del Nilo Occidental suelen precisar de ayuda para realizar actividades cotidianas.^{1,31,32} Los síntomas neuropsiquiátricos, incluidas la depresión y la ansiedad, así como los déficits cognitivos, pueden persistir desde meses hasta un año o incluso más.^{1,20,33} Cerca de un 10% de los sujetos que desarrollan la enfermedad neuroinvasiva del Nilo Occidental acaban muriendo; la edad avanzada es el factor de riesgo más importante.² El riesgo de fatalidad es del 17% para pacientes mayores de 70 años en comparación con un 0,8% de riesgo de muerte en pacientes menores de 40 años.^{1,33} Existen otros factores de riesgo de muerte como la encefalitis con debilidad muscular grave, un nivel alterado de consciencia, diabetes, enfermedades cardiovasculares, infección por el virus de la hepatitis C e inmunodepresión.^{1,12,33}

Explicación de la prueba

La prueba cobas® WNV es una prueba cualitativa realizada en el cobas® 6800 System y en el cobas® 8800 System. La prueba cobas® WNV permite detectar simultáneamente con una sola prueba ARN del VNO y el control interno de una donación individual infectada o de un pool de plasma de donaciones individuales.

Principios del procedimiento

La prueba cobas® WNV 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. 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® 6800/8800, que asigna los resultados a las pruebas como no reactivos, reactivos o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema y luego imprimirse como informe o bien enviarse a un sistema de gestión de información del laboratorio (LIS) o a cualquier otro sistema de gestión de resultados.

Las muestras pueden analizarse de forma individual o, si lo desea, en pools formados por varias muestras. Si va a realizarse un pooling, se puede utilizar el cobas p 680 instrument o el software cobas® Synergy con el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR IVD (cobas® Synergy Core) en el paso preanalítico.

Los ácidos nucleicos de la muestra y los controles internos (CI) de Armored ARN añadidos (utilizados 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 magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

Para llevar a cabo la amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo 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).³⁴⁻³⁶ La enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa), que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, destruye los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se destruyen los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo de Master Mix de **cobas**® WNV contiene sondas de detección específicas para los ácidos nucleicos de VNO y CI. Cada una de las sondas de detección específicas para VNO y CI se etiqueta con uno de los dos marcadores fluorescentes únicos que actúan como emisores. 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 la detección y discriminación simultáneas de los fragmentos objetivo amplificados de VNO y CI.^{37,38} Cuando no se une a la secuencia objetivo, la señal fluorescente de las sondas intactas 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. Dado que los dos marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, es posible detectar y discriminar simultáneamente los fragmentos objetivo amplificados del VNO y el CI.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® WNV

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

Tabla 1 Prueba cobas® WNV

cobas® WNV			
Almacenar a 2-8 °C			
Casete para 96 pruebas (P/N 07001061190)			
Casete para 480 pruebas (P/N 07001070190)			
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	
		96 pruebas	480 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina. Puede provocar una reacción alérgica.	13 ml	38 ml
Control interno (CI)	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	13 ml	38 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	13 ml	38 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	5,5 ml	14,5 ml
Reactivo 2 de WNV Master Mix (WNV 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 ascendente y descendente de VNO y cebadores de control interno, < 0,01% de sondas marcadas con fluorescente para VNO, < 0,01% de sonda de control interno marcada con fluorescente, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de polimerasa de ADN Z05D, < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	6 ml	17,5 ml

Tabla 2 cobas® WNV Control Kit

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control positivo para VNO (WNV (+) C)	<p>< 0,001% de ARN de VNO sintético (Armored) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, ARN de VNO no detectable mediante métodos de PCR.</p> <p>0,1% de conservante ProClin® 300**</p>	<p>16 ml (16 × 1 ml)</p>	<div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">   </div> <p>ATENCIÓN</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.</p> <p>P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.</p> <p>P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> <p>55965-84-9, mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1)</p>

* 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

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control negativo para plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, ARN de VNO no detectable mediante métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>ATENCIÓN</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.</p> <p>P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.</p> <p>P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.</p> <p>55965-84-9, mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1)</p>

* 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	Ingredientes 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 x 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 ditiotreitolo***, citrato de sodio dihidratado	4 x 875 ml	<p>PELIGRO</p> <p>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: Evítese 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 + P312: 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>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1% de metil-4-hidroxi- benzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit de la prueba **cobas**® WNV. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 7).

** 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 y la Tabla 6.

Cuando los reactivos no están cargados en los cobas® 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® WNV – 96	2-8 °C
cobas® WNV – 480	2-8 °C
cobas® WNV 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

Los reactivos cargados en los cobas® 6800/8800 Systems se almacenan a la temperatura correspondiente 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 de los cobas® 6800/8800 Systems.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Serie en las que se puede utilizar el kit	Período de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® WNV – 96	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 10 series	Máx. 8 horas
cobas® WNV – 480	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 20 series	Máx. 20 horas
cobas® WNV 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

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

Material adicional necesario

Tabla 7 Material y material fungible para uso con 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	07094361001

Instrumentos y software necesarios

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

Tabla 8 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	06301037001
Opciones de pipeteo y pooling	P/N
cobas p 680 instrument	06570577001
Dongle del software cobas® Synergy	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001

Consulte el Manual de usuario de los cobas® 6800/8800 Systems y el Manual de usuario del cobas p 680 instrument o bien 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 utilizar 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 descritos en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{39,40} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba **cobas® WNV**, los **cobas® 6800/8800 Systems** y, opcionalmente, el **cobas p 680 instrument** o el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR IVD con el **cobas® Synergy Core**.
- 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 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- El **cobas® WNV 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 VNO. 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.
- Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.

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**® WNV, 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**® WNV 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.
- 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 en etanol al 70%.
- Si el derrame se produce sobre los **cobas**® 6800/8800 Systems, siga las instrucciones descritas en el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie del instrumento.

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.

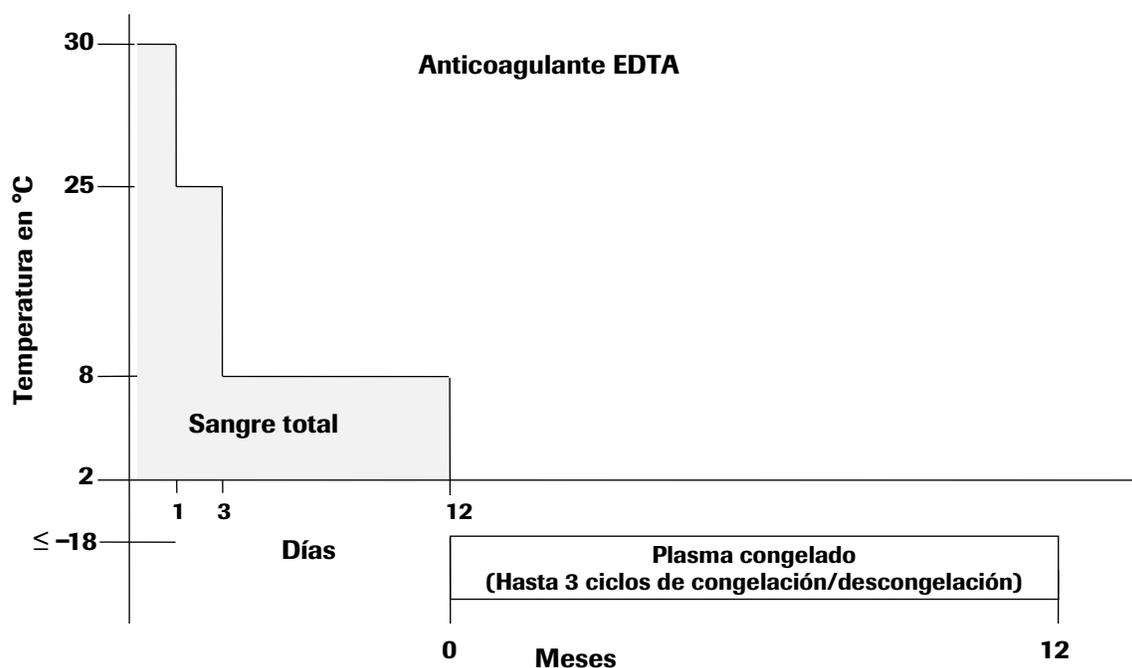
Muestras de sangre de donantes vivos

- Puede utilizarse plasma recogido en anticoagulante EDTA, CPD, CPDA1 y CP2D para la prueba **cobas®** WNV. 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 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.

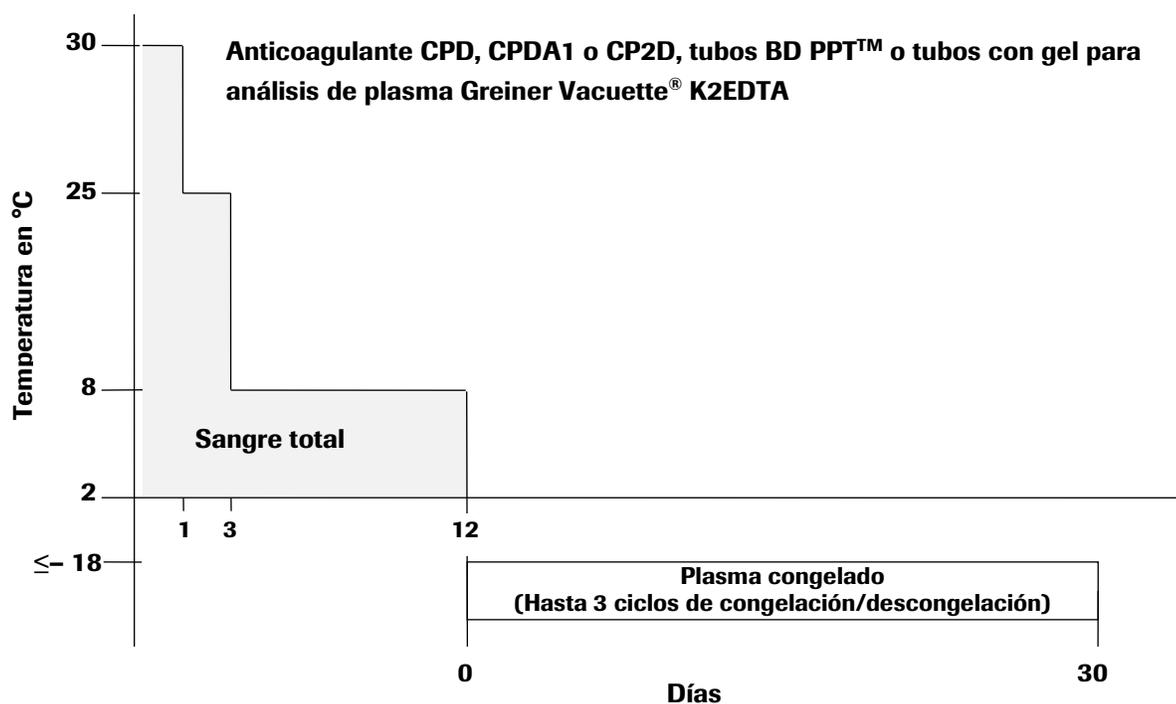
Ilustración 1 Condiciones de almacenamiento de muestras recogidas en anticoagulante EDTA



- 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 de donantes vivos

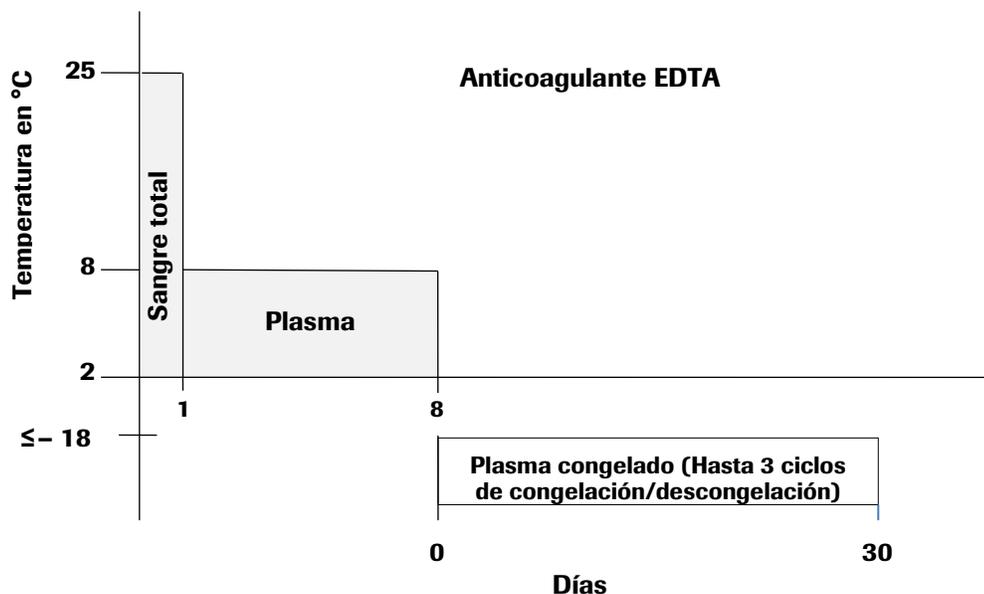


Muestras de sangre cadavéricas

- Las muestras de sangre cadavéricas recogidas en tubos con anticoagulante EDTA y/o en tubos para coágulos de suero pueden utilizarse con la prueba cobas® WNV. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos/las bolsas de recogida de muestras para conocer los procesos de manipulación y centrifugación.
- La sangre cadavérica recogida en anticoagulante EDTA puede almacenarse hasta 8 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
 - Las muestras deben centrifugarse y el plasma debe separarse de las células en el plazo de 24 horas desde el momento de la extracción.
 - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse a una temperatura máxima de 25 °C durante 24 horas.

En casos distintos a los anteriores, el plasma cadavérico conservado en EDTA separado de las células puede almacenarse hasta 30 días a una temperatura ≤ -18 °C con hasta tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 3.

Ilustración 3 Condiciones de almacenamiento de muestras cadavéricas



- Las muestras de sangre cadavéricas en tubos para coágulos de suero se pueden almacenar hasta 4 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
 - Las muestras deben centrifugarse y el suero debe separarse de las células en el plazo de 24 horas desde el momento de la extracción.
 - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 4 horas a una temperatura máxima de 25°C durante las 24 horas.

En casos distintos a los anteriores, el suero separado de las células puede almacenarse hasta 14 días a una temperatura ≤ -18 °C con hasta tres ciclos de congelación/descongelación.

- Si las muestras de donantes vivos y/o cadavéricos 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 **cobas p 680 instrument** como el **cobas® Synergy Core** se pueden utilizar como componente 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.

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

Notas sobre el procedimiento

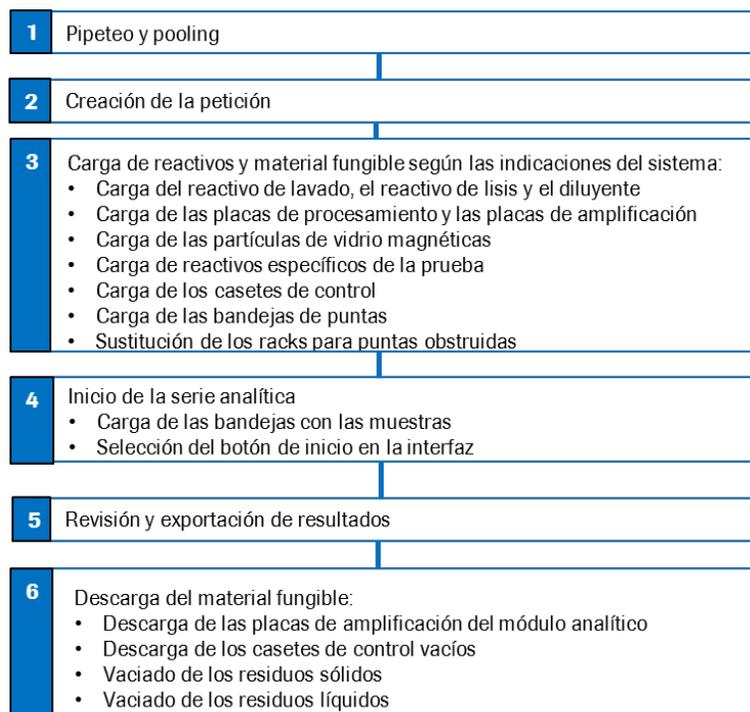
- No utilice los reactivos de la prueba **cobas® WNV**, el **cobas® WNV Control Kit**, el **cobas® NHP Negative Control Kit** o los reactivos **cobas omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Es de un solo uso.
- Consulte el Manual de usuario de los **cobas® 6800/8800 Systems** para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Realización de la prueba **cobas® WNV**

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

En la Ilustración 4 se resume el procedimiento.

Ilustración 4 Procedimiento de la prueba **cobas® WNV**



Resultados

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

Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie se procesa un control negativo [(-) C] y un control positivo [WNV (+) 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

Tabla 9 Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	Aviso	Resultado	Interpretación
(-) C	Q02	No válido	Toda la serie se considera inválida si el resultado del (-) C no es válido.
Control positivo	Aviso	Resultado	Interpretación
WNV (+) C	Q02	No válido	Toda la serie se considera inválida si el resultado de WNV (+) 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**® 6800/8800 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 positivos y el control negativo de la serie correspondiente también son válidos.

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

Tabla 10 Resultados de fragmento objetivo para la interpretación de los resultados de fragmento objetivo individuales

Resultados de fragmento objetivo	Interpretación
No reactivo al VNO	No se ha detectado ninguna señal del fragmento objetivo para el VNO y se ha detectado señal del CI.
Reactivo al VNO	Se ha detectado señal del fragmento objetivo para el VNO y la señal del CI puede detectarse o no.
No válido	No se ha detectado señal del fragmento objetivo ni del control interno.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® WNV se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® WNV 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 y exclusivamente 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 VNO 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**® WNV 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.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento - Muestras de donantes vivos

Límite de detección (LoD)

Estándar secundario de Roche/Aislados víricos

Los límites de detección (LoD) de la prueba cobas® WNV para el ARN de los linajes 1 y 2 del VNO se han determinado mediante el siguiente estándar:

- Estándar secundario de Roche para el linaje 1 del VNO, calibrado según el estándar de referencia para el VNO de salud canadiense (enfermedades infecciosas, Servicios de sangre de Canadá, 1800 Alta Vista, Ottawa, Ontario, K1G 4J5)
- Aislado ISS0513 para el linaje 2 del VNO suministrado por el National Centre for Immunobiologicals Research and Evaluation, Istituto Superiore di Sanità (ISS), Roma, Italia⁴¹

Para el estándar secundario de Roche, se prepararon tres series de dilución independientes del linaje 1 del VNO con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VNO). Cada serie de dilución se analizó con tres lotes distintos de kits de la prueba cobas® WNV con 21 réplicas por lote, para un total de 189 réplicas por concentración.

Para el aislado del linaje 2 del VNO, se prepararon paneles diluyendo material en stock con plasma humano conservado en EDTA negativo al virus (VNO). Cada serie de dilución se analizó con tres lotes distintos de kits de la prueba cobas® WNV con ocho réplicas por lote, para un total de 72 réplicas por concentración.

Para estimar el límite de detección (LoD) de los virus del linaje 1 y 2 del VNO se utilizó el análisis PROBIT 95% (Tabla 11) y PROBIT 50% (Tabla 12) 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 13 a la Tabla 14 se resumen respectivamente las tasas de reactividad observadas en los estudios de LoD para el linaje 1 y el linaje 2.

Tabla 11 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%
Linaje 1 de VNO	copias/ml	12,9	10,8	16,3
Linaje 2 de VNO	copias/ml	6,2	4,8	8,9

Tabla 12 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%
Linaje 1 de VNO	copias/ml	2,1	1,9	2,4
Linaje 2 de VNO	copias/ml	1,1	0,8	1,3

El factor de conversión para el linaje 1 del VNO trazable al 1.º estándar internacional de la OMS para el ARN del virus del Nilo Occidental (VNO), código NIBSC 18/206, es de 2,2 copias/UI, lo que equivale a 0,47 UI/copias.

Tabla 13 Resumen de las tasas de reactividad para el linaje 1 de VNO en plasma conservado en EDTA

Concentración de ARN de VNO (copias/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza del 95% (unilateral)
18,0	187	188	99,5%	97,5%
9,0	173	188	92,0%	88,0%
4,5	139	188	73,9%	68,1%
2,7	93	189	49,2%	43,0%
0,9	53	189	28,0%	22,7%

Tabla 14 Resumen de las tasas de reactividad para el linaje 2 de VNO en plasma conservado en EDTA

Concentración de ARN de VNO (copias/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza del 95% (unilateral)
22,8	72	72	100,0%	95,9%
15,2	72	72	100,0%	95,9%
7,6	69	72	95,8%	89,6%
3,8	64	72	88,9%	80,8%
2,3	53	72	73,6%	63,7%
0,8	30	72	41,7%	31,8%

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba cobas® WNV en los cobas® 6800/8800 Systems se ha determinado a partir del estándar secundario de Roche para el linaje 1 del VNO. El estudio se basó en el análisis de tres paneles de VNO en concentraciones de aproximadamente 18, 9 y 4,5 copias/ml. Las pruebas se han realizado para determinar los siguientes componentes de variabilidad:

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

Se analizaron 21 réplicas con cada uno de los tres paneles, lo que supone un total de 189 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 VNO analizados durante tres días, con tres lotes de reactivos y tres cobas® 8800 Systems distintos. La prueba cobas® WNV ofrece reproducibilidad durante varios días, en varios lotes de reactivos y en diferentes equipos. En la Tabla 15 se resumen los resultados de la variabilidad entre lotes.

Tabla 15 Resumen de la reproducibilidad entre lotes de reactivos de la prueba cobas® WNV

Analito	Concentración (copias/ml)	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
VNO	18,0	1	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		2	100% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100% (63/63)	94,2%	100,0%
	9,0	1	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	85,5% (53/62)	74,2%	93,1%
	4,5	1	64,5% (40/62)	51,3%	76,3%
		2	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%
		3	79,3% (50/63)	67,3%	88,5%

Inclusividad

El rendimiento de la prueba cobas® WNV para detectar las variantes del flavivirus VNO se ha determinado mediante el análisis de aislados en cultivo únicos de cada variante. Se analizaron un total de 10 aislados en cultivo positivos para el linaje 1 del VNO tras su dilución con plasma humano normal conservado en EDTA y negativo al virus (VNO) en una concentración aproximada de 36 copias/ml. La prueba detectó las 10 muestras de cultivo (Tabla 16).

Para las variantes del flavivirus VNO, se analizaron un total de 2 aislados en cultivo positivos para el virus de encefalitis japonesa (VEJ) con 4 réplicas tras su dilución con plasma humano normal conservado en EDTA negativo el virus (VNO). Se analizó un total de un aislado en cultivo positivo para el virus de la encefalitis de San Luís (VESL), el virus de la encefalitis de Murray Valley (VEMV) y el virus Kunjin (VKUN) con cuatro réplicas de cada aislado tras la preparación de diluciones logarítmicas con plasma normal conservado en citrato negativo al virus (VNO). La prueba detectó todos los aislados en cultivo (Tabla 17).

Tabla 16 Aislados en cultivo del linaje 1 del VNO

Variantes de flavivirus	Concentración (copias/ml)	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas)
VNO 1	36	100,0% (10/10)

Tabla 17 Aislados en cultivo de las variantes del flavivirus VNO

Dilución de muestras	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)			
	VEJ	VESL	VEMV	VKUN
1:1,00E+02	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+03	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+04	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+05	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+06	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)
1:1,00E+07	100% (8/8)	100% (4/4)	100% (4/4)	100% (4/4)

Especificidad analítica

Se evaluó la especificidad analítica de la prueba **cobas**® WNV mediante la reactividad cruzada con 27 microorganismos a una concentración de 10^6 partículas, copias o UFP/ml, incluyendo 20 aislados víricos, seis cepas bacterianas y un aislado de levadura (Tabla 18). Los microorganismos se añadieron a plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VNO) y se analizaron sin virus VNO y con virus VNO añadido a una concentración de aproximadamente 3 x LoD de la prueba **cobas**® WNV. Los microorganismos analizados no interfieren con la prueba **cobas**® WNV.

Tabla 18 Microorganismos analizados para la especificidad analítica

Virus	Flavivirus	Bacterias	Levadura
Adenovirus 5	Virus del dengue tipo 1	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	Virus Usutu*	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Virus Epstein-Barr		<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus del herpes simple de tipo 1		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Virus del herpes simple de 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 E			
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 B			
Virus de la gripe A			
Virus Chikungunya			
Virus de la varicela zóster			

* Reactividad cruzada al ser analizado sin VNO añadido debido a la homología de la secuencia nucleótida con VNO. La prueba **cobas**® WNV presenta reactividad cruzada con virus clínicamente relevantes pertenecientes a la familia *Flaviviridae*.

Se analizaron las muestras de plasma de cada uno de los estadios de la enfermedad (Tabla 19) sin virus VNO y con virus VNO añadido a una concentración aproximada de 3 x LoD de la prueba **cobas**® WNV. Estos estadios de la enfermedad no interfieren con la prueba **cobas**® WNV.

Tabla 19 Muestras de cada estadio de la enfermedad analizadas para la especificidad analítica

Estadio de la enfermedad		
Adenovirus tipo 5	Virus de la hepatitis A	Virus linfotrópico de células T humanas tipo II
Citomegalovirus	Virus de la hepatitis B	Virus del herpes simple tipo 1
Virus del dengue	Virus de la hepatitis C	Virus del herpes simple de tipo 2
Virus Epstein-Barr	Virus linfotrópico de células T humanas tipo I	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 35,3 g/l), hemoglobina (hasta 4,7 g/l), bilirrubina no conjugada (hasta 0,21 g/l), albúmina (hasta 61,3 g/l) y ADN humano (hasta 0,004 g/l) con y sin VNO añadido a una concentración de 3 x LoD de la prueba cobas® WNV. Las muestras que contienen estas sustancias endógenas no influyeron en la sensibilidad o especificidad de la prueba cobas® WNV.

Sustancias exógenas causantes de interferencias

Se analizaron muestras de plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VNO) con concentraciones anormalmente elevadas de fármacos (Tabla 20) sin virus VNO y con virus VNO añadido a una concentración de 3 x LoD de la prueba cobas® WNV. Estas sustancias exógenas no influyeron en la sensibilidad o especificidad de la prueba cobas® WNV.

Tabla 20 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® WNV mediante comparación con la prueba cobas® TaqScreen WNV

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® WNV y de la prueba cobas® TaqScreen WNV mediante 100 muestras individuales de plasma conservado en EDTA positivas con NAT, analizadas sin diluir y con una dilución de 1:6. También se analizaron 100 muestras de plasma conservadas en EDTA negativas para VNO sin diluir con ambos métodos.

Las muestras negativas para VNO 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 McNemars, lo que demuestra que el rendimiento de la prueba cobas® WNV y de la prueba cobas® TaqScreen WNV es equivalente (Tabla 21).

Tabla 21 Correlación de muestras positivas

Métodos		Resultados para VNO	
Prueba cobas® TaqScreen WNV	Prueba cobas® WNV	Sin diluir	Dilución 1:6
No reactivo	No reactivo	0	0
Reactivo	No reactivo	0	1*
No reactivo	Reactivo	0	1*
Reactivo	Reactivo	100	98
Total		100	100
Test de McNemar, valor p (bilateral, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0

* La misma muestra analizada sin diluir (< 100 cp/ml con el National Genetic Institute SuperQuant Assay para ARN de VNO) resultó reactiva para ambas pruebas.

Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba cobas® WNV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió VNO. Estas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 x LoD y se ejecutaron en pools de 1 (sin diluir). El estudio se realizó con el cobas® 8800 System y el cobas p 680 instrument (pipeteo y pooling).

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron reactivas para VNO, 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%].

Características clave de rendimiento - Muestras cadavéricas

Sensibilidad

La sensibilidad clínica de la prueba **cobas**® WNV para el ARN del VNO se evaluó mediante el análisis de un total de 60 muestras cadavéricas individuales negativas para el virus. De ellas, 35 muestras individuales se clasificaron como moderadamente hemolizadas (de color paja a rosa) y 25 muestras individuales se clasificaron como altamente hemolizadas (de color rojo a marrón). En total, se analizaron un total de 60 muestras individuales de donantes vivos negativas para el virus. Todas las muestras de donantes vivos y cadavéricos se dividieron de manera uniforme en tres lotes de reactivos y cinco grupos de adición de muestras clínicas (para VNO) con 12 muestras por grupo. A cada muestra de donante vivo y cadavérico se le añadió una muestra clínica única (VNO) a aproximadamente 5 x LoD de la muestra respectiva. Cada muestra cadavérica se diluyó en una proporción de 1:5,6 con **cobas omni** Specimen Diluent en el equipo y se analizó mediante el procedimiento de análisis de muestras cadavéricas.

Todas las muestras de donantes vivos y cadavéricos presentaron una tasa de reactividad del 100% (intervalo de confianza del 95%: 94,0-100%). La sensibilidad clínica observada en las muestras cadavéricas fue equivalente a la sensibilidad observada en las muestras de donantes vivos, según el Test exacto de Fisher, tal como se resume en la Tabla 22.

Tabla 22 Resumen de la tasa de reactividad en muestras de donantes vivos y cadavéricos de plasma conservado en EDTA

Analito	Muestra cadavérica	Muestra de donante vivo
	% de reactividad (Muestras reactivas/Muestras analizadas)	% de reactividad (Muestras reactivas/Muestras analizadas)
VNO	100% (60/60)	100% (60/60)
Test exacto de Fisher , valor p ($\alpha = 0,05$)	Sin diferencias significativas en las tasas de reactividad (p = 1,000)	

Especificidad

Se evaluó la especificidad de la prueba **cobas**® WNV en muestras de plasma y suero cadavérico conservadas en EDTA y se comparó con la especificidad de las muestras de donantes vivos mediante el análisis de réplicas únicas de 64 muestras de plasma cadavérico individuales conservadas en EDTA, de las cuales 40 muestras de donantes se clasificaron como moderadamente hemolizadas (de color paja a rosa) y 24 como altamente hemolizadas (de color rojo a marrón); 62 muestras de suero cadavérico individuales, de las cuales 42 muestras se clasificaron como moderadamente hemolizadas y 20 como altamente hemolizadas; 60 muestras de plasma individuales de donantes vivos seronegativos y 60 muestras de suero individuales de donantes vivos. El estudio se llevó a cabo con tres lotes de reactivos **cobas**® WNV independientes. Cada muestra cadavérica se diluyó en una proporción de 1:5,6 con **cobas omni** Specimen Diluent en el equipo y se analizó mediante el procedimiento de análisis de muestras cadavéricas. Todas las muestras de donantes vivos y cadavéricos de plasma y suero conservado en EDTA obtuvieron resultados no reactivos para una especificidad del 100%. La especificidad observada para muestras cadavéricas fue equivalente a la especificidad observada en las muestras de donantes vivos, según el Test exacto de Fisher ($\alpha = 0,05$), tal como se resume en la Tabla 23.

Tabla 23 Resumen de la especificidad en muestras de donantes vivos y cadavéricos de plasma y suero conservado en EDTA

Matrices	Tipo de muestra	Muestras no reactivas	Número de muestras válidas	% de no reactividad	Intervalo de confianza bilateral del 95%
Plasma conservado en EDTA	Donante cadavérico	64	64	100%	94,4%-100%
	Donante vivo	60	60	100%	94,0%-100%
Suero	Donante cadavérico	62	62	100%	94,2%-100%
	Donante vivo	60	60	100%	94,0%-100%
Resultados globales con el Test exacto de Fisher ($\alpha = 0,05$)		La especificidad de las muestras cadavéricas y las muestras de donantes vivos es equivalente: Test exacto de Fisher, $p = 1,000$			

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba **cobas® WNV** en **cobas® 6800/8800 Systems** se determinó a partir de 20 muestras de plasma cadavérico conservadas en EDTA (moderada y altamente hemolizadas) a las que se añadió el estándar secundario de Roche para el ARN del VNO a aproximadamente 5 x LoD de la prueba **cobas® WNV**. Los resultados se compararon con la reproducibilidad obtenida con 20 muestras de plasma de donantes vivos conservadas en EDTA a las que se añadió el estándar secundario de Roche a aproximadamente 5 x LoD de la prueba **cobas® WNV**.

Las pruebas se han realizado para determinar los siguientes componentes variables:

- Variabilidad entre días durante 6 días
- Variabilidad entre lotes con tres lotes de reactivos diferentes de la prueba **cobas® WNV**

Se analizó una réplica con cada uno de los 3 lotes de reactivos durante 6 días para un total de 18 réplicas por muestra de donante vivo y cadavérico. Cada muestra cadavérica se diluyó en una proporción de 1:5,6 con **cobas omni Specimen Diluent** en el equipo y se analizó mediante el procedimiento de análisis de muestras cadavéricas. Todos los datos de reproducibilidad válidos se evaluaron comparando las tasas de reactividad de las muestras de donantes vivos y cadavéricos (intervalos de confianza bilaterales del 95%) en todos los componentes variables. Se calculó el valor p exacto de Fisher para calibrar la importancia estadística de la diferencia entre proporciones de tasas de reacción observadas con muestras de donantes cadavéricos y vivos. No se observaron diferencias significativas.

La prueba **cobas® WNV** ofrece reproducibilidad durante varios días y en varios lotes de reactivos para muestras de donantes vivos y cadavéricos. En la Tabla 24 se resumen los resultados de la variabilidad entre lotes.

Tabla 24 Resumen de la reproducibilidad entre lotes de los reactivos de la prueba cobas® WNV

Analito	Lote de reactivos	Tipo de muestra	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%	Diferencias significativas con el Test exacto de Fisher ($\alpha = 0,05$)
VNO	1	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	

Evaluación clínica del rendimiento

Sensibilidad clínica – Pruebas de muestra positivas conocidas para el virus del Nilo Occidental

La sensibilidad clínica de la prueba **cobas**® WNV se evaluó mediante 530 muestras clínicas individuales conocidas como positivas a raíz del análisis NAT. El estudio se realizó en cuatro laboratorios de pruebas de forma que en cada uno se analizaron aproximadamente 135 muestras, sin diluir y con una dilución 1:6, y se utilizaron tres lotes diferentes del kit de la prueba **cobas**® WNV. Se excluyeron 17 de las 530 muestras clínicas individuales del análisis estadístico, según protocolo, porque no cumplían los criterios de inclusión de carga viral para el VNO. Es decir, el análisis se realizó con 513 muestras; no obstante, no se obtuvieron resultados válidos para dos de las muestras sin dilución, por lo que en el análisis solamente se incluyeron 511 resultados sin dilución. Las 513 muestras diluidas generaron resultados válidos.

La sensibilidad de la prueba **cobas**® WNV con muestras sin diluir en este estudio fue del 100% (intervalo de confianza del 95%: entre 99,3% y 100%) y, con muestras diluidas (1:6), del 98,8% (intervalo de confianza del 95%: entre 97,5% y 99,5%) (Tabla 25). Las seis muestras diluidas no reactivas se obtuvieron de muestras sin diluir con títulos virales bajos.

Tabla 25 Sensibilidad clínica de muestras positivas conocidas para el virus del Nilo Occidental

	Número de muestras analizadas	Número de muestras reactivas	Número de muestras no reactivas	Sensibilidad (%)	Sensibilidad (intervalo de confianza del 95%)	
					Límite inferior	Límite superior
Sin diluir	511*	511	0	100	99,3	100
1:6	513	507	6	98,8%	97,5	99,5

* No se obtuvieron resultados válidos para dos de las muestras sin diluir.

Especificidad clínica

La especificidad clínica de la prueba **cobas**® WNV se evaluó mediante el análisis de donaciones de sangre seleccionadas aleatoriamente en cuatro laboratorios externos. Se realizaron pruebas tanto de muestras individuales como de pools de seis. Se utilizaron tres lotes de reactivo **cobas**® WNV distintos en el estudio. La especificidad clínica de la prueba **cobas**® WNV se calculó en forma de porcentaje (intervalo de confianza bilateral del 95%) de las donaciones negativas para el VNO que habían generado resultados no reactivos con la prueba **cobas**® WNV. El número de donaciones evaluables era de 63.243 en las pruebas de pooling y de 10.823 en las pruebas individuales.

Resultados de las pruebas de pooling

La Tabla 26 muestra el cálculo de la especificidad clínica de la prueba cobas® WNV para las 63.243 donaciones evaluables en las pruebas de pooling. La especificidad clínica de la prueba cobas® WNV para las pruebas de pooling fue del 100,000% (63.243/63.243; intervalo de confianza del 95%: entre 99,994% y 100,000%) en este estudio.

Tabla 26 Especificidad clínica de la prueba cobas® WNV – Pruebas de pooling

Resultado de la prueba cobas® WNV	Estado de la donación para VNO*		Total
	Positivo	Negativo	
Reactivo al VNO	0	0	0
No reactivo al VNO	0	63.243	63.243
Total	0	63.243	63.243
Especificidad clínica (Intervalo de confianza del 95%)	-	100,000% (99,994%, 100,000%)	-

* El estado de donante para el VNO se asignó mediante un algoritmo informático basado en los patrones de reactividad de la prueba de la donación inicial y de las donaciones de seguimiento (si las hubiera).

La especificidad del pool de la prueba cobas® WNV para la detección del virus del Nilo Occidental para las donaciones iniciales fue del 100,000% (10.573/10.573; intervalo de confianza del 95%: entre 99,964% y 100,000%). Ninguno de los 10.573 pools de seis resultaron reactivos para la prueba cobas® WNV. Se observó una tasa de invalidez del 1,6% para los resultados de las muestras en pool debido al control interno o a errores del instrumento.

Resultados de las pruebas individuales

La Tabla 27 muestra el cálculo de la especificidad clínica de la prueba cobas® WNV para los 10.823 donantes evaluables de las pruebas de pooling. La especificidad clínica de la prueba cobas® WNV para las pruebas individuales fue del 100,000% (10.823/10.823; intervalo de confianza del 95%: entre 99,965% y 100,000%) en este estudio. Se observó una tasa de invalidez del 0,3% para los resultados de las muestras individuales debido al control interno, a los errores del instrumento, a las desviaciones del protocolo o a otros incidentes.

Tabla 27 Especificidad clínica de cobas® WNV – Pruebas individuales

Resultado de la prueba cobas® WNV	Estado de la donación para VNO*		Total
	Positivo	Negativo	
Reactivo al VNO	0	0	0
No reactivo al VNO	0	10.823	10.823
Total	0	10.823	10.823
Especificidad clínica (Intervalo de confianza del 95%)		100,000% (99,965%, 100,000%)	

* El estado de donante para el VNO se asignó mediante un algoritmo informático basado en los patrones de reactividad de la prueba de la donación inicial y de las donaciones de seguimiento (si las hubiera).

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba **cobas**® WNV para su uso con los **cobas**® 6800/8800 Systems se estableció mediante el análisis de un panel de ocho miembros formado por dos muestras de plasma negativas y dos muestras positivas para el VNO con tres concentraciones distintas (aproximadamente 0,5x, 1,0x y 3,0x el LoD de la prueba **cobas**® WNV).

Los operadores de los tres centros con el **cobas**® 8800 realizaron pruebas durante cinco días con cada uno de los tres lotes de reactivos **cobas**® WNV y ejecutaron dos series de panel válidas (serie = un panel + dos controles) por día para completar hasta 180 pruebas por tipo de virus de miembro del panel con cada una de las tres concentraciones.

Se analizaron todas las series y los resultados de las pruebas válidos mediante el cálculo del porcentaje de los resultados de la prueba reactivos para cada miembro del panel (Tabla 28). Este estudio demostró que la prueba **cobas**® WNV para uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems muestra un rendimiento reproducible entre las variables analizadas (lote, centro/instrumento, día, serie e intraserie) para la detección del VNO.

Tabla 28 Resultados de la prueba resumidos por centro, lote, día y serie (miembros del panel positivos)

Diana vírica	Concentración de carga viral	Centro		Lote		Día		Serie	
		ID	% de resultados positivos	ID	% de resultados positivos	ID	% de resultados positivos	ID	% de resultados positivos
VNO	0,5 x LoD	1	86,7% (52/60)	1	85,0% (51/60)	1	94,4% (34/36)	1	81,1% (73/90)
		2	90,0% (54/60)	2	91,7% (55/60)	2	72,2% (26/36)	2	91,1% (82/90)
		3	81,7% (49/60)	3	81,7% (49/60)	3	88,9% (32/36)	-	-
		-	-	-	-	4	86,1% (31/36)	-	-
		-	-	-	-	5	88,9% (32/36)	-	-
	1,0 x LoD	1	95,0% (57/60)	1	96,7% (58/60)	1	86,1% (31/36)	1	93,3% (83/89)
		2	100,0% (59/59)	2	88,3% (53/60)	2	94,4% (34/36)	2	92,2% (83/90)
		3	83,3% (50/60)	3	93,2% (55/59)	3	94,3% (33/35)	-	-
		-	-	-	-	4	94,4% (34/36)	-	-
		-	-	-	-	5	94,4% (34/36)	-	-
	3,0 x LoD	1	98,3% (59/60)	1	98,3% (59/60)	1	100,0% (36/36)	1	98,9% (89/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	97,2% (35/36)	-	-
		-	-	-	-	4	100,0% (36/36)	-	-
		-	-	-	-	5	100,0% (36/36)	-	-

Información adicional

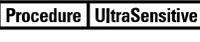
Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma y suero
Cantidad mínima de muestra requerida de un donante vivo	1.000 µl
Cantidad de muestra procesada de un donante vivo	850 µl
Cantidad mínima de muestra requerida de un donante cadavérico	300 µl
Cantidad de muestra procesada de un donante cadavérico	150 µl
Duración de la prueba	Los resultados están listos en menos de 3,5 horas desde la carga de la muestra en el sistema.

Símbolos

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

Tabla 29 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

 Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	 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	 Número de serie
 Intervalo asignado (copias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i>	 Centro
 Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 Procedimiento estándar
 Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 Esterilizado con óxido de etileno
 Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Almacenar en la oscuridad
 Código de serie	 Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	 Límite de temperatura
 Riesgo biológico	 Importador	 Archivo de definición de pruebas
 Número de catálogo	 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> .	 Límite inferior del intervalo asignado	 Procedimiento ultrasensible
 Fecha de recogida	 Hombres	 Identificación exclusiva del dispositivo
 Consulte las instrucciones de uso	 Fabricante	 Límite superior del intervalo asignado
 Suficiente para <n> pruebas	 Control negativo	 Línea de llenado de orina
 Contenido del kit	 Sin esterilizar	
 Control	 Nombre del paciente	
 Fecha de fabricación	 Número del paciente	 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.
 Dispositivo para pruebas cerca del paciente	 Abrir aquí	
 Dispositivo para autoexamen	 Control positivo	 Fecha de caducidad
	 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

Tabla 30 Fabricante



Fabricado en los Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Fabricado en los EE. UU.

Marcas registradas y patentes

Este producto está cubierto por una o más patentes de EE. UU. con n.º 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993 y 10358675, y por las patentes equivalentes extranjeras.

COBAS, COBAS OMNI, COBAS P, AMPERASE y TAQSCREEN son marcas comerciales de Roche.

La marca comercial “Armored RNA®” es propiedad de Asuragen, Inc. y Cenetron Diagnostics, Ltd.

El resto de nombres de productos 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 7,687,247 propiedad de Life Technologies y con licencia para Roche Molecular Systems, Inc.

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

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Bibliografia

1. Petersen LR, Brault AC, Nasci RS. West Nile virus: review of the literature. *JAMA*. 2013;310:308-315.
2. Gray TJ, Webb CE. A review of the epidemiological and clinical aspects of West Nile virus. *Intl J Gen Med*. 2014;7:193-203.
3. Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the genus *Flavivirus*. *J Virol*. 1998;72:73-83.
4. Burke DS, Monath TP. Flavirviruses. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al. editors, *Fields' Virology*, vol. 1. 4th ed.. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:pp. 1043-1126.
5. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile, and dengue viruses. *Nat Med*. 2004;10 Suppl 12:S98-S109.
6. Beasley DW, Davis CT, Whiteman M, Granwehr B, Kinney RM, Barrett AD. Molecular determinants of virulence of West Nile virus in North America. *Arch Virol Suppl*. 2004;18:35-41.
7. Papa A, Xanthopoulou K, Gewehr S, Mourelatos S. Detection of West Nile virus lineage 2 in mosquitoes during a human outbreak in Greece. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17:1176-1180.
8. Sambri V, Capobianchi M, Charrel R, et al. West Nile virus in Europe: emergence, epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Clin Microbiol Infect*. 2013;19:699-704.
9. Petersen LR, Busch MP. Transfusion-transmitted arboviruses. *Vox Sang*. 2010;98:495-503.
10. Artsob H, Gubler DJ, Enria DA, et al. West Nile Virus in the New World: trends in the spread and proliferation of West Nile Virus in the Western Hemisphere. *Zoonoses Public Health*. 2009;56:357-369.
11. May FJ, Davis CT, Tesh RB, Barrett AD. Phylogeography of West Nile virus: from cradle of evolution in Africa to Eurasia, Australia, and the Americas. *J Virol*. 2011;85:2964-2974.
12. Petersen LR, Hayes EB. West Nile virus in the Americas. *Med Clin North Am*. 2008;92:1307-1322.
13. Nash D, Mostashari F, Fine A, et al.;1999 West Nile Outbreak Response Working Group. The outbreak of West Nile virus infection in the New York area 1999. *N Engl J Med*. 2001;344:1807-1814.
14. Pealer LN, Marfin AA, Petersen LR, et al and the West Nile Virus Transmission Investigation Team. Transmission of West Nile Virus through blood transfusion in the United States in 2002. *N Engl J Med*. 2003;349:1236-1245.
15. Harrington T, Kuehnert MJ, Kamel H, et al. West Nile virus infection transmitted by blood transfusion. *Transfusion*. 2003;43:1018-1022.
16. Nett RJ, Kuehnert MJ, Ison MG, Orłowski JP, Fischer JM, Staples JE. Current practices and evaluation of screening solid organ donors for West Nile virus. *Transpl Infect Dis*. 2012;14:268-277.
17. Biggerstaff BJ, Petersen LR. Estimated risk of West Nile virus transmission through blood transfusion during an epidemic in Queens, New York City. *Transfusion*. 2002;42:1019-1026.
18. Custer B, Kamel H, Kiely NE, et al. Associations between West Nile virus infection and symptoms reported by blood donors identified through nucleic acid test screening. *Transfusion*. 2009;49:278-288.

19. Busch MP, Wright DJ, Custer B, et al. West Nile virus infections projected from blood donor screening data, United States, 2003. *Emerg Infect Dis.* 2006;12:395-402.
20. Sejvar JJ, Haddad MB, Tierney BC, et al. Neurologic manifestations and outcome of West Nile virus infection. *JAMA.* 2003;290:511-515.
21. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Fatal West Nile Virus infection after probable transfusion-associated transmission-Colorado, 2012. *MMWR.* 2013;62(31):622-624.
22. Kamar N, Bendell R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet.* 2012;379:2477-2488.
23. AABB website; West Nile Virus Vigilance Network (for West Nile virus 2006-2010). Data compiled by Susan L. Stramer, American Red Cross, available at <http://www.aabb.org/research/hemovigilance/Pages/wnv.aspx>.
24. Zou S, Foster GA, Dodd RY, Petersen LR, Stramer SL. West Nile fever characteristics among viremic persons identified through blood donor screening. *J Infect Dis.* 2010;202:1354-1361.
25. Mostashari F, Bunning ML, Kitsutani PT, et al. Epidemic West Nile encephalitis, New York, 1999: results of a household-based seroepidemiological survey. *Lancet.* 2001;358:261-264.
26. Sejvar JJ, Curns AT, Welburg L, et al. Neurocognitive and functional outcomes in person recovering from West Nile virus illness. *J Neuropsychol.* 2008;2(pt.2):477-499.
27. Burton JM, Kern RZ, Halliday W, et al. Neurological manifestations of West Nile virus infection. *Can J Neurol Sci.* 2004;31:185-193.
28. Robinson RL, Shahida S, Madan N, Rao S, Khardori N. Transient parkinsonism in West Nile virus encephalitis. *Am J Med.* 2003;115:252-253.
29. Sejvar JJ, Bode AV, Marfin AA, et al. West Nile virus-associated flaccid paralysis. *Emerg Infect Dis.* 2005;11:1021-1027.
30. Leis AA, Stokic DS. Neuromuscular manifestations of west nile virus infection. *Front Neurol.* 2012;3:37.
31. Emig M, Apple DJ. Severe West Nile virus disease in healthy adults. *Clin Infect Dis.* 2004;38:289-292.
32. Sadek JR, Pergam SA, Harrington JA, et al. Persistent neuropsychological impairment associated with West Nile virus infection. *J Clin Exp Neuropsychol.* 2010;32:81-87.
33. Lindsey NP, Staples JE, Lehman JA, Fischer M; Center for Disease Control and Prevention (CDC). Surveillance for human West Nile virus disease. *MMWR Surveill Summ.* 2010;59:1-17.
34. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
35. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493.
36. 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;80:869-878.
37. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
38. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.

39. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. 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, revised December 2009.
40. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
41. Pisani G, Pupella S, Cristiano K, et al. Detection of West Nile virus RNA (lineages 1 and 2) in an external quality assessment programme for laboratories screening blood and blood components for West Nile virus by nucleic acid amplification testing. *Blood Transfus.* 2012;10: 515–520.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 7.0 03/2021	<p>Se ha incluido el símbolo Rx Only en la primera página.</p> <p>Se han actualizado las advertencias de peligro.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Se ha actualizado el apartado Marcas registradas y patentes.</p> <p>Se ha actualizado la dirección del distribuidor.</p> <p>Se ha incluido la declaración "Fabricado en".</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>
Doc Rev. 8.0 02/2022	<p>Se ha actualizado el límite de detección (LoD) en el apartado Evaluación no clínica del rendimiento para incluir el factor de conversión.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Se ha actualizado para reflejar los Operadores Económicos.</p> <p>Se ha incluido el apartado Asistencia técnica.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>