

## **cobas**<sup>®</sup> **EBV**

---

### **Prueba cuantitativa de ácidos nucleicos para uso en los cobas<sup>®</sup> 5800/6800/8800 Systems**

Para diagnóstico *in vitro*

**cobas**<sup>®</sup> **EBV**

P/N: 09040943190

**Para uso en el sistema cobas<sup>®</sup> 5800**

**cobas**<sup>®</sup> **EBV/BKV Control Kit**

P/N: 09040951190

**cobas**<sup>®</sup> **Buffer Negative Control Kit**

P/N: 09051953190

**Para uso en sistemas cobas<sup>®</sup> 6800/8800**

**cobas**<sup>®</sup> **EBV/BKV Control Kit**

P/N: 08688214190 o

P/N: 09040951190

**cobas**<sup>®</sup> **Buffer Negative Control Kit**

P/N: 07002238190 o

P/N: 09051953190

# Tabla de contenido

<b>Uso previsto .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumen y explicación de la prueba .....</b>	<b>4</b>
<b>Reactivos y materiales .....</b>	<b>7</b>
Reactivos y controles de cobas® EBV .....	7
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras .....	10
Requisitos de almacenamiento de los reactivos .....	11
Requisitos para la manipulación de reactivos en el cobas® 5800 System .....	12
Requisitos para la manipulación de reactivos en los cobas® 6800/8800 Systems .....	12
Material adicional necesario para el cobas® 5800 System .....	13
Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems .....	13
Instrumentos y software necesarios.....	14
<b>Precauciones y requisitos de manipulación.....</b>	<b>15</b>
Advertencias y precauciones .....	15
Manipulación de reactivos.....	16
Buenas prácticas de laboratorio.....	16
<b>Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....</b>	<b>17</b>
Muestras.....	17
<b>Instrucciones de uso .....</b>	<b>18</b>
Notas sobre el procedimiento .....	18
Ejecución de la prueba cobas® EBV en el cobas® 5800 System .....	19
Ejecución de la prueba cobas® EBV en los cobas® 6800/8800 Systems .....	20
<b>Resultados.....</b>	<b>21</b>
Control de calidad y validez de los resultados en el cobas® 5800 System .....	21
Resultados del control en el cobas® 5800 System .....	21
Control de calidad y validez de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems .....	21
Interpretación de los resultados.....	22
Interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System.....	23

Interpretación de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems.....	23
Limitaciones del procedimiento .....	23
<b>Evaluación no clínica del rendimiento.....</b>	<b>24</b>
Características clave de rendimiento de los cobas® 6800/8800 Systems .....	24
Límite de detección (LoD) .....	24
Intervalo lineal.....	25
Precisión (intralaboratorio).....	26
Verificación del genotipo .....	27
Especificidad .....	27
Especificidad analítica.....	28
Especificidad analítica: sustancias interferentes.....	28
Correlación de métodos .....	30
Fallo de todo el sistema.....	30
Contaminación por arrastre .....	30
<b>Evaluación clínica del rendimiento realizada en los cobas® 6800/8800 Systems .....</b>	<b>31</b>
Reproducibilidad de la prueba cobas® EBV .....	31
Rendimiento de la prueba cobas® EBV .....	32
Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas .....	34
<b>Información adicional.....</b>	<b>35</b>
Características principales de la prueba.....	35
Símbolos.....	36
Asistencia técnica.....	37
Fabricante e importador.....	37
Marcas registradas y patentes.....	37
Copyright.....	37
Bibliografía .....	38
Revisión del documento .....	39

## Uso previsto

**cobas® EBV** es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ADN del virus de Epstein-Barr (EBV) en plasma humano conservado en EDTA en los **cobas® 5800/6800/8800 Systems**.

**cobas® EBV** se ha diseñado como complemento en el diagnóstico y la gestión del EBV en pacientes trasplantados. En los pacientes sometidos a control del EBV, las mediciones en serie del ADN pueden utilizarse para indicar la necesidad de posibles cambios en el tratamiento y para valorar la respuesta viral al tratamiento.

Los resultados de la prueba **cobas® EBV** deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio relevantes.

## Resumen y explicación de la prueba

### Información de referencia

Los pacientes trasplantados presentan un mayor riesgo de padecer numerosas infecciones víricas y bacterianas con mayor probabilidad de causar problemas de salud graves en la población trasplantada en relación con la población sana general. Este riesgo mayor se debe en parte a la disminución de la función del sistema inmune debido a los medicamentos inmunosupresores que reciben los pacientes trasplantados para reducir las probabilidades de rechazo del trasplante.<sup>1,2</sup>

EBV es un miembro de la familia Herpesviridae. Se trata de un virus de doble cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN) encapsulada (longitud aproximada 172 kb). A partir de las diferencias detectadas en EBNA-2 se han definido dos genotipos principales del EBV: tipo 1 y tipo 2. Las infecciones por EBV en humanos son bastante habituales: más del 90% de adultos están infectados, y la infección latente persiste durante toda la vida. El EBV provoca mononucleosis infecciosa en un subconjunto de adolescentes y adultos recién infectados, además de asociarse con varios tipos de cáncer, entre ellos el carcinoma nasofaríngeo, el linfoma de Burkitt y el linfoma de Hodgkin. El EBV puede ser la causa de trastornos linfoproliferativos en personas con inmunodeficiencia congénita o adquirida, incluidos pacientes trasplantados y pacientes con el síndrome del virus de inmunodeficiencia humana/inmunodeficiencia adquirida (HIV/SIDA).<sup>3</sup>

En los pacientes trasplantados, el EBV puede desencadenar enfermedades mediante la reactivación del virus latente a partir de las células B de memoria o mediante una nueva infección principal, especialmente en pacientes trasplantados negativos para el EBV que reciben órganos de donantes positivos para el EBV.<sup>3</sup> En estos casos, la enfermedad por EBV más grave es el trastorno linfoproliferativo postrasplante (PTLD), resultado de una proliferación no controlada de linfocitos, normalmente células B.<sup>4</sup> Por lo general, > 70% de los casos de PTLT en pacientes trasplantados están relacionados con la infección por EBV. El mayor riesgo de PTLT se produce durante el primer año posterior al trasplante y un > 90% de los casos de PTLT que se producen durante este periodo están relacionados con el EBV. Hasta un 20% de los casos de PTLT surgidos durante el primer año postrasplante son negativos para el EBV.<sup>4,5</sup>

Los factores de riesgo de un PTLT incluyen el seroestado negativo para EBV del destinatario en el momento del trasplante, ser joven, la exposición a anticuerpos que disminuyen la cantidad de linfocitos y el tipo de órgano trasplantado.<sup>5,6</sup>

Una identificación temprana de las infecciones primarias por EBV y el control del nivel de ADN permiten una intervención terapéutica precoz para evitar la progresión a una enfermedad relacionada con el EBV. Las directrices recomiendan un control habitual del EBV mediante pruebas de ácidos nucleicos cuantitativas (NAT), especialmente en pacientes trasplantados negativos para el EBV del grupo de pacientes trasplantados con riesgo elevado.<sup>4,5</sup>

Independientemente de que el umbral vírico médicamente relevante todavía sea objeto de debate como consecuencia de la variabilidad interensayo, el concepto de umbral crítico no parece discutible y se menciona en estudios de historia natural que demuestran una relación entre niveles de ADN de EBV superiores y un mayor riesgo de desarrollo de enfermedad por el EBV y PTLD.<sup>4,5,7</sup> Para el análisis del EBV se han utilizado tipos de muestra tanto de plasma como de sangre total, pero las pruebas sugieren que el plasma resulta más específico para la detección de los trastornos PTLD.<sup>4,5,7,8</sup>

Las intervenciones terapéuticas comunes para reducir los niveles de ADN del EBV y evitar el PTLD incluyen la reducción de las dosis de los medicamentos inmunosupresores y el tratamiento con anticuerpos supresores de células B.<sup>7</sup> La terapia anticipada para reducir los niveles de ADN del EBV funciona bien en la mayoría de los pacientes, aunque puede haber hasta un 20% de pacientes que desarrollen un PTLD, especialmente los que hace más de un año que han recibido el trasplante.<sup>7</sup>

La mayoría de las pruebas de laboratorio para la cuantificación del EBV no están estandarizadas, lo que genera una variabilidad interlaboratorio e interensayo en los resultados de ADN que impide comparar los niveles de ADN generados de laboratorios y pruebas distintos.<sup>7</sup> Para remediar este problema, la OMS ha creado un estándar internacional para la cuantificación del EBV con el que las pruebas estandarizadas pueden expresar los resultados en UI/ml.<sup>9</sup> Para garantizar unos resultados coherentes entre laboratorios a fin de mejorar la gestión clínica de los pacientes con un mayor riesgo de desarrollo de enfermedades relacionadas con el EBV o un PTLD resulta imprescindible poder realizar una valoración formal de la reproducibilidad y validez de los niveles de ADN del EBV.

### **Motivos para el uso de las pruebas NAT**

Con el objetivo de determinar el riesgo de que un paciente trasplantado sufra complicaciones relacionadas con el EBV, se lleva a cabo la serología del EBV tanto del donante como del receptor. No obstante, la serología no ofrece un nivel de sensibilidad o precisión suficiente para realizar un control de los pacientes después del trasplante. Los métodos de cultivo del EBV son lentos y carecen de valor predictivo en este contexto. En cambio, la detección directa de ADN del EBV con métodos de PCR a tiempo real ofrece potencialmente un amplio intervalo dinámico y una elevada precisión y especificidad.

### **Explicación de la prueba**

La prueba cobas® EBV es una prueba cuantitativa que se ejecuta en los cobas® 5800/6800/8800 Systems. cobas® EBV permite la detección y cuantificación de ADN de EBV en plasma conservado en EDTA de pacientes infectados. La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un estándar de cuantificación de ADN diferente del EBV (DNA-QS) que se añade a cada una de las muestras durante el procesamiento de las muestras. El DNA-QS también permite monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza tres controles externos: uno positivo de título alto, uno positivo de título bajo y uno negativo. Los controles externos positivo alto y positivo bajo se fabrican mediante dilución a partir de material en stock con un título rastreable al Estándar Internacional de la ONU para el EBV. Cada lote de kits de amplificación/detección presenta una calibración rastreable al Estándar Internacional de la ONU para el EBV.

## Principios del procedimiento

La prueba cobas® EBV se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación y detección mediante PCR. El cobas® 5800 System se ha diseñado como 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 de datos automática se realiza mediante el software cobas® 5800 o cobas® 6800/8800, que asigna los resultados de la prueba a todas las pruebas como diana no detectada, ADN del EBV detectado < LLoQ (límite de cuantificación inferior), ADN de EBV detectado > ULoQ (límite de cuantificación superior) o un valor del intervalo lineal  $LLoQ < x < ULoQ$ . Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente y de moléculas de DNA-QS de lambda añadidas se realiza simultáneamente. En resumen, 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 se eliminan en los siguientes pasos con el reactivo de lavado y los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos diana de la muestra se realiza mediante un enfoque de diana dual específica del virus a partir de regiones altamente conservadas del EBV localizadas en el gen EBNA-1 del EBV y el gen BMRF del EBV. La amplificación selectiva de DNA-QS se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del EBV. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias diana y de DNA-QS se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR con unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).<sup>10-12</sup> La enzima AmpErase, 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, los amplicones nuevos no se eliminan porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de cobas® EBV contiene dos sondas de detección específicas para las secuencias diana del EBV y una para DNA-QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes específicos para la diana para permitir la detección simultánea de fragmentos diana de EBV y DNA-QS en tres canales diana distintos.<sup>13,14</sup> La señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación de la PCR, la hibridación de la sonda con las plantillas específicas 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. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia generada por los marcadores emisores liberados para las dianas víricas y el DNA-QS.

# Reactivos y materiales

## Reactivos y controles de cobas® EBV

Los materiales suministrados para el ensayo cobas® EBV se detallan en la Tabla 1. Los materiales necesarios no proporcionados se indican en la Tabla 2, la Tabla 4, la Tabla 8 y la Tabla 9.

Consulte los apartados **Reactivos y materiales** y **Precauciones y requisitos de manipulación** para obtener información sobre los peligros del producto.

**Tabla 1** cobas® EBV

### cobas® EBV

Almacenar a 2-8 °C

Casete para 192 pruebas (P/N 09040943190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit 192 pruebas
<b>Solución de proteinasa (PASE)</b>	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % 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
<b>Estándar de cuantificación de ADN (DNA QS)</b>	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de ADN diferente de EBV con una región de unión a cebador diferente de EBV y una región exclusiva de unión a sonda (ADN no infeccioso), < 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	21,2 ml
<b>Buffer de elución (EB)</b>	Buffer Tris, 0,2 % de metil-4-hidroxibenzoato	21,2 ml
<b>Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)</b>	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1 % de azida sódica	7,5 ml
<b>Reactivo 2 de Master Mix para EBV (EBV MMX-R2)</b>	Buffer Tricina, acetato de potasio, < 18 % de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1 % de Tween 20, EDTA, < 0,12 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01 % de cebadores ascendente y descendente para EBV, < 0,01 % de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el estándar de cuantificación, < 0,01 % de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para EBV y el estándar de cuantificación del EBV, < 0,01 % de aptámero oligonucleótido, < 0,01 % de ADN polimerasa Z05D, < 0,10 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1 % de azida sódica	9,7 ml

**Tabla 2** cobas® EBV/BKV Control Kit**cobas® EBV/BKV Control Kit**

Almacenar a 2-8 °C

Para uso en el sistema cobas® 5800 (P/N 09040951190)

Para uso en sistemas cobas® 6800/8800 (P/N 08688214190 y P/N 09040951190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
<b>Control positivo bajo para EBV/BKV (EBV/BKV L(+))C)</b>	< 0,001% de ADN de EBV sintético (plásmido) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN de EBV no detectable mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  <b>ADVERTENCIA</b> H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. 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-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1).
<b>Control positivo alto para EBV/BKV (EBV/BKV H(+))C)</b>	< 0,001% de ADN de EBV sintético (plásmido) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN de EBV no detectable mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	  <b>ADVERTENCIA</b> H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. 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-4-isotiazolin-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® Buffer Negative Control Kit**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Almacenar a 2-8 °C

Para uso en el sistema cobas® 5800 (P/N 09051953190)

Para uso en sistemas cobas® 6800/8800 (P/N 07002238190 y P/N 09051953190)

<b>Componentes del kit</b>	<b>Composición del reactivo</b>	<b>Cantidad por kit</b>
<b>Control negativo para el buffer de cobas® (BUF (-) C)</b>	Buffer Tris, < 0,1 % de azida sódica, EDTA, 0,002 % de ARN poli Ar (sintético)	16 ml (16 × 1 ml)

## 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*
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> 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
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> 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
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	43 % (p/p) de tiocianato de guanidina**, 5 % (p/v) de polidocanol**, 2 % (p/v) de ditiotreitól**, citrato de sodio dihidratado EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.	4 × 875 ml	 <p><b>PELIGRO</b></p> <p>H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación.            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.            P273: Evítase 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</p>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1 % de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

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

\*\* Mezcla o sustancia peligrosa.

## Requisitos de almacenamiento de los reactivos

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 el cobas® 5800 o 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® EBV	2-8 °C
cobas® EBV/BKV Control Kit	2-8 °C
cobas® Buffer 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
cobas® EBV	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 36 días**
cobas® EBV/BKV Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 36 días**
cobas® Buffer 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. Los cobas® 6800/8800 Systems solamente permiten 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® EBV	No caducado	90 días desde el primer uso	Máx. 40 series	Máx. 40 horas
cobas® EBV/BKV Control Kit	No caducado	No aplicable*	No aplicable	Máx. 8 horas
cobas® Buffer 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
<b>cobas omni</b> Processing Plate 24	08413975001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate 24	08499853001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Plate 24	08413983001
Punta CORE TIPS con filtro, 1 ml	04639642001
Punta CORE TIPS con filtro, 300 µl	07345607001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos o Bolsa para residuos sólidos con complemento	07435967001 o 08030073001
Tubos secundarios <b>cobas omni</b> 13 × 75 (opcional)	06438776001

\* Póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para racks de muestras.

## Material adicional necesario para los cobas® 6800/8800 Systems

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

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos y recipiente de residuos sólidos o Bolsa para residuos sólidos con complemento y kit del cajón	07435967001 y 07094361001 o 08030073001 y 08387281001

## Instrumentos y software necesarios

El software **cobas**® 5800 y el paquete de análisis **cobas**® EBV para el **cobas**® 5800 System deben instalarse en el instrumento **cobas**® 5800. El software Data Manager y el PC para el **cobas**® 5800 System se suministran con el sistema.

Es necesario instalar el software **cobas**® 6800/8800 y el paquete de análisis **cobas**® EBV en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

**Tabla 10** Instrumentos

Equipo	P/N
<b>cobas</b> ® 5800 System	08707464001
<b>cobas</b> ® 6800 System (opción móvil)	06379672001
<b>cobas</b> ® 6800 System (fijo)	05524245001
<b>cobas</b> ® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001

Consulte la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario del **cobas**® 5800 System o los **cobas**® 6800/8800 Systems para obtener información adicional.

Nota: póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para tubos primarios y tubos secundarios, 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.
- El uso de la prueba cobas® EBV para el cribado de la presencia del EBV no se ha evaluado en sangre o productos sanguíneos.
- Todas las muestras de paciente 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.<sup>15, 16</sup> Solamente el personal competente en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® EBV y los cobas® 5800/6800/8800 Systems deberían llevar a cabo este procedimiento.
- 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 o potasio al 0,6 % en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- El cobas® EBV/BKV Control Kit contiene plasma derivado de sangre humana. El análisis del material original realizado mediante métodos de PCR muestra trazas aceptables de niveles bajos de ADN de EBV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- **No congele la sangre entera ni las muestras almacenadas en tubos primarios.**
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- 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 resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Dado que > 90% de adultos son portadores crónicos del EBV que pueden generar resultados de hasta 10<sup>8</sup> copias de EBV/ml en saliva, y dada la alta sensibilidad del ensayo, es importante implementar medidas adecuadas para el control de la contaminación en los laboratorios.<sup>17</sup>
- Informe a la autoridad competente local 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**® EBV, 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.
- 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. Debe cambiarse los guantes entre cada manipulación de muestras y kits **cobas**® EBV, EBV/BKV Low Positive Control (EBV/BKV L(+))C), EBV/BKV High Positive Control (EBV/BKV H(+))C), **cobas**® Buffer Negative Control (BUF (-)) C) y 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 0,6 % 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 un instrumento **cobas**® 5800 o **cobas**® 6800/8800, siga las instrucciones descritas en la Asistencia al usuario o la Guía del usuario de los **cobas**® 5800 o **cobas**® 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

## Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

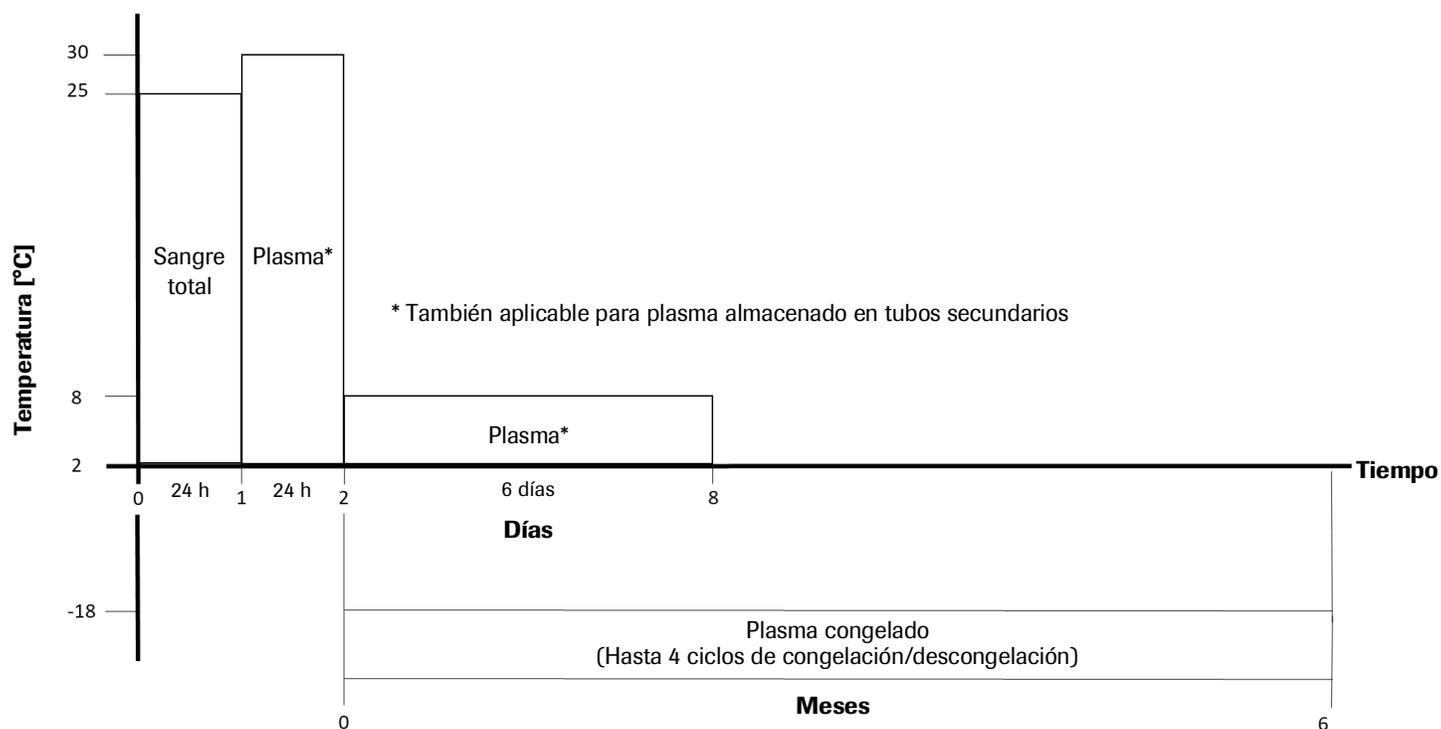
La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

Si se utilizan muestras congeladas en tubos secundarios, deje que se descongelen a temperatura ambiente (15-30 °C) por completo y, a continuación, agítelas unos instantes (entre 3 y 5 segundos) y centrifúguelas para que todo el volumen de la muestra se deposite en la parte inferior del tubo.

Después de la centrifugación existe la posibilidad de que las células se hayan resuspendido en el plasma, por lo que es importante plantearse una recentrifugación antes del procesamiento en el instrumento.

### Muestras

- La sangre total debería recogerse en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o en tubos estériles y utilizar EDTA como anticoagulante. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos de recogida de muestras. Consulte la Ilustración 1.
- La sangre total recogida en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o en tubos estériles con EDTA como anticoagulante pueden almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C antes de la preparación del plasma. La centrifugación debe realizarse conforme a las instrucciones del fabricante.
- Después de la separación, las muestras de plasma pueden almacenarse durante 24 horas a 2-30 °C en tubos primarios o secundarios y, a continuación:
  - Almacenarse en tubos primarios o secundarios un máximo de 6 días a 2-8 °C.
  - Almacenarse en tubos secundarios un máximo de 6 meses a  $\leq -18$  °C.
- Las muestras de plasma se mantienen estables hasta un máximo de cuatro ciclos de congelación/descongelación si se congelan a  $\leq -18$  °C.

**Ilustración 1** Condiciones de almacenamiento de muestras

- 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

### Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos **cobas® EBV**, el **cobas® EBV/BKV Control Kit**, el **cobas® Buffer 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 o la Guía del usuario del **cobas® 5800 System** o los **cobas® 6800/8800 Systems** para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

## Ejecución de la prueba cobas® EBV en el cobas® 5800 System

La prueba cobas® EBV puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 375 µl, de los cuales se procesan 200 µl. El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los cobas® 5800 Systems. La Ilustración 2 siguiente resume el procedimiento.

### Ilustración 2 Procedimiento de la prueba cobas® EBV en el cobas® 5800 System

<b>1</b>	Inicie una sesión en el sistema.
<b>2</b>	<p>Carga de las muestras en el sistema:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cargue los racks de muestras en el sistema.</li> <li>• El sistema se prepara automáticamente.</li> <li>• Solicite las pruebas.</li> </ul>
<b>3</b>	<p>Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.</li> <li>• Cargue los miniracks de control.</li> <li>• Cargue las puntas de procesamiento.</li> <li>• Cargue las puntas de elución.</li> <li>• Cargue las placas de procesamiento.</li> <li>• Cargue las placas de residuos líquidos.</li> <li>• Cargue las placas de amplificación.</li> <li>• Cargue el casete de MGP.</li> <li>• Cargue el diluyente de muestras.</li> <li>• Cargue el reactivo de lisis.</li> <li>• Cargue el reactivo de lavado.</li> </ul>
<b>4</b>	<p>Seleccione el botón de inicio de procesamiento en la interfaz de usuario para iniciar la serie analítica. Las series siguientes se iniciarán de forma automática si no se posponen manualmente.</p>
<b>5</b>	Revise y exporte los resultados.
<b>6</b>	<p>Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario.</p> <p>Limpieza del instrumento:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Descargue los miniracks de control vacíos.</li> <li>• Descargue el casete de reactivo específico de la prueba vacío.</li> <li>• Vacíe el cajón de placas de amplificación.</li> <li>• Vacíe los residuos líquidos.</li> <li>• Vacíe los residuos sólidos.</li> </ul>

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

La prueba cobas® EBV puede realizarse con un volumen de muestra mínimo de 375 µl, de los cuales se procesan 200 µl. El procedimiento de la prueba se describe con detalle en la Asistencia al usuario y/o la Guía del usuario de los cobas® 6800/8800 Systems. La Ilustración 3 siguiente resume el procedimiento.

### Ilustración 3 Procedimiento de la prueba cobas® EBV en los cobas® 6800/8800 Systems

<b>1</b>	Inicie una sesión en el sistema. Pulse el botón "Iniciar" para preparar el sistema. Solicite las pruebas.
<b>2</b>	Cargue los reactivos y el material fungible según las indicaciones del sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Cargue el casete de reactivo específico de la prueba.</li><li>• Cargue los casetes de control.</li><li>• Cargue las puntas de pipeta.</li><li>• Cargue las placas de procesamiento.</li><li>• Cargue el reactivo MGP.</li><li>• Cargue las placas de amplificación.</li><li>• Cargue el diluyente de muestras.</li><li>• Cargue el reactivo de lisis.</li><li>• Cargue el reactivo de lavado.</li></ul>
<b>3</b>	Carga de las muestras en el sistema: <ul style="list-style-type: none"><li>• Cargue los racks de muestras y los racks para puntas obstruidas en el módulo de suministro de muestras.</li><li>• Confirme que las muestras han sido aceptadas en el módulo de transferencia.</li></ul>
<b>4</b>	Inicie la serie analítica mediante el botón "Iniciar manualmente" de la interfaz de usuario o ejecute un inicio automático después de 120 minutos o cuando la serie esté llena.
<b>5</b>	Revise y exporte los resultados.
<b>6</b>	Retire y tape todos los tubos de muestra que cumplan los requisitos de volumen mínimo para utilizarlos en el futuro, en caso necesario. Limpieza del instrumento: <ul style="list-style-type: none"><li>• Descargue los casetes de control vacíos.</li><li>• Vacíe el cajón de placas de amplificación.</li><li>• Vacíe los residuos líquidos.</li><li>• Vacíe los residuos sólidos.</li></ul>

## Resultados

Los **cobas**® 5800/6800/8800 Systems determinan automáticamente la concentración de ADN del EBV en muestras y controles. La concentración de ADN del EBV se expresa en unidades internacionales por mililitro (UI/ml).

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

- Con cada serie se procesan un control negativo [(-) Ctrl] y dos controles positivos, un control positivo bajo [EBV/BKV L(+)]C y un control positivo alto [EBV/BKV H(+)]C al menos cada 72 horas y con cada lote de kit nuevo. Los controles positivos y/o negativos pueden programarse con mayor frecuencia en función de los procedimientos de laboratorio y/o la reglamentación local.
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software del **cobas**® 5800 System como en el informe para garantizar la validez de los resultados.

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

**NOTA:** el **cobas**® 5800 System se suministra con la configuración estándar para el análisis de un conjunto de controles (positivo y negativo) con cada serie, pero se puede modificar por un programa menos frecuente de hasta cada 72 horas según los procedimientos de laboratorio y la reglamentación local. Póngase en contacto con su ingeniero técnico de Roche y/o con el representante del servicio técnico de Roche para obtener más información.

### Resultados del control en el **cobas**® 5800 System

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

- Los controles se marcan como “Válido” en la columna “Resultados de control” cuando todas las dianas del control se han notificado como válidas. Los controles se marcan como “No válido” 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 “No válido” 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 uno de los controles no es válido, repita el análisis de todos los controles y de todas las muestras asociadas.

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

- Con cada serie se procesan un control negativo [(-) Ctrl] y dos controles positivos: un control positivo bajo [EBV/BKV L(+)]C y un control positivo alto [EBV/BKV H(+)]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 siempre y cuando no haya avisos para ninguno de los tres controles, es decir, el control negativo y los dos controles positivos: EBV/BKV L(+)]C, EBV/BKV H(+)]C. El resultado del control negativo se muestra como (-) Ctrl, mientras que los controles positivos bajo y alto se presentan como EBV/BKV L(+)]C y EBV/BKV H(+)]C.

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 11** Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	Aviso	Resultado	Interpretación
(-) Ctrl	Q02 (Serie de control errónea)	No válida	Un resultado no válido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	Aviso	Resultado	Interpretación
EBV/BKV L(+ )C	Q02 (Serie de control errónea)	No válida	Un resultado no válido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.
EBV/BKV H(+ )C	Q02 (Serie de control errónea)	No válida	Un resultado no válido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

Si la serie de control no es válida, repita todas las pruebas de la serie afectada.

## Interpretación de los resultados

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

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos.

**Tabla 12** Resultados de diana para la interpretación de los resultados de diana individuales

Resultados	Interpretación
Target Not Detected	ADN del EBV no detectado. Los resultados se indican como "EBV no detectado".
< Titer Min <sup>a</sup>	El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) del ensayo. Los resultados se indican como "EBV detectado, inferior a (título mínimo)". Título mínimo = 35,0 UI/ml
Titer	El título calculado está comprendido en el intervalo lineal del ensayo: mayor o igual que el título mínimo y menor o igual que el título máximo. Los resultados se indican como "(Título) de EBV detectado".
> Titer Max <sup>b</sup>	El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULOQ) del ensayo. Los resultados se indican como "EBV detectado, superior a (título máximo)". Título máximo = 1,0E+08 UI/ml

<sup>a</sup> Los resultados de muestra "< Titer Min" (diana detectada < LLOQ) deben ser interpretados junto con otros datos clínicos y no utilizarse como único argumento para las decisiones de tratamiento.

<sup>b</sup> El resultado de muestra "> Titer Max" hace referencia a las muestras positivas para EBV detectadas con títulos superiores al límite de cuantificación superior (ULOQ). Si se desea obtener un resultado cuantitativo, es necesario diluir la muestra original con plasma humano negativo para EBV conservado en EDTA y repetir la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

## Interpretación de los resultados en el cobas® 5800 System

Los resultados de las muestras se muestran en el software del **cobas® 5800**, en la aplicación de resultados.

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

- Las muestras asociadas con las series de control válidas se muestran como “Válido” en la columna “Resultados de control” cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como válidos. Las muestras asociadas con las series de control erróneas se muestran como “No válido” en la columna “Resultados de control” cuando todos los resultados de las dianas del control se han notificado como no válidos.
- 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 11 anterior.

Si una o más dianas de la muestra están marcadas como “No válido”, el software **cobas® 5800** muestra un aviso en la columna de avisos. En la vista de detalles podrá encontrar más información sobre el motivo por el que la(s) diana(s) de la muestra se ha notificado como no válidas, además de información sobre el aviso.

## Interpretación de los resultados en los cobas® 6800/8800 Systems

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

- Las muestras presentan un “Yes” en la columna “Válida” si todos los resultados de las dianas solicitadas muestran resultados válidos. Las muestras que presentan un “No” en la columna “Válida” pueden requerir alguna interpretación o acción adicional.
- Los valores para el resultado de la diana de la muestra individual deben interpretarse como se muestra en la Tabla 12 anterior.

## Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas® EBV** se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas® EBV/BKV Control Kit**, el **cobas® Buffer 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® 5800/6800/8800 Systems**.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con muestras de plasma conservado en EDTA. La realización de la prueba **cobas® EBV** con otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos. Las mediciones de la carga viral en plasma no se pueden comparar directamente con las de otros tipos de muestras.
- La cuantificación del ADN del EBV puede verse afectada por los métodos de obtención de la muestra, otros factores propios del paciente (tales como edad, presencia de síntomas) y/o el estadio de la infección.

- Como sucede con cualquier prueba molecular, las mutaciones en las regiones diana cubiertas por la prueba **cobas® EBV** pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar una cuantificación a la baja del virus o incluso impedir su detección.
- 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.
- La prueba **cobas® EBV** no se ha concebido para el cribado de la presencia de EBV en sangre o productos sanguíneos.

## Evaluación no clínica del rendimiento

### Características clave de rendimiento de los **cobas® 6800/8800 Systems**

#### Límite de detección (LoD)

##### Estándar internacional de la OMS

El límite de detección de la prueba **cobas® EBV** se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie del 1<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para el virus de Epstein-Barr para las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (1<sup>er</sup> estándar internacional de la OMS para EBV) obtenido del NIBSC (NIBSC 09/260), en plasma humano conservado en EDTA negativo para el EBV. Se analizaron paneles con seis niveles de concentración más un blanco con tres lotes de reactivo **cobas® EBV**, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

En las Tabla 13 a Tabla 15 se muestran los resultados obtenidos con el plasma conservado en EDTA. El estudio demuestra que con el lote de menor sensibilidad, la concentración para la que el análisis PROBIT espera una tasa de positividad del 95% es de 18,8 UI/ml con un intervalo de confianza del 95% comprendido entre 14,5 y 27,5 UI/ml para plasma conservado en EDTA. La concentración más baja con una tasa de positividad  $\geq 95\%$  es de 20,0 UI/ml en plasma conservado en EDTA.

**Tabla 13** Límite de detección en plasma conservado en EDTA, Lote 1

Concentración del título de entrada (ADN del EBV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	62	98,4
20,0	63	61	96,8
10,0	63	53	84,1
5,0	63	37	58,7
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95 %	18,8 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 14,5-27,5 UI/ml		

**Tabla 14** Límite de detección en plasma conservado en EDTA, Lote 2

Concentración del título de entrada (ADN del EBV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	63	100,0
10,0	63	58	92,1
5,0	63	35	55,6
2,5	63	20	31,8
0,0	63	0	0,0
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95 %	12,4 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 10,0-17,0 UI/ml		

**Tabla 15** Límite de detección en plasma conservado en EDTA, Lote 3

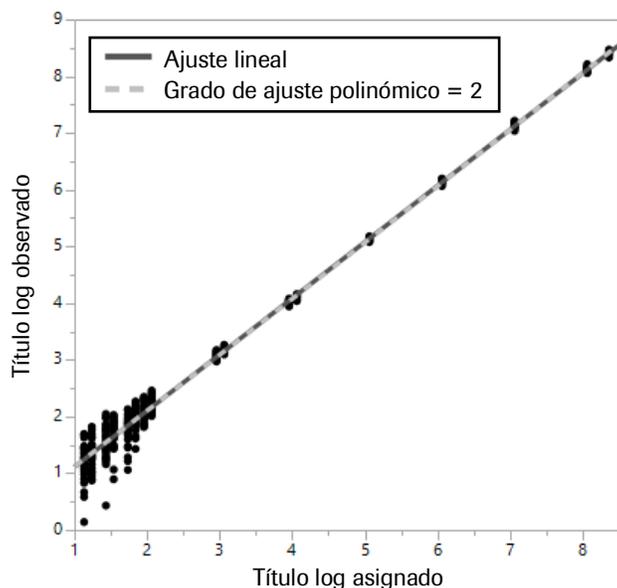
Concentración del título de entrada (ADN del EBV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50,0	63	63	100,0
35,0	63	63	100,0
20,0	63	62	98,4
10,0	63	48	76,2
5,0	63	38	60,3
2,5	63	26	41,3
0,0	63	0	0,0
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95 %	18,6 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 14,4-27,1 UI/ml		

## Intervalo lineal

La linealidad de la prueba **cobas**® EBV se evaluó con una serie de diluciones formadas por un panel de 17 miembros del panel con ADN del genotipo 1 del EBV que cubren todo el intervalo lineal del ensayo. Para preparar los 11 miembros del panel que cubren todo el intervalo lineal se utilizó stock de ADN de lambda de título elevado. Se utilizó una muestra clínica para preparar 6 miembros del panel para los niveles intermedio e inferior del intervalo lineal.

Se analizó cada miembro del panel en 36 réplicas con tres lotes de reactivos **cobas**® EBV. Los resultados se muestran en la Ilustración 4.

Se demostró que la prueba **cobas**® EBV era lineal entre 1,40E+01 UI/ml y 2,30E+08 UI/ml y presenta una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior o igual que  $\pm 0,1 \log_{10}$  en plasma humano conservado en EDTA (consulte la Ilustración 4). A lo largo del intervalo lineal, la exactitud de la prueba fue de  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Ilustración 4** Determinación del intervalo lineal para plasma conservado en EDTA

### Precisión (intralaboratorio)

La precisión de la prueba cobas® EBV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de cultivos de ADN de EBV (genotipo 1) de título elevado en plasma conservado en EDTA negativo para el EBV. Se analizaron seis niveles de dilución en 72 réplicas para cada nivel con los tres lotes de reactivo cobas® EBV en tres instrumentos diferentes y con tres usuarios distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® EBV en los cobas® 6800/8800 Systems totalmente automatizados. Por lo tanto, la precisión a la que se hace referencia en este documento engloba todas las fases del procedimiento de la prueba. Los resultados se muestran en la Tabla 16.

La prueba cobas® EBV presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre  $1,08E+02$  UI/ml y  $5,40+07$  UI/ml.

**Tabla 16** Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® EBV

Concentración nominal [UI/ml]	Concentración asignada [UI/ml]	Plasma conservado en EDTA			
		Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
		SD	SD	SD	SD agrupada
$5,00E+07$	$5,40E+07$	0,03	0,04	0,04	0,04
$1,00E+06$	$1,08E+06$	0,02	0,03	0,02	0,02
$1,00E+05$	$1,08E+05$	0,02	0,02	0,03	0,02
$1,00E+04$	$1,08E+04$	0,04	0,02	0,03	0,03
$1,00E+03$	$1,08E+03$	0,05	0,05	0,05	0,05
$1,00E+02$	$1,08E+02$	0,17	0,18	0,15	0,17

## Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba cobas® EBV para el genotipo 2 del EBV se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección
- Verificación del intervalo lineal

### Verificación del límite de detección para el genotipo 2

Se diluyó el ADN del EBV para el genotipo 2 en plasma conservado en EDTA negativo para el EBV con tres niveles de concentración distintos. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 63 réplicas para cada nivel. El análisis se realizó con tres lotes de reactivos cobas® EBV utilizando varias series, en diferentes días, con usuarios e instrumentos distintos. Los resultados demuestran que la prueba cobas® EBV es capaz de detectar el ADN del EBV para el genotipo 2 en una concentración de 18,8 UI/ml con una tasa de positividad  $\geq 95\%$ .

### Verificación del intervalo lineal para el genotipo 2

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de los genotipos de la prueba cobas® EBV estaba formada por panel de ocho miembros con el que se cubre el intervalo lineal del ensayo. El análisis se realizó con tres lotes de reactivos cobas® EBV con los que se analizaron 12 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se verificó el intervalo lineal de la prueba cobas® EBV para el genotipo 2.

## Especificidad

La especificidad de la prueba cobas® EBV se determinó mediante el análisis de muestras de plasma conservadas en EDTA negativas para el EBV obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 101 muestras individuales de plasma conservado en EDTA con tres lotes de reactivo de cobas® EBV. Todas las muestras dieron negativo para ADN del EBV. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba cobas® EBV fue del 100% (intervalo de confianza unilateral inferior del 95%: 97,08%).

## Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba cobas® EBV se evaluó mediante la dilución de un panel de microorganismos con una concentración de 1,00E+06 unidades/ml (células/ml, UFC/ml, UFI/ml, UCC/ml) para bacterias y levadura y entre 3,00E+05 y 1,00E+06 unidades/ml (UI/ml, copias/ml, células/ml, TCID<sub>50</sub>/ml) para virus con plasma conservado en EDTA tanto positivo como negativo para el ADN de EBV. En la Tabla 17 se indican los organismos específicos analizados. Se evaluó cada miembro del panel con la prueba cobas® EBV. Ninguno de los patógenos distintos del EBV interfirió en el rendimiento de la prueba.

**Tabla 17** Microorganismos analizados para reactividad cruzada

Virus	Bacterias	Levadura
Adenovirus tipo 5	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Poliomavirus BK	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
Virus de la hepatitis B	<i>Clostridium perfringens</i>	-
Virus de la hepatitis C	<i>Enterococcus faecalis</i>	-
Virus del herpes simple tipo 1	<i>Escherichia coli</i>	-
Virus del herpes simple tipo 2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-
Virus del herpes humano tipo 6	<i>Listeria monocytogenes</i>	-
Virus del herpes humano tipo 7	<i>Mycobacterium avium</i>	-
Virus del herpes humano tipo 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
Virus de inmunodeficiencia humana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
Virus de inmunodeficiencia humana 2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-
Virus del papiloma humano	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-
Virus JC	<i>Salmonella enterica</i>	-
Parvovirus B19	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Virus del simio 40		
Virus de la varicela zóster	-	-

## Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (33,0 g/l), bilirrubina conjugada (0,2 g/l), bilirrubina no conjugada (0,2 g/l), albúmina (60,0 g/l), hemoglobina (2,0 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras en presencia y ausencia de ADN del EBV. El análisis de las sustancias interferentes endógenas demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® EBV.

También se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 18 con una concentración tres veces superior a la C<sub>max</sub> tanto en presencia como en ausencia de ADN del EBV.

Se ha demostrado que ninguna de las posibles sustancias interferentes afecta al rendimiento de la prueba.

**Tabla 18** Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia mediante cuantificación del ADN del EBV con la prueba cobas® EBV

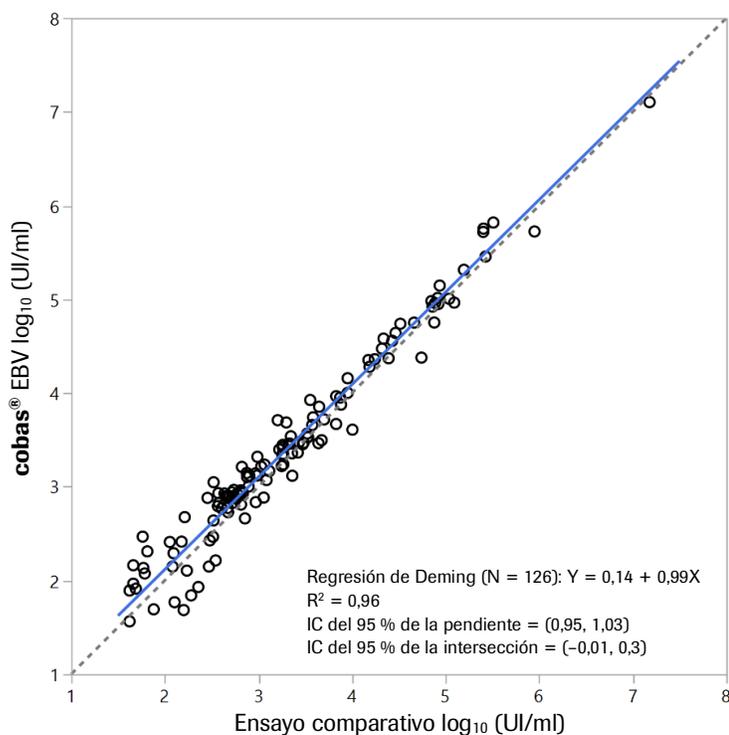
<b>Clase de fármaco</b>	<b>Nombre genérico del fármaco</b>	
Antimicrobiano	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Clavulanato de potasio	Ticarcilina disódica
	Fluconazol	Trimetoprima
	Piperacilina	Vancomicina
	Tazobactam sódico	Micafungina
Compuestos para el tratamiento de los virus del herpes	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet
	Aciclovir	Letermovir
Inmunosupresores	Azatioprina	Prednisona
	Ciclosporina	Sirolimus
	Everolimus	Tacrolimus
	Micofenolato mofetil	Ácido micofenólico

## Correlación de métodos

El rendimiento de la prueba cobas® EBV se determinó mediante un ensayo comparativo a través del análisis de muestras de plasma conservado en EDTA obtenidas de pacientes infectados con el EBV. Las muestras de plasma conservado en EDTA, dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas, se analizaron como réplicas individuales. Se realizó el análisis de la regresión de Deming.

En la Ilustración 5 se muestran los resultados de la regresión de Deming.

**Ilustración 5** Análisis de regresión de la prueba cobas® EBV vs. ensayo comparativo



## Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba cobas® EBV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió una muestra clínica positiva para EBV. Estas muestras se analizaron con una concentración de  $3 \times \text{LoD}$ .

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para la diana del EBV, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0% (intervalo de confianza unilateral superior del 95% de 2,95%).

## Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba cobas® EBV se determinó mediante el análisis de 240 réplicas de una muestra de matriz negativa al EBV y de 225 réplicas de una muestra de EBV de título elevado con una concentración aproximada de  $2,00E+07$  UI/ml. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

Las 240 réplicas de la muestra negativa resultaron negativas, por lo que la tasa de contaminación por arrastre fue del 0 % (intervalo de confianza unilateral superior del 95 % de 1,24 %).

## Evaluación clínica del rendimiento realizada en los cobas® 6800/8800 Systems

### Reproducibilidad de la prueba cobas® EBV

La reproducibilidad de la prueba cobas® EBV se evaluó en relación con diversos factores (lote de reactivo, centro de análisis, serie y días de análisis) que pudieran afectar a los resultados comunicados en las pruebas clínicas de rutina. La evaluación se llevó a cabo en 3 centros de análisis con 3 lotes de reactivo y un panel de muestras positivas y negativas que dio lugar a un total de 270 pruebas (sin incluir los controles). Los paneles estaban compuestos por plasma conservado en EDTA negativo para IgG anti ACV del EBV y se analizaron en busca de EBV con un protocolo de liberación de NAT del plasma. Posteriormente se completaron con un estándar internacional de la OMS para el EBV, sobrenadante de cultivo celular del EBV o fagémido lambda con ADN del EBV. Dos usuarios de cada centro analizaron cada lote de reactivo durante 5 días. Se llevaron a cabo dos series analíticas (1 serie analítica = 1 serie; 1 serie = 1 panel + 3 controles) por operador cada día y en cada serie analítica se analizaron 3 réplicas de cada miembro del panel. Los resultados de la evaluación se resumen en la Tabla 19.

**Tabla 19** Porcentaje atribuible de la variación total (%TV), la desviación estándar (SD) de la precisión total y el CV (%) lognormal de la concentración de ADN del EBV ( $\log_{10}$  UI/ml) por miembro positivo del panel

Concentración de ADN de EBV esperada ( $\log_{10}$ UI/ml)	Concentración de ADN de EBV media observada <sup>a</sup> ( $\log_{10}$ UI/ml)	Número de pruebas <sup>b</sup>	Lote %TV <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Centro %TV <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Día/Operador %TV <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Serie %TV <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Intraserie %TV <sup>c</sup> (CV%) <sup>d</sup>	Precisión total SD <sup>e</sup>	Precisión total % de CV <sup>d</sup>
2,02	2,09	270	11 % (11,97)	2 % (5,30)	0 % (0,00)	3 % (6,34)	84 % (34,25)	0,158	37,56
3,70	3,68	270	43 % (10,07)	15 % (5,92)	0 % (0,00)	16 % (6,23)	26 % (7,81)	0,067	15,43
4,70	4,68	270	39 % (8,54)	10 % (4,24)	0 % (0,00)	24 % (6,63)	28 % (7,18)	0,059	13,70
5,70	5,50	268	7 % (11,39)	58 % (34,36)	0 % (0,00)	21 % (20,18)	15 % (17,08)	0,191	46,16
7,70	7,76	270	27 % (8,63)	15 % (6,52)	0 % (0,88)	13 % (6,01)	45 % (11,26)	0,073	16,83

<sup>a</sup> Calculada mediante el procedimiento SAS MIXED.

<sup>b</sup> Número de pruebas válidas con nivel de ADN detectable.

<sup>c</sup> %TV = Contribución porcentual a la variación total.

<sup>d</sup> CV% = Coeficiente porcentual lognormal de la variación =  $\sqrt{10^{[SD^2 \times \ln(10)]} - 1} \times 100$ .

<sup>e</sup> Cálculo realizado utilizando la variabilidad total del procedimiento SAS MIXED.

Nota: la tabla únicamente incluye resultados con nivel de ADN detectable. SD = desviación estándar. CV = coeficiente de variación; EBV = virus de Epstein-Barr.

La prueba cobas® EBV mostró una reproducibilidad clínica aceptable con la respectiva concentración comparativa. Además, el sistema detectó el 100 % de las muestras 3 × LLoQ. Los cobas® 6800 y cobas® 8800 Systems comparten un diseño modular y mostraron un funcionamiento equivalente con la prueba cobas® EBV. Todos los límites de confianza del

95 % estimados para la diferencia entre 2 mediciones de la misma persona se situaron en  $\pm 0,53 \log_{10}$  UI/ml, lo que indica que el ensayo puede evaluar los cambios en los niveles de ADN del EBV que se consideran clínicamente significativos.

De las 270 pruebas válidas de los miembros negativos del panel analizadas en los cobas® 6800/8800 Systems, 14 muestras (5,19 %) mostraron una detección de positividad < LLoQ. Los resultados no se asociaron a un instrumento/centro o lote de reactivos en concreto. La PCR semianidada y la secuenciación de ADN confirmaron la presencia de ADN del EBV en estas muestras.

## Rendimiento de la prueba cobas® EBV

El rendimiento clínico de la prueba cobas® EBV se evaluó además en tres centros de análisis mediante la medición de los niveles de ADN del EBV en muestras clínicas (diluidas y sin diluir) de pacientes infectados y no infectados por EBV y muestras artificiales de plasma conservadas en EDTA a las que se añadió cultivo de virus EBV y su posterior comparación con una prueba de ácidos nucleicos desarrollada en laboratorio (LDT) consolidada (LDT para comparación del EBV). De todas las muestras analizadas con la prueba cobas® EBV y la prueba de comparación del EBV, un total de 464 muestras (439 muestras clínicas diluidas o sin diluir procedentes de 72 personas trasplantadas y 25 muestras artificiales) resultaron válidas con ambos ensayos y evaluables para el análisis de la concordancia clínica.

**Tabla 20** Análisis de concordancia entre la prueba cobas® EBV y la prueba LDT de comparación con respecto a los resultados de ADN del EBV para todas las muestras

cobas® EBV (log <sub>10</sub> UI/ml)	LDT de comparación del EBV (log <sub>10</sub> UI/ml) Diana no detectada	LDT de comparación del EBV (log <sub>10</sub> UI/ml) < LLoQ (< 2)	LDT de comparación del EBV (log <sub>10</sub> UI/ml) De 2 a < 2,6	LDT de comparación del EBV (log <sub>10</sub> UI/ml) De 2,6 a < 3,2	LDT de comparación del EBV (log <sub>10</sub> UI/ml) De 3,2 a 3,8	LDT de comparación del EBV (log <sub>10</sub> UI/ml) > 3,8	Total
Diana no detectada	95	17	17	0	0	0	129
< LLoQ (< 2)	39	46	75	11	0	0	171
De 2 a < 2,6	1	2	16	37	6	0	62
De 2,6 a < 3,2	1	0	5	15	30	1	52
De 3,2 a 3,8	0	0	0	0	9	11	20
> 3,8	0	0	0	0	1	29	30
Total	136	65	113	63	46	41	464
Concordancia de columna (%)	(134/136) 98,5%	(65/65) 100%	(96/113) 85,0%	(52/63) 82,5%	(40/46) 87,0%	(40/41) 97,6%	-
(IC con porcentaje del 95 %)ª	(94,8 %, 99,6 %)	(94,4 %, 100 %)	(77,2 %, 90,4 %)	(71,4 %, 90,0 %)	(74,3 %, 93,9 %)	(87,4 %, 99,6 %)	-

Nota: LLoQ = límite de cuantificación inferior de la LDT de comparación del EBV (100 UI/ml).

Desviación estándar de la prueba LDT de comparación del EBV estimada a 0,3 log<sub>10</sub> UI/ml (estudio de precisión analítica de la LDT del EBV).

En la tabla se incluyen los pares de muestras evaluables para el análisis de la concordancia clínica.

ª Independencia asumida entre todas las muestras.

IC = intervalo de confianza.

La secuenciación del ADN en las muestras representativas de personas con resultados caracterizados por una desviación constante de más de 1 log<sub>10</sub> UI/ml del nivel de ADN no reveló ningún error de coincidencia de la secuencia para dianas del cebador o la sonda para el ensayo cobas® EBV.

Se definieron los resultados discordantes como aquellos alejados de la diagonal en más de un cuadro (indicados con sombreado). Para la concordancia de la columna Diana no detectada con LDT, se combinaron las celdas Diana no detectada con cobas® EBV y < LLoQ (< 2). El motivo para añadir las células adyacentes < LLoQ y Diana no detectada para la columna Diana no detectada reside en que la diferencia entre Diana no detectada y < LLoQ no es clínicamente significativa pero sí que lo es analíticamente en el extremo inferior del rango de medición, por lo que pueden verse afectadas por errores aleatorios.

De las 43 muestras negativas con la prueba LDT de comparación del EBV recogidas para la estimación del porcentaje de concordancia de negativos (PCN) con la prueba cobas® EBV, 41 muestras resultaron negativas según cobas® EBV y, por lo tanto, el PCN fue del 95,4 % con un IC exacto del 95 % comprendido entre el 84,2 % y el 99,4 %. Las dos muestras negativas con la prueba LDT de comparación del EBV resultaron positivas (< LLoQ) con la prueba cobas® EBV y seropositivas para la IgG anti ACV del EBV y la IgG EBNA-1 según pruebas serológicas complementarias.

La concordancia entre las pruebas cobas® EBV y LDT de comparación del EBV también se evaluó utilizando distintos umbrales clínicos.

**Tabla 21** Resumen de concordancia entre la prueba cobas® EBV y la prueba LDT de comparación del EBV con distintos umbrales para todas las muestras

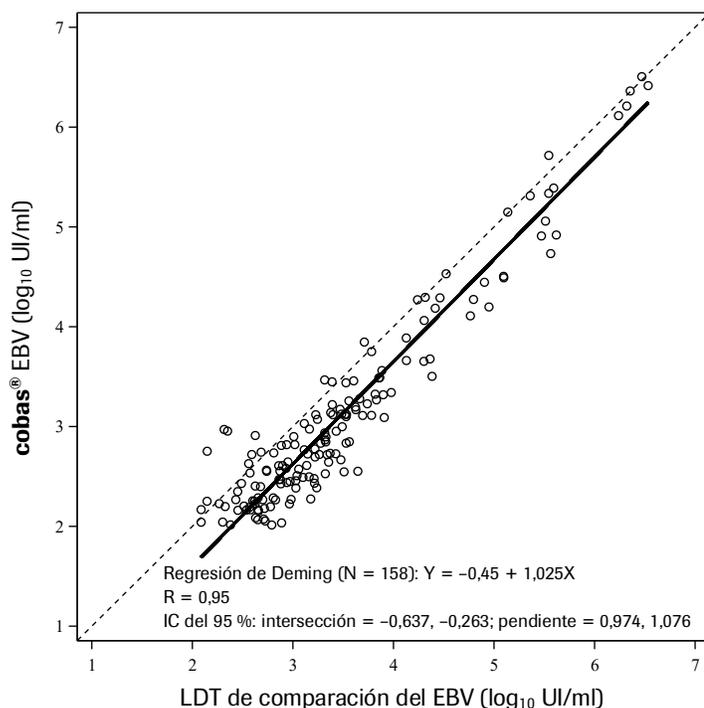
	Porcentaje de concordancia < umbral IC del 95 % <sup>b</sup> (n/N)	Porcentaje de concordancia ≥ umbral IC del 95 % <sup>b</sup> (n/N)
Diana no detectada	98,5 % (134/136) (94,8 %, 99,6 %)	89,6 % (294/328) (85,9 %, 92,5 %)
LLoQ <sup>a</sup> (2,0 log <sub>10</sub> UI/ml)	98,0 % (197/201) (95,0 %, 99,2 %)	60,8 % (160/263) (54,8 %, 66,5 %)
3,0 log <sub>10</sub> UI/ml	100,0 % (363/363) (99,0 %, 100,0 %)	64,4 % (65/101) (54,6 %, 73,0 %)
4,0 log <sub>10</sub> UI/ml	100,0 % (431/431) (99,1 %, 100,0 %)	84,8 % (28/33) (69,1 %, 93,3 %)

<sup>a</sup> LLoQ = límite de cuantificación inferior de la prueba LDT de comparación del EBV (100 UI/ml).

<sup>b</sup> IC = intervalo de confianza.

De todas las muestras analizadas con la prueba cobas® EBV que resultaron positivas para EBV con la prueba de comparación del EBV, un total de 158 (139 muestras clínicas diluidas o sin diluir procedentes de 28 personas trasplantadas y 19 muestras artificiales) resultaron evaluables para el análisis de correlación realizado en los tres centros de análisis.

**Ilustración 6** Correlación entre la prueba **cobas**® EBV y la prueba LDT de comparación del EBV para todas las muestras: gráfico de regresión lineal de Deming de los niveles de ADN ( $\log_{10}$  UI/ml)



Un gráfico de sesgo adicional de las diferencias del nivel de ADN indicó una diferencia sistemática entre ambos ensayos que se mantiene constante en el intervalo lineal superpuesto. El IC del 95 % de la intersección de la línea ajustada en los gráficos de sesgo se situó entre el  $-0,456$  y el  $0,104$ , valor comprendido dentro del  $\pm 0,6 \log_{10}$  UI/ml ( $\pm 2$  veces la desviación estándar de la precisión analítica de la LDT de comparación del EBV).

Asimismo, el sesgo medio se estimó en  $-0,364 \log_{10}$  UI/ml y la diferencia sistemática entre ambos ensayos fue de  $-0,352 \log_{10}$  UI/ml y de  $-0,376 \log_{10}$  UI/ml para las muestras con unos niveles de ADN de 3 y 4  $\log_{10}$  UI/ml, respectivamente.

## Equivalencia entre sistemas/Comparación de sistemas

La equivalencia entre los **cobas**® 5800, **cobas**® 6800 y los **cobas**® 8800 Systems se demostró a partir de estudios de rendimiento. Los resultados incluidos en las Instrucciones de uso hacen patente la equivalencia de rendimiento entre todos los sistemas.

## Información adicional

### Características principales de la prueba

<b>Tipo de muestra</b>	Plasma conservado en EDTA
<b>Cantidad mínima de muestra necesaria</b>	375 µl*
<b>Volumen de procesamiento de muestras</b>	200 µl
<b>Sensibilidad analítica</b>	18,8 UI/ml
<b>Intervalo lineal</b>	De 35,0 UI/ml a 1E+08 UI/ml
<b>Especificidad</b>	100 %
<b>Genotipos detectados</b>	EBV genotipos 1 y 2

\* Volumen muerto de 175 µl identificado para los tubos secundarios **cobas omni**. Otros tubos utilizados para el análisis pueden tener un volumen muerto diferente 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 22 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

 <b>Age/DOB</b> Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	 <b>QS IU/PCR</b> UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
 <b>SW</b> Software auxiliar	 Dispositivo no apto para autoexamen	 <b>SN</b> Número de serie
 <b>Assigned Range [copies/mL]</b> Intervalo asignado (copias/ml)	 <b>Distribuidor</b> <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i>	 <b>Site</b> Centro
 <b>Assigned Range [IU/mL]</b> Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 <b>Procedure Standard</b> Procedimiento estándar
 <b>EC REP</b> Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 <b>STERILE EO</b> Esterilizado con óxido de etileno
 <b>BARCODE</b> Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Almacenar en la oscuridad
 <b>LOT</b> Código de serie	 <b>GTIN</b> Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	 Límite de temperatura
 Riesgo biológico	 Importador	 <b>TDF</b> Archivo de definición de pruebas
 <b>REF</b> Número de catálogo	 <b>IVD</b> 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> .	 <b>LLR</b> Límite inferior del intervalo asignado	 <b>Procedure UltraSensitive</b> Procedimiento ultrasensible
 <b>Collect Date</b> Fecha de recogida	 Hombres	 <b>UDI</b> Identificación exclusiva del dispositivo
 Consulte las instrucciones de uso	 Fabricante	 <b>ULR</b> Límite superior del intervalo asignado
 Suficiente para <n> pruebas	 <b>CONTROL -</b> Control negativo	 <b>Urine Fill Line</b> Línea de llenado de orina
 <b>CONTENT</b> Contenido del kit	 <b>NON STERILE</b> Sin esterilizar	 <b>Rx Only</b> 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.
 <b>CONTROL</b> Control	 <b>?</b> Nombre del paciente	 Fecha de caducidad
 Fecha de fabricación	 <b>#</b> Número del paciente	
 Dispositivo para pruebas cerca del paciente	 <b>✂</b> Abrir aquí	
 Dispositivo para autoexamen	 <b>CONTROL +</b> Control positivo	
	 <b>QS copies / PCR</b> 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](https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm)

## Fabricante e importador

**Tabla 23** Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://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

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



## Bibliografía

1. Tomblyn M, Chiller T, Einsele H, et al. Guidelines for preventing infectious complications among hematopoietic cell transplant recipients: a global perspective. Preface. *Bone Marrow Transplant*. 2009;44:453-5. PMID: 19861977.
2. Green M. Introduction: Infections in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:3-8. PMID: 23464993.
3. Cohen JL. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med*. 2000;343:481-92. PMID: 10944566.
4. Styczynski J, van der Velden W, Fox CP, et al. Management of Epstein-Barr Virus infections and post-transplant lymphoproliferative disorders in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Sixth European Conference on Infections in Leukemia (ECIL-6) guidelines. *Haematologica*. 2016;101:803-11. PMID: 27365460.
5. Allen UD, Preiksaitis JK. Epstein-Barr virus and posttransplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplantation. *Am J Transplant*. 2013;13 Suppl 4:107-20. PMID: 23465004.
6. San-Juan R, Comoli P, Caillard S, et al. Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disorder in solid organ transplant recipients. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20 Suppl 7:109-18. PMID: 24475976.
7. Nijland ML, Kersten MJ, Pals ST, Bemelman FJ, Ten Berge IJ. Epstein-Barr virus-positive posttransplant lymphoproliferative disease after solid organ transplantation: Pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis, and management. *Transplant Direct*. 2016;2:e48. PMID: 27500242.
8. Tsai DE, Douglas L, Andreadis C, et al. EBV PCR in the diagnosis and monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder: Results of a two-arm prospective trial. *Am J Transplant*. 2008;8:1016-24. PMID: 18312608.
9. Fryer JF, Heath AB, Wilkinson DE, Minor PD. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for Epstein-Barr virus for nucleic acid amplification techniques. *Biologicals*. 2016;44:423-33. PMID: 27461128.
10. 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. PMID: 2227421.
11. 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. PMID: 7845459.
12. 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. PMID: 7697717.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7. PMID: 1368485.
14. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94. PMID: 8908518.
15. Centers 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.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline, 4th ed. CLSI Document M29-A4. Wayne, PA: CLSI, 2014.
17. Hadinoto V, Shapiro M, Sun CC, Thorley-Lawson DA. The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Pathog*. 2009;5:e1000496. PMID: 19578433.

## Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 03/2022	Primera publicación.
Doc Rev. 2.0 09/2022	Se han actualizado la portada y la tabla 2 y la tabla 3 con P/N adicionales para los kits de control. Se ha actualizado el apartado <b>Marcas registradas y patentes</b> , incluido el enlace. 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>