

cobas[®] **CMV**

Prueba cuantitativa de ácidos nucleicos para uso en los cobas[®] 6800/8800 Systems

Para diagnóstico in vitro

cobas[®] CMV	P/N: 07001029190
cobas[®] CMV Control Kit	P/N: 07001037190
cobas[®] NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190

Tabla de contenido

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Reactivos y materiales.....	7
Reactivos y controles de cobas® CMV	7
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras	8
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	11
Material adicional necesario	12
Instrumentos y software necesarios.....	12
Precauciones y requisitos de manipulación	13
Advertencias y precauciones.....	13
Manipulación de reactivos	14
Buenas prácticas de laboratorio.....	14
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	14
Muestras	15
Instrucciones de uso	16
Notas sobre el procedimiento.....	16
Ejecución de la prueba cobas® CMV.....	16
Resultados	17
Control de calidad y validez de los resultados.....	17
Interpretación de los resultados	18
Limitaciones del procedimiento.....	18

Evaluación no clínica del rendimiento	19
Características clave de rendimiento	19
Límite de detección (LoD).....	19
Intervalo lineal	20
Precisión intralaboratorio.....	21
Verificación del genotipo.....	21
Verificación de las muestras de CMV resistentes a fármacos.....	22
Especificidad.....	23
Especificidad analítica	23
Especificidad analítica: sustancias interferentes	24
Comparación del rendimiento con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV...	25
Fallo de todo el sistema	26
Contaminación por arrastre	26
Información adicional	27
Características principales de la prueba	27
Símbolos	28
Fabricante y distribuidores	30
Marcas registradas y patentes	30
Copyright.....	30
Bibliografía	31
Revisión del documento	33

Uso previsto

cobas® CMV es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ADN del citomegalovirus (CMV) en plasma humano conservado en EDTA.

cobas® CMV se ha diseñado como soporte para el diagnóstico y la gestión del CMV en pacientes trasplantados de órganos sólidos y en pacientes que han recibido trasplantes de células madre hematopoyéticas. La prueba se puede utilizar con esta población para valorar la necesidad de iniciar un tratamiento antiviral. En aquellos pacientes sometidos a terapia anti-CMV, pueden utilizarse las mediciones en serie del ADN para valorar la respuesta viral al tratamiento.

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

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

El citomegalovirus humano (CMV) es un patógeno viral perteneciente a la familia Herpesviridae que se encuentra de manera universal en todas las comunidades del mundo.^{1,2} En sujetos inmunocompetentes, las infecciones por el CMV suelen ser asintomáticas pero las infecciones primarias líticas pueden presentarse como mononucleosis aguda. Una vez adquirido, el CMV persiste como infección latente de por vida que puede reactivarse de forma intermitente. Las células mononucleares de sangre periférica del linaje mieloide (excepto los linfocitos) y las células endoteliales son los principales focos de infección por CMV.³ El CMV permanece en fase latente en monocitos/macrófagos en humanos.² Los sujetos con infección latente pueden alojar el virus de forma asintomática en sus fluidos corporales (p. ej., orina, saliva) y, por lo tanto, infectar a otras personas. Los sujetos inmunocomprometidos, como los recién nacidos, los sujetos sometidos a un trasplante y los pacientes con SIDA, presentan un alto riesgo de desarrollar infecciones primarias por CMV graves o reactivaciones de infecciones latentes de CMV que pueden derivar en una tasa de morbilidad y mortalidad más elevada.⁴ Entre las manifestaciones graves de la enfermedad producida por el CMV, se incluyen la retinitis, la poliradiculopatía, la gastroenteritis, la hepatitis, la encefalitis, la esofagitis, la enterocolitis, la pancreatitis, la nefritis, el rechazo al órgano donado, la neumonitis y el síndrome vírico por el CMV.⁵⁻⁷

Los conocimientos actuales sobre los umbrales clínicamente relevantes para el desarrollo de la enfermedad por CMV provienen de una gran variedad de estudios realizados con tecnologías, poblaciones de estudio y puntos finales diferentes.⁸⁻¹⁵ Por lo general, una carga vírica superior se relaciona estrechamente con el riesgo de desarrollar la enfermedad por CMV. La relación entre la viremia y la enfermedad es sigmoidal; es decir, el riesgo de padecer la enfermedad por CMV aumenta significativamente cuando la carga viral del CMV alcanza un “umbral crítico”. Por ejemplo, para un ensayo desarrollado por laboratorio para ADN del CMV en sangre total utilizado para realizar pruebas en los pacientes trasplantados de hígado, el umbral crítico se estableció en ≥ 5 copias/ml \log_{10} de ADN de CMV.¹³ En pacientes con VIH/SIDA, los niveles de ADN de CMV están relacionados con el riesgo de enfermedad por CMV y la mortalidad general.¹⁶⁻¹⁹

Sin embargo, los métodos actuales desarrollados por los laboratorios para la cuantificación del ADN de CMV están limitados por la falta de resultados estandarizados, lo que genera un alto nivel de variabilidad entre laboratorios y ensayos.²⁰ Por ello, resulta fundamental validar la reproducibilidad de la carga viral del ADN de CMV para garantizar la coherencia de los resultados a fin de gestionar los pacientes con enfermedad de CMV. Las directrices actuales basadas en la precisión de las pruebas de PCR sugieren que los cambios en las mediciones en serie de la carga viral deberían triplicarse como mínimo ($0,5 \log_{10}$) para ser considerados un cambio biológicamente importante. Dado que la variabilidad es máxima en concentraciones bajas, los cambios en la carga viral tienen que ser 5 veces mayores ($0,7 \log_{10}$) cuando los valores de título están próximos al límite de cuantificación inferior del ensayo para que sean considerados de importancia.^{11,12}

A pesar de que el umbral exacto sigue siendo motivo de debate debido a la variabilidad entre ensayos, el umbral crítico se postula como un concepto válido y se ha utilizado en estudios de historia natural para demostrar que unos valores elevados de carga viral están relacionados con un mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad por CMV.⁸⁻¹⁴ Un estudio realizado con la prueba COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR estableció un punto de corte para la predicción de la enfermedad comprendido entre 2.000 y 5.000 copias/ml para sujetos con trasplante de hígado seropositivos para CMV.¹⁰

Motivos para el uso de las pruebas NAT

Los métodos de laboratorio existentes para diagnosticar la infección diseminada y la enfermedad visceral activa características del CMV humano son el aislamiento del virus por cultivo a partir de leucocitos de sangre periférica (LSP), la histología de biopsias, métodos serológicos, la medición de la antigenemia pp65 y la detección de ADN del CMV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).²¹ La serología solamente es importante para determinar si un paciente ha estado infectado previamente por el CMV y si presenta riesgo de reactivación. Los métodos de cultivo tienen un valor predictivo escaso, requieren un tiempo de ejecución superior a 48 horas y tienen un uso limitado en pacientes inmunocomprometidos. El ensayo de la antigenemia pp65 requiere un trabajo intensivo y, para realizarlo, es necesario que la sangre se procese en el plazo de 6 horas desde la extracción, debido al descenso de antigenemia que se produce durante el almacenamiento.²² El ensayo pp65 también resulta difícil de llevar a cabo en pacientes neutropénicos graves. La detección directa de ADN del CMV con métodos de PCR a tiempo real ofrece potencialmente un amplio rango dinámico y una elevada precisión y sensibilidad.

Explicación de la prueba

La prueba cobas® CMV es una prueba cuantitativa realizada en el cobas® 6800 System y el cobas® 8800 System. La prueba cobas® CMV permite la detección y cuantificación de ADN del CMV 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 CMV (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.

Principios del procedimiento

La prueba cobas® CMV 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. 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® 6800/8800, que asigna los resultados de la prueba a todas las pruebas como fragmento objetivo no detectado, ADN de CMV detectado < LLoQ (límite de cuantificación inferior), ADN de CMV 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 del fragmento objetivo de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para el fragmento objetivo que se seleccionan de regiones altamente conservadas del gen (UL54) ADN polimerasa del CMV. 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 CMV. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias objetivo 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).²³⁻²⁵ La enzima AmpErase, que se incluye en la mezcla para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se eliminan los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de cobas® CMV contiene una sonda de detección específica para las secuencias objetivo del CMV y una para DNA-QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes que permiten la detección simultánea del fragmento objetivo del CMV y el DNA-QS en dos canales objetivo distintos.^{26,27} La señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante un 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 los fragmentos objetivo víricos y el DNA-QS.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® CMV

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

Tabla 1 cobas® CMV

cobas® CMV Almacenar a 2-8 °C Casete para 96 pruebas (P/N 07001029190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit 96 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina. Puede provocar una reacción alérgica.	13 ml
Estándar de cuantificación de ADN (DNA-QS)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de ADN diferente de CMV con una región de unión a cebador diferente de CMV y una región exclusiva de unión a sonda (ADN no infeccioso), < 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	13 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	13 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	5,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para CMV (CMV MMX-R2)	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 que van en un sentido y en sentido contrario para CMV, < 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 CMV y el estándar de cuantificación del CMV, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,1% de ADN polimerasa Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	6 ml

Tabla 2 cobas® CMV Control Kit

cobas® CMV Control Kit

Almacenar a 2-8 °C

(P/N: 07001037190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control positivo bajo para CMV (CMV L(+))C	< 0,001% de ADN de CMV sintético (plásmido) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN de CMV no detectable mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p>ATENCIÓN</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9, 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>
Control positivo alto para CMV (CMV H(+))C	< 0,001% de ADN de CMV sintético (plásmido) encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, ADN de CMV no detectable mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300**	4 ml (8 × 0,5 ml)	 <p>ATENCIÓN</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9, 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**cobas® NHP Negative Control Kit**

Almacenar a 2-8 °C

(P/N: 07002220190)

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, ADN de CMV no detectable mediante métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	 <p>ATENCIÓN H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9, mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n. ° CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n. ° 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)	43 % (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5 % (p/v) de polidocanol***, 2 % (p/v) de ditiotretitol***, citrato de sodio dihidratado	4 x 875 ml	 <p>PELIGRO</p> <p>H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación.</p> <p>H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.</p> <p>H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P273: Evítese su liberación al medio ambiente.</p> <p>P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>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-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit de la prueba **cobas®** CMV. 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

07190620001-04ES

Doc Rev. 4.0

10

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® CMV – 96	2-8 °C
cobas® CMV 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. Los cobas® 6800/8800 Systems solamente permiten 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	Series en las que se puede utilizar el kit	Período de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® CMV – 96	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 10 series	Máx. 8 horas
cobas® CMV Control Kit	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 8 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 en los **cobas®** 6800/8800 Systems

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

Instrumentos y software necesarios

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

Tabla 8 Instrumentos

Equipo	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

Consulte el Manual de usuario de los **cobas®** 6800/8800 Systems para obtener información adicional sobre los tubos primarios y secundarios compatibles con cada instrumento.

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

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- No se ha evaluado el uso de la prueba cobas® CMV para el cribado de la presencia de CMV en sangre o productos sanguíneos.
- Todas las muestras de pacientes deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{28,29} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® CMV y los cobas® 6800/8800 Systems.
- 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® CMV Control Kit y el cobas® NHP Negative Control Kit contienen plasma procedente de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante métodos de PCR y no muestra niveles detectables de ADN de CMV. 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 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 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**® CMV, 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. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y de los kits **cobas**® CMV 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 se produce algún derrame sobre el **cobas**® 6800/8800 instrument, siga las instrucciones descritas en el Manual de usuario de los **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.

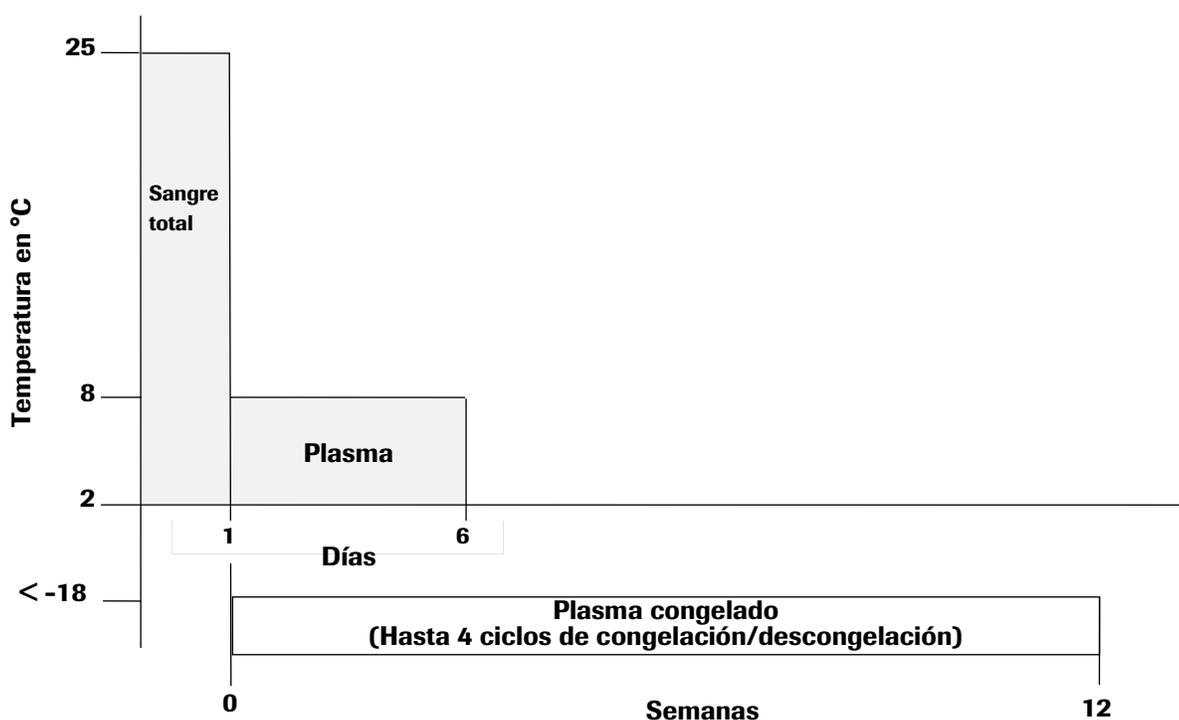
La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

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.

Muestras

- La sangre 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 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 en tubos secundarios durante un máximo de 6 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o durante un máximo de 12 semanas a ≤ -18 °C.
- Las muestras de plasma se mantienen estables hasta un máximo de cuatro ciclos de congelación/descongelación si se congelan a ≤ -18 °C.

Ilustración 1 Condiciones del 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.

Nota: la sangre total recogida en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o tubos estériles con EDTA como anticoagulante puede almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 36 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C antes de la preparación del plasma, pero luego el plasma separado no puede almacenarse por más tiempo sino que tiene que analizarse directamente.

Instrucciones de uso

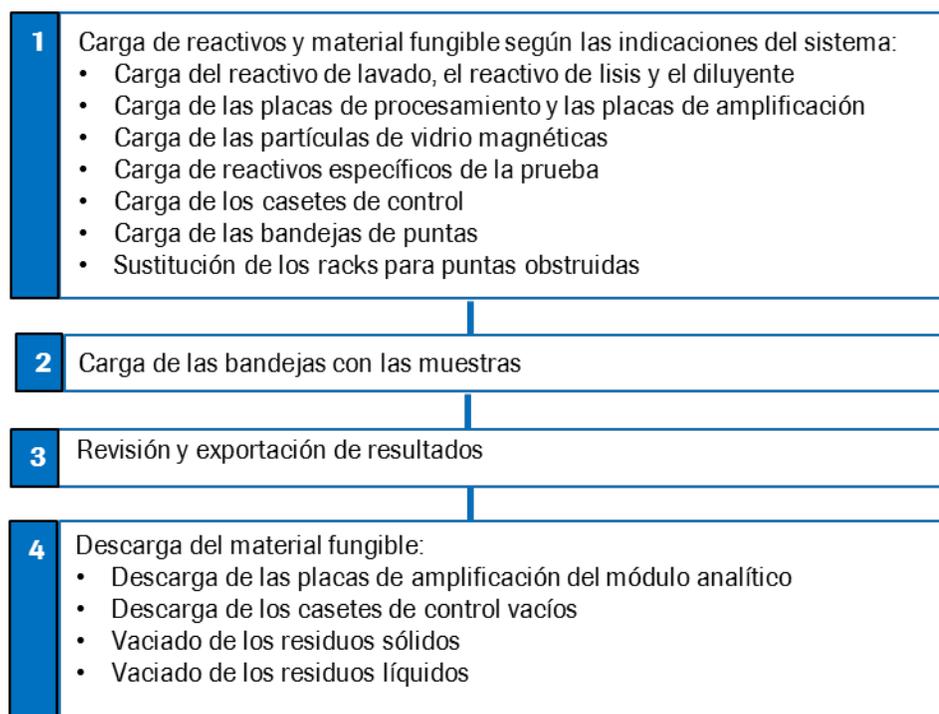
Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos de la prueba **cobas**® CMV, el **cobas**® CMV 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.

Ejecución de la prueba **cobas**® CMV

La prueba **cobas**® CMV puede ejecutarse con un volumen de muestra de 500 µl. El procedimiento de la prueba se describe con detalle en el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems. En la Ilustración 2 se resume el procedimiento.

Ilustración 2 Procedimiento de la prueba **cobas**® CMV



Resultados

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

Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie se procesan un control negativo [(-) C] y dos controles positivos: un control positivo bajo [CMV L(+)]C] y un control positivo alto [CMV 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: CMV L(+)]C, CMV H(+)]C. El resultado del control negativo se muestra como (-) C, mientras que los controles positivos bajo y alto se presentan como CMV L(+)]C y CMV H(+)]C.

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 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	Aviso	Resultado	Interpretación
CMV L(+)]C	Q02 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.
CMV H(+)]C	Q02 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

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 tanto válidos como inválidos.

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

Resultados	Interpretación
Target Not Detected	ADN del CMV no detectado. Los resultados se indican como "CMV no detectado".
< Titer Min	El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLoQ) del ensayo. Los resultados se indican como "CMV detectado, inferior a (título mínimo)". Título mínimo = 34,5 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 CMV detectado".
> Titer Max ^a	El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULoQ) del ensayo. Los resultados se indican como "CMV detectado, superior a (título máximo)". Título máximo = 1,0E+07 UI/ml

^a Un resultado de muestra "> Titer Max" hace referencia a las muestras positivas para CMV detectadas con títulos superiores al límite de cuantificación superior (ULoQ). Si se desea obtener un resultado cuantitativo, debe diluirse la muestra original con plasma humano negativo para CMV conservado en EDTA y repetirse la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® CMV se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® CMV 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.
- Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con muestras de plasma conservado en EDTA. La realización de la prueba **cobas**® CMV 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 CMV 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.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del gen ADN polimerasa (UL54) del CMV cubiertas por la prueba **cobas**® CMV 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**® CMV no se ha concebido para el cribado de la presencia del CMV en sangre o productos sanguíneos ni se ha evaluado como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por CMV.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento

Límite de detección (LoD)

Estándar internacional de la OMS

El límite de detección de la prueba cobas® CMV se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie del 1^{er} estándar internacional de la OMS para ADN del citomegalovirus humano en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (1^{er} estándar internacional de la OMS para CMVH) obtenido de NIBSC, en plasma humano conservado en EDTA negativo al CMV. Se analizaron paneles con ocho niveles de concentración más un blanco con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

En la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos con el plasma conservado en EDTA. El estudio demuestra que la prueba cobas® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV a partir de una concentración de 23 UI/ml con una tasa de positividad del $\geq 95\%$.

Tabla 11 Límite de detección en plasma conservado en EDTA

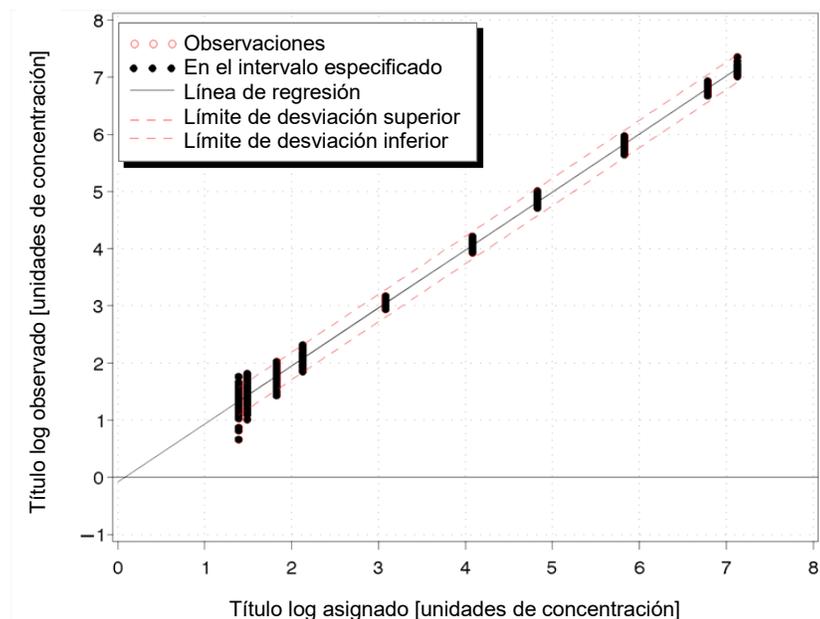
Concentración del título de entrada (ADN del CMV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
92,0	189	189	100,00
46,0	189	188	99,47
34,5	188	187	99,47
23,0	189	181	95,77
11,5	189	158	83,60
5,8	189	117	61,60
2,9	189	66	34,92
1,4	189	28	14,81
0,0	189	0	0,00
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	20,6 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 17,9-24,3 UI/ml		

Intervalo lineal

La linealidad de la prueba cobas® CMV se evaluó con una serie de diluciones formadas por un panel de 10 muestras con concentraciones de ADN del genotipo gB-1 del CMV que cubren todo el intervalo lineal del ensayo (entre 2,45E+01 UI/ml y 1,34E+07 UI/ml). Se analizó cada miembro del panel en 48 réplicas con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Ilustración 3.

La prueba cobas® CMV ofrece un rendimiento lineal en concentraciones comprendidas entre 2,45E+01 UI/ml y 1,34E+07 UI/ml.

Ilustración 3 Determinación del intervalo lineal para plasma conservado en EDTA



Precisión intralaboratorio

La precisión de la prueba cobas® CMV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de cultivos de virus con título alto (Merlin, genotipo gB-1) en plasma conservado en EDTA negativo para el CMV. Se analizaron diez niveles de dilución en 48 réplicas para cada nivel con los tres lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV en tres instrumentos diferentes y con tres usuarios distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® CMV 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 12.

La prueba cobas® CMV presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre 2,45E+01 UI/ml y 1,34+07 UI/ml.

Tabla 12 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® CMV

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
2,00E+07	1,34E+07	0,03	0,06	0,02	0,04
9,11E+06	6,11E+06	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	6,71E+05	0,05	0,03	0,06	0,05
1,00E+05	6,71E+04	0,06	0,05	0,03	0,05
1,80E+04	1,21E+04	0,06	0,04	0,05	0,05
1,80E+03	1,21E+03	0,04	0,03	0,04	0,04
2,00E+02	1,34E+02	0,13	0,10	0,11	0,12
1,00E+02	6,71E+01	0,14	0,11	0,09	0,12
4,60E+01	3,09E+01	0,20	0,23	0,17	0,20
3,65E+01	2,45E+01	0,22	0,20	0,23	0,22

Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba cobas® CMV en los genotipos de glicoproteína B del CMV se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección para los genotipos de glicoproteína B del 2 al 4
- Verificación del intervalo lineal para los genotipos del 2 al 4

Verificación del límite de detección para los genotipos de glicoproteína B gB-2, gB-3 y gB-4

Se diluyeron sobrenadantes de cultivos celulares del CMV para tres genotipos de glicoproteína B diferentes (gB-2, gB-3 y gB-4) con tres niveles de concentración diferentes en plasma conservado en EDTA negativo para el CMV. 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 reactivo de la prueba cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 13. Los resultados demuestran que la prueba cobas® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV para tres genotipos diferentes en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad del $\geq 95\%$.

Tabla 13 Verificación del límite de detección para el genotipo de ADN del CMV

Genotipo	17,25 UI/ml			34,5 UI/ml			51,75 UI/ml		
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)
gB-2	63	61	96,8 (99,6 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-3	63	57	90,5 (96,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
gB-4	63	55	87,3 (94,4%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Intervalo de confianza unilateral superior del 95%

Verificación del intervalo lineal para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de los genotipos de la prueba cobas® CMV constaba de un panel de siete miembros con el que se cubre el intervalo lineal del ensayo. El análisis se realizó con dos lotes de reactivos de cobas® CMV; se analizaron 16 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se comprobó el intervalo lineal de la prueba cobas® CMV para los tres genotipos (gB-2, gB-3 y gB-4).

Verificación de las muestras de CMV resistentes a fármacos

El rendimiento de la prueba cobas® CMV en las muestras resistentes a fármacos contra el CMV se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes frente a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir o Foscarnet)
- Verificación del intervalo lineal para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes frente a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir o Foscarnet)

Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir)

Se diluyeron sobrenadantes de cultivos celulares de dos muestras de CMV resistentes a distintos fármacos (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir) con tres niveles de concentración diferentes en plasma conservado en EDTA negativo para CMV. 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 reactivo de la prueba cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 14. Los resultados demuestran que la prueba cobas® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV para dos muestras diferentes resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad del $\geq 95\%$.

Tabla 14 Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos

Resistencia a fármaco	Región de mutación en UL54	17,25 UI/ml			34,5 UI/ml			51,75 UI/ml		
		Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)
Foscarnet	E756Q	63	58	92,1 (97,4 %)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)
Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir	L545S	63	59	93,7 (98,2%)	63	63	100,0 (100,0)	63	63	100,0 (100,0)

* Intervalo de confianza unilateral superior del 95%

Verificación del intervalo lineal para las muestras resistentes a fármacos contra el CMV (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir)

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de las muestras resistentes a fármacos contra el CMV de la prueba cobas® CMV constaba de un panel de siete miembros con el que se cubre el intervalo lineal del ensayo. El análisis se realizó con dos lotes de reactivos de cobas® CMV; se analizaron 16 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

El intervalo lineal de la prueba cobas® CMV se verificó para las dos muestras resistentes a los fármacos contra el CMV (resistentes a Foscarnet o Ganciclovir, Valganciclovir y Cidofovir).

Especificidad

La especificidad de la prueba cobas® CMV se determinó mediante el análisis de muestras de plasma conservadas en EDTA negativas para el CMV obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 608 muestras de plasma conservado en EDTA con dos lotes de reactivo de cobas® CMV. Todas las muestras dieron negativo para ADN del CMV. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba cobas® CMV fue del 100% (límite de confianza unilateral inferior del 95%: 99,5%).

Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba cobas® CMV se evaluó mediante dilución de un panel de microorganismos en una concentración de 1,00E+06 partículas, copias, UI, equivalentes genómicos o UFC/ml en plasma conservado en EDTA positivo para ADN de CMV y negativo para ADN de CMV. En la tabla 15 se indican los organismos específicos analizados. Se analizó cada miembro del panel con la prueba cobas® CMV. Ninguno de los patógenos distintos del CMV interfirió en el rendimiento de la prueba.

Tabla 15 Microorganismos analizados para reactividad cruzada

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

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (34,5 g/l), bilirrubina conjugada (0,25 g/l), bilirrubina no conjugada (0,25 g/l), albúmina (58,7 g/l), hemoglobina (2,9 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras en presencia y ausencia de ADN del CMV. El análisis de las sustancias interferentes endógenas demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba **cobas®** CMV.

También se evaluó el impacto de la presencia de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y anticuerpos antinucleares en presencia y ausencia de ADN del CMV. Además, se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 16 con una concentración tres veces superior a la C_{max} tanto en presencia como en ausencia de ADN del CMV.

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

Tabla 16 Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia con la cuantificación de ADN del CMV con la prueba cobas® CMV

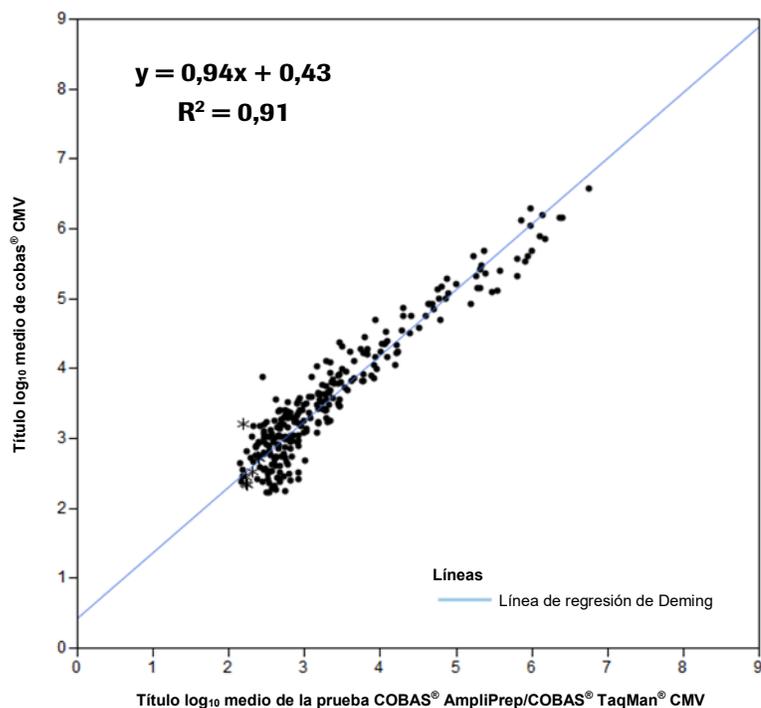
Clase de fármaco	Nombre genérico del fármaco	
Antibimicrobiano	Cefotetan	Sulfametoxazol
	Clavulanato de potasio	Ticarcilina disódica
	Fluconazol	Trimetoprima
	Piperacilina	Vancomicina
	Tazobactam sódico	
Compuestos para el tratamiento de los virus del herpes	Ganciclovir	Cidofovir
	Valganciclovir	Foscarnet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

Comparación del rendimiento con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV

Se comparó el rendimiento de las pruebas cobas® CMV y COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® CMV mediante el análisis de muestras de plasma conservado en EDTA de pacientes infectados por el CMV. Un total de 275 muestras de plasma conservado en EDTA representativas de todos los genotipos del CMV, analizadas por duplicado, resultaron válidas y se mostraron dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizó el análisis de la regresión de Deming.

En la Ilustración 4 se muestran los resultados de la regresión de Deming.

Ilustración 4 Comparación del análisis de regresión entre la prueba cobas® CMV y la prueba cuantitativa CAP/CTM CMV



Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió una muestra clínica positiva para CMV. Estas muestras se analizaron con una concentración aproximada de 3 x LoD.

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el fragmento objetivo del CMV, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0% (intervalo de confianza del 95% comprendido entre 0% y 3,6%).

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de 240 réplicas de una muestra de plasma humano conservado en EDTA negativo al CMV y de 225 réplicas de una muestra de CMV con un título alto con una concentración de 1,00E+06 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 del 95% comprendido entre 0% y 1,5%).

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma conservado en EDTA
Cantidad mínima de muestra necesaria	500 µl
Volumen de procesamiento de muestras	350 µl
Sensibilidad analítica	34,5 UI/ml
Intervalo lineal	34,5 UI/ml - 1E+07 UI/ml
Especificidad	100%
Genotipos detectados	Genotipos de glicoproteína B 1-4 de CMV
Muestras de CMV resistentes a fármacos detectadas	Muestras de CMV resistentes a Ganciclovir, Valganciclovir, Cidofovir y Foscarnet

Símbolos

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

Tabla 17 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

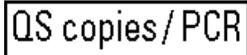
	Edad o fecha de nacimiento		Fecha de fabricación
	Software auxiliar		Distribuido por
	Intervalo asignado (copias/ml)		No deben reutilizarse
	Intervalo asignado (UI/ml)		Mujeres
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Para evaluación del rendimiento IVD únicamente
	Hoja de datos del código de barras		Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)
	Código de serie		Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Riesgo biológico		Límite inferior del intervalo asignado
	Número de catálogo		Hombres
	Fecha de recogida		Fabricante
	Consulte las instrucciones de uso		Control negativo
	Suficiente para <n> pruebas		Sin esterilizar
	Contenido del kit		Número del paciente
	Control		Nombre del paciente



Abrir aquí



Control positivo



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



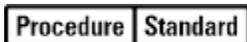
UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.



Número de serie



Centro



Procedimiento estándar



Esterilizado con óxido de etileno



Almacenar en la oscuridad



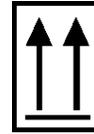
Límite de temperatura



Archivo de definición de pruebas



Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.



Este lado hacia arriba



Identificación exclusiva del dispositivo



Procedimiento ultrasensible



Límite superior del intervalo asignado



Línea de llenado de orina

Rx Only

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



Fecha de caducidad



Dispositivo para pruebas cerca del paciente



Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente



Dispositivo para autoexamen



Dispositivo no apto para autoexamen

Fabricante y distribuidores

Tabla 18 Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos

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

Fabricado en los EE. UU.

Distributed by	Roche Diagnostics	Roche Diagnostics GmbH
	9115 Hague Road	Sandhofer Strasse 116
	Indianapolis, IN 46250-0457 USA	68305 Mannheim, Germany
	(For Technical Assistance call the Roche Response Center	
	toll-free: 1-800-526-1247)	

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, 10358675, 8129118 y 6727067, y por las patentes equivalentes extranjeras.

COBAS, COBAS OMNI, AMPERASE, AMPLICOR, AMPLICOR CMV MONITOR, AMPLIPREP y TAQMAN son marcas comerciales de Roche.

Vacutainer® es una marca comercial registrada de Becton Dickinson & Company.

ProClin® es una marca registrada de Rohm and Haas Company.

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

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.



Bibliografía

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattson JR, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. 4th ed. London; John Wiley and Sons, 2000: pp. 79-116.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2675-2706.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus. Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin Heidelberg; Springer-Verlag: 2008, pp. 297-313.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. Rev Infect Dis. 1983;5:205-215.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. Immunol Ser. 1989;44:507-534.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev. 1992;5:204-210.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia; Lippincott, Williams & Wilkins, 2001: pp. 2629-2674.
8. Asberg A, Humar A, Rollag H, et al.; A VICTOR Study Group. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. Am J Transplant. 2007;7:2106-2113.
9. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. J Infect Dis. 2002;186:829-833.
10. Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al. Clinical utility of quantitative cytomegalovirus viral load determination for predicting cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. Transplantation. 1999;68:1305-1311.
11. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, Asberg A, Chou S, Snyderman DR, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. Transplantation 2010;89(7):779-95.
12. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al.; Transplantation Society International CMV Consensus Group. Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid-Organ Transplantation. Transplantation. 2013;96:333-360.
13. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, Rolles K, Griffiths PD, Emery VC. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. J Infect Dis. 1997;176:1484-1490.
14. Razonable RR, Emery VC; 11th Annual Meeting of the IHMF (International Herpes Management Forum). Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27-29 February 2004. Herpes. 2004;11:77-86.
15. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. J Clin Virol. 2008;41:237-241.
16. Salmon-Céron D, Mazon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS. 2000;14:1041-1049.

17. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, Grywacz M, Knight S, Griffiths PD. Quantitative effects of valacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis.* 1999;180:695-701.
18. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS.* 1997;11:889-893.
19. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. Studies of Ocular Complications of AIDS Research Group. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS.* 2002;16:877-887.
20. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al.; American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice; Canadian Society of Transplantation. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transpl.* 2009;9:258-268.
21. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clinical and Applied Immunology Reviews.* 2002;2:155-167.
22. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. *Am J Transplant.* 2005;5:218-227.
23. 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.
24. 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.
25. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878.
26. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
27. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
28. 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.
29. 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.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc. Rev. 4.0 03/2021	<p>Se han actualizado las advertencias de peligro.</p> <p>Se ha incluido el símbolo Rx Only en la primera página.</p> <p>Se ha incluido la declaración "Fabricado en".</p> <p>Se ha actualizado el apartado de marcas registradas y patentes.</p> <p>Se ha actualizado la dirección del distribuidor.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>