

cobas[®] **CMV**

**Prueba cuantitativa de ácidos nucleicos
para uso en el cobas[®] 4800 System**

Para diagnóstico *in vitro*

cobas[®] CMV	120 Tests	P/N: 07865970190
cobas[®] CMV Control Kit	10 Sets	P/N: 07865988190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

TABLA DE CONTENIDO

Uso previsto

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia.....	4
Motivos para el uso de las pruebas NAT para CMV	5
Explicación de la prueba.....	5
Principios del procedimiento	5

Materiales y reactivos

Reactivos.....	7
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	12
Material adicional necesario	12
Equipos y programas necesarios pero no suministrados.....	13
Tubos de muestra compatibles.....	13

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones.....	14
Buenas prácticas de laboratorio.....	15
Manipulación de reactivos	15
Contaminación	15
Integridad	16
Eliminación	16
Limpieza de derrames.....	16

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Obtención de las muestras	17
Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte.....	17

Instrucciones de uso

Realización de la prueba.....	18
Tamaño de la serie.....	18
Flujo de trabajo	19

Resultados

Control de calidad y validez de los resultados.....	21
Interpretación de los resultados del control	21
Interpretación de los resultados	22
Lista de avisos.....	23
Limitaciones del procedimiento.....	24

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento	25
Límite de detección (LoD)	25
Estándar internacional de la OMS	25
Intervalo lineal	25
Precisión intralaboratorio	27
Verificación del genotipo	27
Verificación del límite de detección para los genotipos de glicoproteína B gB-2, gB-3 y gB-4	27
Verificación del intervalo lineal para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de glicoproteína B.....	28
Verificación de muestras de CMV resistentes a fármacos.....	28
Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir)	28
Verificación del intervalo lineal para muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir)	28
Especificidad analítica.....	29
Especificidad analítica: sustancias interferentes	29
Fallo de todo el sistema.....	30
Contaminación por arrastre	30

Evaluación clínica del rendimiento

Correlación de métodos	31
Especificidad	31

Información adicional

Características principales del ensayo	32
Símbolos	33
Asistencia técnica	34
Fabricante e importador.....	34
Marcas registradas y patentes	34
Copyright.....	34
Bibliografía	35
Revisión del documento	37

Uso previsto

La prueba cobas® CMV es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la medición cuantitativa 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 estas poblaciones 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 humano 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 pueden presentarse como mononucleosis aguda. Una vez adquirido, el CMV persiste como infección latente de por vida que puede reactivarse de forma intermitente. Los sitios principales de infección por CMV parecen ser las células mononucleares de sangre periférica del linaje mieloide (excepto los linfocitos) y las células endoteliales.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 riesgo elevado de desarrollar infecciones primarias por CMV graves o reactivaciones del CMV latente que pueden derivar en una tasa elevada de morbilidad y mortalidad.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.^{2,5,6}

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.⁷⁻¹⁴ Por lo general, una carga viral superior se relaciona estrechamente con el riesgo de desarrollar la enfermedad por CMV. La relación entre la viremia y la enfermedad es sigmoidal, por lo que 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 el laboratorio para la detección de ADN del CMV en sangre total utilizado para realizar pruebas en los pacientes trasplantados de hígado, el umbral crítico se ha establecido en $\geq 5 \log_{10}$ copias/ml de ADN de CMV.¹² En pacientes con HIV/SIDA, los niveles de ADN de CMV están relacionados con el riesgo de enfermedad por CMV y la mortalidad global.¹³⁻¹⁸

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.¹⁷ 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 por 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 ($0,5 \log_{10}$ copias/ml) 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 ($0,7 \log_{10}$ copias/ml) cuando los valores de título están próximos al límite de cuantificación inferior del ensayo para que sean considerados de importancia.^{9,19}

A pesar de que el umbral viral exacto todavía sea objeto de debate debido a la variabilidad entre ensayos, el concepto de umbral crítico parece válido y se ha utilizado en estudios de historia natural para demostrar que unos valores elevados de carga viral están asociados a un mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad por el CMV.⁷⁻¹² Un estudio realizado con la prueba COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR (prueba CACM, para uso exclusivo de investigación en Estados Unidos y con aprobación CE-IVD) 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.⁸

Motivos para el uso de las pruebas NAT para CMV

Los métodos de laboratorio existentes para el diagnóstico de 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).¹⁸ La serología es el único valor que se utiliza para determinar si un paciente ha estado infectado previamente con el CMV y 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.²⁰ El ensayo pp65 también resulta difícil de llevar a cabo en pacientes neutropénicos. La detección directa de ADN del CMV con métodos de PCR a tiempo real, por ejemplo, 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® 4800 System. cobas® CMV permite la detección y cuantificación del ADN de CMV rastreable al primer estándar internacional para HCMV de la OMS en plasma de pacientes infectados conservado en EDTA. 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. 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 CMV. Cada lote de kits de amplificación/detección presenta una calibración rastreable al Estándar Internacional de la ONU para el CMV.

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. El cobas® 4800 System incluye el cobas® x 480 instrument y el cobas® z 480 analyzer. La gestión de datos automática se realiza mediante el cobas® 4800 software, que asigna los resultados de la prueba a todas las pruebas como fragmento objetivo no detectado, < LLoQ (inferior al límite de cuantificación inferior), > ULoQ (superior al límite de cuantificación superior) o ADN de CMV detectado, un valor del intervalo lineal $LLoQ \leq x \leq ULoQ$. 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, controles externos y moléculas del estándar de cuantificación de ADN (DNA QS) de lambda 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 micropartículas magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturizadas, los desechos celulares y posibles inhibidores de la PCR se eliminan en pasos posteriores con el tampón de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el tampón de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos de la diana de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para la diana 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). 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.²¹⁻²³ 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**® 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 de detección distintos.^{24, 25} Cuando no se une a la secuencia de la diana, la señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador 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.

Materiales y reactivos

Reactivos

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda en la tabla “Requisitos de almacenamiento y manipulación”.

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
cobas® CMV 120 pruebas (P/N: 07865970190)	MMX R1 (Reactivo 1 de Master Mix para cobas®) Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	10 × 1,75 ml	N/A
	CMV MMX R2 (Reactivo 2 de Master Mix para cobas® CMV) Tampón Tricina, acetato de potasio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 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, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D (microbiano), < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	10 × 0,5 ml	N/A
	DNA QS (Estándar de cuantificación de ADN para cobas®) Tampón 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	10 × 1,75 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
cobas® CMV Control Kit (Kit de control cobas® CMV) 10 juegos (P/N: 07865988190)	CMV L(+)C (Control positivo bajo para cobas® CMV) < 0,001% de ADN (plasmídico) sintético de CMV encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300	10 × 0,75 ml	  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.
	CMV H(+)C (Control positivo alto para cobas® CMV) < 0,001% de ADN (plasmídico) sintético de título alto de CMV encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300	10 × 0,75 ml	
	(-)C2 (Control negativo 2 para cobas®) Plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VHC, anticuerpos frente al VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300	10 × 0,75 ml	

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

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Kit de preparación de muestras 2 para el cobas® 4800 System) 240 pruebas (P/N: 06979513190)	MGP 2 (Reactivo 2 de MGP para cobas® 4800) Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 × 8 ml	N/A
	EB 2 (Tampón de elución 2 para cobas® 4800) Tampón Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 (Kit de preparación de muestras 2 para el cobas® 4800 System) 960 pruebas (P/N: 06979521190)	MGP 2 (Reactivo 2 de MGP para cobas® 4800) Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 × 16 ml	N/A
	EB 2 (Tampón de elución 2 para cobas® 4800) Tampón Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	10 × 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de tampón de lavado para el cobas® 4800 System) 240 pruebas (P/N: 05235863190)	WB Citrato de sodio dihidratado, 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 × 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Kit de tampón de lavado para el cobas® 4800 System) 960 pruebas (P/N: 05235871190)	WB Citrato de sodio dihidratado, 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 × 200 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
	<p>P 2 (Proteasa 2 para cobas® 4800) Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % (p/v) de proteinasa</p>	10 × 1,0 ml	 <p>PELIGRO H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Utilice guantes protectores. P284: Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteinasa, serina de <i>Tritirachium album</i></p>
<p>cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 pruebas (P/N: 06979530190)</p>	<p>LYS 2 (Tampón de lisis 2 para cobas® 4800) 43 % (p/p) de tiocianato de guanidina, 5 % (p/v) de polidocanol, 2 % (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado</p>	10 × 27 ml	 <p>PELIGRO H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P391: Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

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

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
	<p>P 2 (Proteasa 2 para cobas® 4800) Buffer Tris, < 0,05 % de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8 % (p/v) de proteinasa</p>	10 × 1,0 ml	 <p>PELIGRO H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261: Evitar respirar la niebla o los vapores. P280: Utilice guantes protectores. P284: Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteinasa, serina de <i>Tritirachium album</i></p>
<p>cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 pruebas (P/N: 06979548190)</p>	<p>LYS 2 (Tampón de lisis 2 para cobas® 4800) 43 % (p/p) de tiocianato de guanidina, 5 % (p/v) de polidocanol, 2 % (p/v) de ditiotreitól, citrato de sodio dihidratado</p>	10 × 84 ml	 <p>PELIGRO H302: Nocivo por ingestión. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H411: Tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. EUH071: Corrosivo para las vías respiratorias. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección/protección para los oídos. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P391: Recoger los derrames. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol</p>

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

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Reactivo	Temperatura de almacenamiento	Periodo de almacenamiento
cobas® CMV	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® CMV Control Kit*	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada

* Almacene la caja del Control Kit en posición vertical

No congele los reactivos.

Material adicional necesario

Material	P/N
Placa de extracción (pocillos profundos) de 2,0 ml para el cobas® 4800 System	06884008001
Placa de amplificación y detección (microplaca) de 0,3 ml para el cobas® 4800 System	05232724001
Sellador	04900383001
Puntas CORE, 1.000 µl, bandeja de 96	04639642001
Depósito de reactivo de 200 ml	05232759001
Depósito de reactivo de 50 ml	05232732001
Transportador de 24 posiciones	04639502001
Transportador de 32 posiciones	04639529001
Bolsa para residuos sólidos	05530873001 (pequeña) o 04691989001 (grande)
Salida de plástico Hamilton STAR	04639669001
Guantes de laboratorio, sin polvo	Se aceptan todos los tipos de guantes de laboratorio sin polvo.
Agitador (un solo tubo)	Se aceptan todos los tipos de agitadores.
Centrífuga equipada con un rotor para placas basculante con una FCR mínima de 1.500	Se aceptan todos los tipos de centrífugas con características similares.

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

Equipos y programas necesarios pero no suministrados

Equipos y programas necesarios, no suministrados
cobas® 4800 System cobas® x 480 instrument cobas® z 480 analyzer Unidad de control
Software de la aplicación (core) para el cobas® 4800 System versión 2.2 o posterior
Software de la aplicación para cobas® CMV en el cobas® 4800 System versión 1.2.0 o posterior

Nota: *póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para los racks de muestras, racks para puntas, racks de reactivos y transportadores de placas compatibles con cada instrumento.*

Tubos de muestra compatibles

La prueba acepta los principales tubos de muestra primarios y secundarios.

Los tubos de muestra compatibles se indican a continuación:

Tubos primarios (volumen de procesamiento de 400 µl)

Diámetro nominal (mm)	Volumen de entrada de muestra - sangre total procesada (centrifugada)	Tubo de plasma conservado en EDTA
11-14	1.800 µl o más	Con o sin gel
14,5-16	Más de 4.000 µl	Con o sin gel

Para conocer la información específica sobre el pedido de tubos de muestras o sobre los volúmenes de entrada de muestra para cada tipo de tubo primario, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Tubos secundarios (volumen de procesamiento de 400 µl)

Diámetro nominal (mm)	Volumen de entrada de muestras
11-16	1.000 µl o más (algunos tubos secundarios tienen un volumen de entrada mínimo inferior a 1.000 µl)

Para conocer la información específica sobre el pedido de tubos de muestras o sobre los volúmenes de entrada de muestra para cada tipo de tubo secundario, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- 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 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.^{26,27} 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 el cobas® 4800 System.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. El cobas® CMV Control Kit contiene plasma derivado de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante las pruebas para anticuerpos autorizadas y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc. En el análisis del plasma humano normal con métodos de PCR no se ha detectado ARN de VIH-1 (grupos M y O), ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO o ADN de CMV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- Evite la exposición del reactivo MGP a fuentes de campos magnéticos.
- **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.
- Almacene la caja del cobas® CMV Control Kit en posición vertical.
- Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del cobas® x 480 instrument o el cobas® z 480 analyzer, consulte la Asistencia al usuario correspondiente del cobas® 4800 System (anteriormente denominada Manual del sistema). Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
- Informe a la autoridad competente local de cualquier incidente grave que pueda tener lugar durante la realización del ensayo.

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

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si no se actúa adecuadamente. Si se producen derrames, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70%.
- Asegure una temperatura constante en el laboratorio que cumpla las especificaciones medioambientales del sistema indicadas en la Asistencia al usuario del **cobas® 4800 System**.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada botella de reactivo y vial para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas® 4800 Lysis Buffer 2** 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.
- La prueba **cobas® CMV** y el **cobas® 4800 Sample Preparation Kit 2** 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® 4800 Lysis Buffer 2**, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con una solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.

Contaminación

- A fin de evitar la contaminación, es obligatorio el uso de guantes durante la manipulación de las muestras y los reactivos para la prueba **cobas® CMV**, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit.
- Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos.
- Podrían obtenerse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante su manipulación.

Integridad

- No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
- No haga pools con los reactivos.
- No utilice elementos desechables caducados.
- Los elementos desechables son de un solo uso. No deben reutilizarse.
- Debe realizarse un correcto mantenimiento del equipo, de acuerdo con lo establecido en las instrucciones del fabricante.

Eliminación

- La prueba **cobas**® CMV y el **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 contienen azida sódica (consulte el apartado “**Advertencias y precauciones**”). La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.

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

Limpieza de derrames

- El **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 contiene tiocianato de guanidina. Si se derrama líquido que contenga tiocianato de guanidina, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. Si el líquido vertido contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie PRIMERO el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- Si el derrame se produce sobre un **cobas**® x 480 instrument, siga las instrucciones de limpieza que se detallan en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
- No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el **cobas**® x 480 instrument o el **cobas**® z 480 analyzer. Limpie el **cobas**® x 480 instrument o el **cobas**® z 480 analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

- 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.

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

Obtención de las muestras

La sangre debería recogerse en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ o tubos con tapón lavanda para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o en tubos estériles y utilizar EDTA como anticoagulante.

Nota: *el usuario debe seguir las instrucciones suministradas por el fabricante de los tubos para la preparación de plasma.*

Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte

- La sangre total recogida en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™, tubos con tapón lavanda o tubos estériles con EDTA como anticoagulante para métodos de pruebas de diagnóstico molecular pueden almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 36 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C antes de la centrifugación y posterior análisis.
- Las muestras de plasma también pueden almacenarse en tubos primarios durante un máximo de 36 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C o durante 6 días a una temperatura comprendida entre 2 °C y 8 °C.
- Las muestras de plasma se pueden almacenar en tubos secundarios hasta 36 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 30 °C, hasta 6 días entre 2 °C y 8 °C o hasta 6 semanas entre -15 °C y -25 °C. Las muestras de plasma separadas en tubos secundarios se mantienen estables hasta tres ciclos de congelación/descongelación si se congelan a -15 °C y -25 °C.
- 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

Realización de la prueba

El volumen de procesamiento de muestras predeterminado para la prueba cobas® CMV es de 400 µl.

Ilustración 1: Flujo de trabajo de la prueba cobas® CMV

1	Inicie el sistema.
2	Efectúe el mantenimiento del equipo.
3	Extraiga las muestras y los reactivos del almacenamiento.
4	Inicie la serie analítica.
5	Escanee las tarjetas de parámetros.
6	Cargue las muestras.
7	Con LIS: confirme la petición de trabajo. Sin LIS: cree la petición de trabajo.
8	Cargue el material fungible (placa de extracción, microplaca, bandejas de puntas).
9	Cargue los reactivos.
10	Inicie la serie de preparación de las muestras.
11	Descargue y selle la microplaca.
12	Cargue la microplaca en el analizador.
13	Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción.
14	Revise los resultados.
15	Con LIS: envíe los resultados al LIS.
16	Descargue el analizador.

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

Tamaño de la serie

Los reactivos genéricos para la preparación de muestras (cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, cobas® 4800 System Lysis Kit 2 and cobas® 4800 System Wash Buffer Kit) están disponibles en dos tamaños de kit, cada uno con cantidades suficientes para realizar 10 series de 24 o 96 muestras, e incluyen además los controles y las muestras necesarios. La prueba cobas® CMV se suministra en un único tamaño de kit suficiente para analizar hasta 120 (10×12) muestras, e incluye muestras y controles. El cobas® CMV Control Kit está disponible en un único tamaño de kit y admite todas las configuraciones de series. En cada serie de pruebas, debe utilizarse un control positivo bajo para CMV, un control positivo alto para CMV y un control negativo. Para una serie de análisis individual, el número máximo de muestras permitido es 93 muestras y 3 controles.

En la Ilustración 1 se resume el procedimiento.

Nota: para un uso óptimo de los reactivos, los reactivos genéricos para la preparación de muestras pueden utilizarse para series con un total de entre 1-21 muestras (tamaño del kit de la prueba de 10×24) o de entre 1-93 muestras (tamaño del kit de la prueba de 10×96). No obstante, no es posible mezclar tamaños de kit distintos del cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, el cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 y el cobas® 4800 System Lysis Kit 2. Por ejemplo, si se escanea una botella de reactivo de tampón de lavado para 96 pruebas al inicio de la serie analítica, también deben utilizarse reactivos con un tamaño para 96 pruebas de los otros kits de reactivos para preparación de muestras.

Flujo de trabajo

La prueba cobas® CMV se realiza siguiendo el flujo de trabajo completo del cobas® 4800 Software. Consta de la preparación de las muestras en el cobas® x 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el cobas® z 480 analyzer. cobas® CMV puede realizarse de manera independiente o bien en modo de serie combinada con pruebas que utilizan el mismo proceso de extracción de muestras automático y perfil de la PCR para la amplificación y la detección. Durante el paso de selección de la prueba, el software muestra las pruebas compatibles para el formato de serie combinada con cobas® CMV. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener información detallada.

1. Inicie el sistema con ayuda de las instrucciones que aparecen en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
2. Realice los procedimientos de mantenimiento con ayuda de las instrucciones que aparecen en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
3. Obtenga todos los reactivos y el material fungible necesarios. Todos los reactivos, excepto CMV MMX R2 y MMX R1, deben estar a temperatura ambiente antes de introducirlos en el cobas® x 480 instrument. Los reactivos CMV MMX R2 y MMX R1 pueden obtenerse directamente del almacenamiento a 2-8 °C, puesto que alcanzarán la temperatura ambiente para cuando vayan a ser utilizados después de cargarse en el cobas® x 480 instrument.

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

4. Inicie una serie nueva y seleccione el tipo de flujo de trabajo CMV. Para realizar una serie combinada, seleccione otro tipo de flujo de trabajo aplicable (p. ej., HIV-1, HCV o HCV GT) además de CMV.
5. Siga las instrucciones de la guía del asistente del software y escanee las tarjetas de parámetros de los rangos de control y los coeficientes de calibración.

Nota: *escanee tarjetas de parámetros de los reactivos no caducados. El software no comprueba las fechas de caducidad de los reactivos de las tarjetas de parámetros. Compruebe la fecha de caducidad impresa en la tarjeta de parámetros o en los kits de reactivos antes de escanear el ID del código de barras correspondiente.*

6. Cargue las muestras. Pueden cargarse tubos primarios o secundarios; el volumen de muestra mínimo depende del tipo de tubo y de su tamaño.
7. Cree la petición de trabajo. Existen tres formas de crear una petición:
 - Mediante el editor de muestras antes de cargar una bandeja de muestras en el cobas® x 480 instrument (botón “Editor” a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario.
Cuando seleccione los resultados solicitados, elija “CMV”.
 - Mediante las instrucciones del asistente del programa para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el cobas® x 480 instrument cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y deben definirse los resultados solicitados para cada muestra.
Cuando seleccione los resultados solicitados, elija “CMV”.
 - Mediante el sistema LIS de su centro.

Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para obtener información detallada. Cargue las muestras y defina/seleccione la petición de trabajo o utilice el LIS, según corresponda.

8. Cargue el material fungible tal como indica el asistente del software. No cargue ni extraiga puntas individuales en una bandeja de puntas parcialmente utilizada puesto que el programa controla el número de puntas que quedan. En el caso de no haber puntas suficientes para realizar la serie, el programa emitirá una alerta para el usuario.

9. Cargue los reactivos.

Cargue los reactivos para la preparación de las muestras en los depósitos de reactivos con código de barras. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del programa para seleccionar el tamaño correcto de depósito de reactivo. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben estar colocados frente al lateral derecho de la bandeja. Utilice el método de doble identificación y llenado para cargar los reactivos para la preparación de las muestras:

- Leer el código de barras de la botella de reactivo
- Leer el código de barras del depósito de reactivo
- Verter el reactivo en el depósito
- Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

Nota: *el cobas® 4800 System dispone de un reloj interno para controlar el tiempo que llevan cargados los reactivos. Después de escanear el reactivo LYS 2 o WB, hay 1 hora de tiempo para completar el proceso de carga y hacer clic en el botón “Start”. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema no permite iniciar la serie si se ha superado el tiempo de carga permitido.*

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

10. Cargue los viales de los reactivos de amplificación/detección (CMV MMX R2, MMX R1 y DNA QS), los viales de control [CMV L(+)C, CMV H(+)C y (-)C] y los viales de reactivos genéricos (P2, como corresponda) directamente en la bandeja de reactivos.

Nota: *para evitar las cancelaciones de series innecesarias y la contaminación, es necesario realizar un movimiento hacia abajo con los viales de reactivo a fin de impedir la formación de burbujas o películas de líquido. Se recomienda abrir los controles empezando por el más próximo (de la posición 24 a la 1). Cámbiese de guantes tras manipular los controles positivos.*

11. Inicie la serie de preparación de las muestras. Si la serie de preparación de las muestras se realiza correctamente, se activan los botones “Sample Preparation results” y “Unload”. Si lo desea, seleccione el botón “Sample Preparation results” para revisar los resultados y luego seleccione “Unload” para descargar los transportadores de placas. También puede seleccionar “Unload” para descargar el transportador de placas sin revisar los resultados. Consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
12. Después de descargar la microplaca, siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para sellar y transferir la placa al cobas® z 480 analyzer.
13. Cargue la microplaca en el analizador e inicie la serie de amplificación y detección tal como indique la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

Nota: *el cobas® 4800 System posee un reloj interno que controla el tiempo transcurrido una vez añadidas las muestras preparadas a la Master Mix activada. La amplificación y la detección se deben iniciar tan pronto como sea posible, nunca después de los 40 minutos posteriores a la finalización de la serie del cobas® x 480 instrument. En la pestaña “Workplace” aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema cancela la serie si el cronómetro agota el tiempo.*

14. Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción como se indica en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.
15. Una vez finalizada la serie de amplificación y detección, siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para revisar y aceptar los resultados.
16. Si trabaja con un LIS, envíe los resultados al LIS.
17. Siga las instrucciones del software de la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para descargar la microplaca del cobas® z 480 analyzer.

Resultados

El cobas® 4800 System determina automáticamente la concentración de ADN del CMV en las muestras y los 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 (-)C2 y dos controles positivos: un control positivo bajo [CMV L(+)]C y un control positivo alto CMV H(+)]C.
- Compruebe la validez de la serie en el cobas® 4800 Software y/o en el informe.
- El cobas® 4800 software invalida automáticamente los resultados cuando fallan los controles positivos y negativos.

Interpretación de los resultados del control

Tabla 1: Interpretación de los resultados de control de los controles negativo y positivo

Control negativo	Resultado	Interpretación
(-)C2	Target Not Detected	El control es válido. ADN del CMV no detectado.
	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	Resultado	Interpretación
CMV L(+)]C	Título	El control es válido. El título calculado está dentro del rango de control.
	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.
CMV H(+)]C	Título	El control es válido. El título calculado está dentro del rango de control.
	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

Interpretación de los resultados

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

Nota: una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como inválidos.

Para una serie válida, los resultados de las muestras deben interpretarse tal como se indica en la Tabla 2.

Tabla 2: Resultados de fragmento objetivo para la interpretación de los resultados de fragmento objetivo individuales

cobas® CMV	Notificación e interpretación de los resultados
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 detected less than (Titer Min)." Título mínimo = 3,45E + 01 UI/ml
Título	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 = 1,00E + 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 desea obtener resultados cuantitativos, diluya la muestra original con plasma conservado en EDTA negativo para el CMV (según el tipo de la muestra original) y repita la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

Lista de avisos

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

Tabla 3: Lista de avisos

Código del aviso	Descripción	Acción recomendada
R4800	El fragmento objetivo no es válido debido a un error de cálculo.	El fragmento objetivo no es válido debido a un error de cálculo. 1. Vuelva a analizar la muestra. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R4801	El estándar de cuantificación no es válido.	El estándar de cuantificación no es válido para una muestra. 1. Vuelva a analizar la muestra. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R4802	Un control externo no es válido.	Un control externo no es válido. ^a 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R4803	El estándar de cuantificación no es válido.	El estándar de cuantificación no es válido para un control externo. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R4804	El control externo está fuera de rango.	El control externo está fuera de rango. ^b 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
X3	Error: se ha detectado un coágulo. No se ha podido procesar la muestra.	Asegúrese de que las muestras se hayan manipulado según la descripción del flujo de trabajo. 1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra. 2. Vuelva a analizar la muestra.
X4	Error: se ha producido un error de pipeteo. No se ha procesado la muestra.	Lo más probable es que el volumen de muestra sea insuficiente o se haya producido un error mecánico durante el pipeteo. 1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente. 2. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada. 3. Vuelva a analizar la muestra.

^a Aviso para muestra que se produce cuando un control externo de la serie resulta no válido.

^b Este aviso incluye todos los escenarios en los que el control externo no es válido (identificación o título del fragmento objetivo).

Nota: *para obtener las descripciones de los demás avisos del sistema, consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.*

Limitaciones del procedimiento

1. El uso de la prueba **cobas**® CMV se ha evaluado solamente para su uso con el **cobas**® CMV Control Kit, el **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, el **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 y el **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit.
2. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos que encontrará en este documento de instrucciones de uso (también denominado “Package Insert”) y la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
3. Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con muestras de plasma conservado en EDTA. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
4. La cuantificación de ADN del CMV depende del número de partículas víricas presentes en las muestras y se puede ver afectada por los métodos de obtención de las mismas, factores propios del paciente (como la edad o la presencia de síntomas) y/o la fase de infección.
5. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico 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.
6. El valor predictivo de un ensayo depende de la prevalencia de la enfermedad en una población concreta.
7. La incorporación de la enzima AmpErase a la Master Mix de la prueba **cobas**® CMV permite realizar una amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar las buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos y de las mezclas de amplificación.
8. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del **cobas**® 4800 System.
9. Solamente el **cobas**® x 480 instrument y el **cobas**® z 480 analyzer se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.
10. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.
11. La contaminación por arrastre puede causar resultados falsos positivos. Según un estudio no clínico, la tasa de contaminación cruzada entre muestras de la prueba **cobas**® CMV es del 0,0%. No se ha observado contaminación por arrastre entre series.
12. La prueba **cobas**® CMV no se ha concebido para el cribado de la presencia de CMV en sangre o productos sanguíneos ni como una 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)

El límite de detección (LoD) de la prueba **cobas**® CMV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar internacional de la OMS (cepa de Merlin, genotipo 1 de la glicoproteína B) y se verificó para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de glicoproteína B así como para muestras de CMV resistentes a fármacos. El LoD establecido para el plasma conservado en EDTA es de 34,5 UI/ml.

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.º estándar internacional de la OMS para ADN del citomegalovirus humano en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (1.º estándar internacional de la OMS para CMVH²⁸) obtenido de NIBSC, en plasma humano conservado en EDTA negativo al CMV. Se analizaron paneles con siete niveles de concentración más un blanco con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

Los resultados se muestran en la Tabla 4. El estudio demuestra que la prueba **cobas**® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV a partir de una concentración de 20,5 UI/ml con una tasa de positividad $\geq 95\%$ según el análisis de PROBIT.

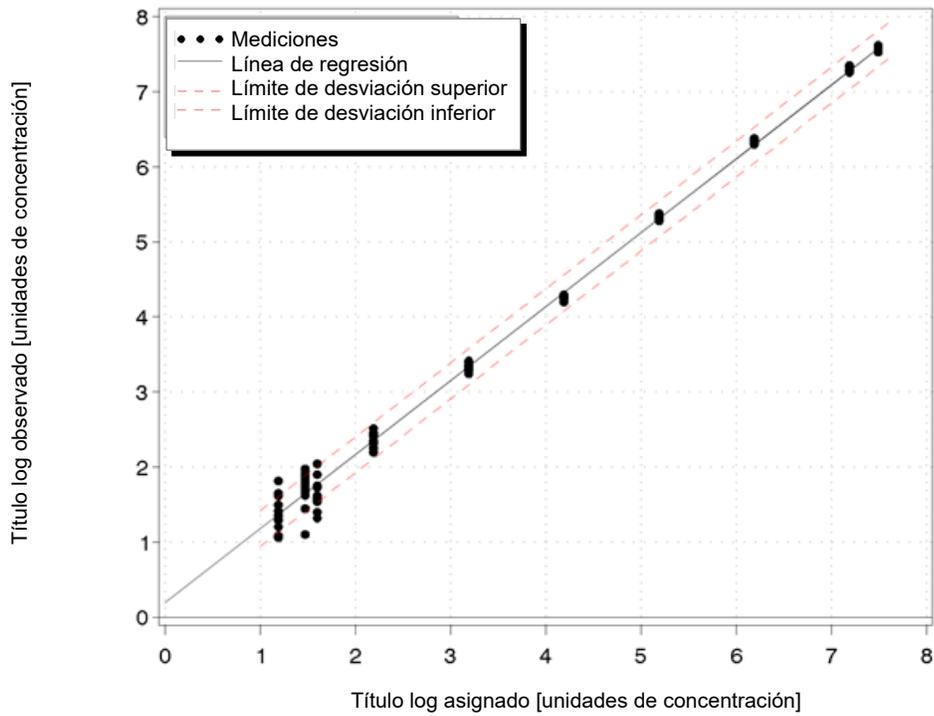
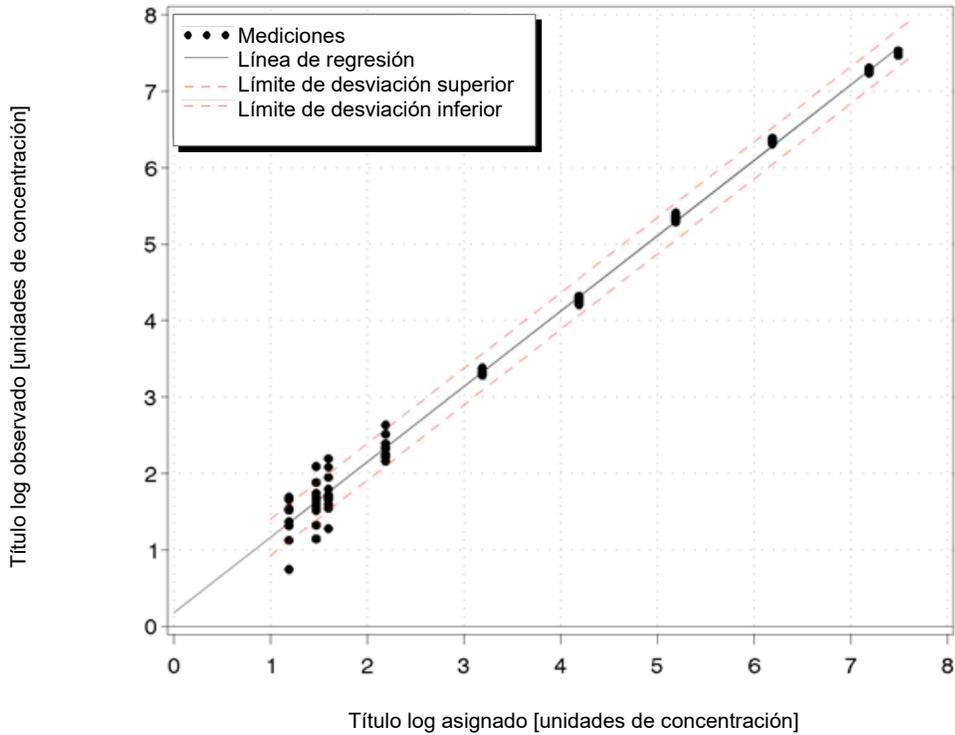
Tabla 4: Límite de detección

Concentración del título de entrada (ADN de CMV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad en %
60,0	126	126	100,0
46,0	126	126	100,0
34,5	124	124	100,0
23,0	126	122	96,8
15,0	126	111	88,1
10,0	126	97	77,0
5,0	126	63	50,0
0,0	72	0	0,0
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	20,5 UI/ml (IC al 95%: 16,9-23,3 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 $1,55E + 01$ UI/ml y $3,11E + 07$ UI/ml). Se utilizaron dos lotes de reactivo de la prueba **cobas**® CMV y se analizó cada miembro del panel con 12 réplicas por lote. Los resultados del estudio se presentan a modo representativo en la Ilustración 2 y la Ilustración 3.

Los datos demuestran un comportamiento lineal entre $1,55E + 01$ y $3,11E + 07$ UI/ml. El rango lineal determinado para la prueba **cobas**® CMV oscila entre 34,5 y $1,0E + 07$ UI/ml.

Ilustración 2: Linealidad del lote 1**Ilustración 3:** Linealidad del lote 2

Precisión intralaboratorio

La precisión de la prueba cobas® CMV se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie del ADN del genotipo gB-1 del CMV. Se analizaron seis niveles de dilución en 90 réplicas para cada nivel con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV en dos instrumentos diferentes y con cuatro usuarios distintos durante 15 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® CMV en el cobas® 4800 System. 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 5.

La prueba cobas® CMV presentó una alta precisión para tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre 3,90E + 01 UI/ml y 1,52E + 06 UI/ml.

Tabla 5: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® CMV*

Concentración nominal (UI/ml)	Concentración asignada (UI/ml)	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
		SD	SD	SD	SD agrupada
1,80E+06	1,55E+06	0,04	0,04	0,04	0,04
1,80E+05	1,55E+05	0,05	0,03	0,05	0,04
1,80E+04	1,55E+04	0,06	0,04	0,06	0,05
1,80E+03	1,55E+03	0,06	0,05	0,04	0,05
1,80E+02	1,55E+02	0,13	0,10	0,13	0,12
4,60E+01	3,97E+01	0,17	0,15	0,24	0,19

*Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de log₁₀. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.

Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba cobas® CMV en los genotipos 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 de CMV para dos genotipos distintos de la glicoproteína B (gB-2 y gB-3) y ADN plasmídico de CMV para el genotipo 4 (gB-4) de la glicoproteína B en plasma conservado en EDTA negativo para el CMV. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 42 réplicas de un nivel de concentración. El análisis se realizó con un lote de reactivo de cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 6. 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 ≥ 95%.

Tabla 6: Verificación del límite de detección para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de glicoproteína B del CMV

Genotipo de glicoproteína B	Tasa de positividad a 34,5 UI/ml
gB-2	100,0%
gB-3	100,0%
gB-4	100,0%

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

La serie de diluciones utilizada para la verificación del intervalo lineal (según la determinación del genotipo 1 de la glicoproteína B del CMV) de todos los genotipos de la glicoproteína B del CMV (gB2, gB3 y gB4) constaba de un panel de siete miembros con el que se cubre todo el intervalo deseado. El análisis se realizó con un lote de reactivo de la prueba cobas® CMV y se analizaron 12 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). La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue igual o menor que $0,06 \log_{10}$.

Verificación de muestras de CMV resistentes a fármacos

El rendimiento de la prueba cobas® CMV con las muestras de CMV resistentes a fármacos 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 CMV de dos muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir) en plasma conservado en EDTA negativo para CMV. La determinación de la tasa de positividad se realizó con 42 réplicas de un nivel de concentración. El análisis se realizó con un lote de reactivo de cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 7. Los resultados demuestran que la prueba cobas® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV en todas las muestras analizadas resistentes a los fármacos más habituales contra el CMV en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad $\geq 95\%$.

Tabla 7: Verificación del límite de detección para CMV con muestras resistentes a fármacos

Fenotipo de resistencia	Tasa de positividad a 34,5 UI/ml
foscarnet	100,0%
ganciclovir, valganciclovir, cidofovir	100,0%

Verificación del intervalo lineal para muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir)

La serie de diluciones utilizada para la verificación del intervalo lineal (según la determinación para el genotipo 1 de la glicoproteína B del CMV) de las muestras resistentes a los fármacos más habituales contra el CMV constaba de un panel de siete miembros con el que se cubre todo el intervalo lineal deseado. El análisis se realizó con un lote de reactivo de la prueba cobas® CMV y se analizaron 12 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se comprobó el intervalo lineal de la prueba cobas® CMV para todas las muestras analizadas resistentes a los fármacos más habituales contra el CMV. La regresión lineal de las dos muestras resistentes a fármacos analizadas se ajusta al mejor modelo de distribución.

Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba cobas® CMV se evaluó mediante la dilución de un panel de patógenos (Tabla 8) en plasma conservado en EDTA positivo para ADN del CMV y negativo para ADN del CMV. Los patógenos se añadieron al plasma conservado en EDTA negativo al virus y se analizaron con y sin ADN de CMV. La prueba cobas® CMV generó resultados negativos para todas las muestras de patógenos sin fragmento objetivo del CMV y resultados positivos para todas las muestras de patógenos con fragmento objetivo del CMV. Además, el título \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas para el CMV con organismos de posible reacción cruzada se situó en $\pm 0,10 \log_{10}$ del título \log_{10} medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 8: Patógenos analizados para reactividad cruzada

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

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 con presencia y ausencia de ADN del CMV. El análisis de las sustancias demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® CMV. Asimismo, se analizó la presencia de marcadores de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y anticuerpos antinucleares (ANA).

Además, se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 9 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. La prueba cobas® CMV generó resultados negativos para todas las muestras sin fragmento objetivo del CMV y resultados positivos para todas las muestras con fragmento objetivo del CMV. Además, el título \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas para CMV con sustancias potencialmente interferentes se situó en $\pm 0,36 \log_{10}$ del título \log_{10} medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 9: Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia mediante cuantificación del ADN de CMV con la prueba cobas® CMV

Clase de fármaco	Nombre genérico del fármaco	
Antimicrobiano	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	Ácido micofenólico
	Ciclosporina	Prednisona
	Everolimus	Sirolimus
	Micofenolato mofetil	Tacrolimus

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 fragmento objetivo del CMV. Las muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente $3 \times \text{LLOQ}$ (104 UI/ml).

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el CMV, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0,0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0,0% para el límite inferior y del 3,6% para el límite superior [0,0%: 3,6%].

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba cobas® CMV se determinó mediante el análisis de 230 réplicas de muestras de plasma conservado en EDTA negativo al CMV y 233 réplicas de muestras de CMV con un título alto de $1,55E + 07$ UI/ml. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

Todas las 230 réplicas de las muestras negativas resultaron válidas y se detectaron como negativas, por lo que la tasa de contaminación por arrastre fue del 0,0% con un límite de confianza unilateral del 95% de 1,3%.

Evaluación clínica del rendimiento

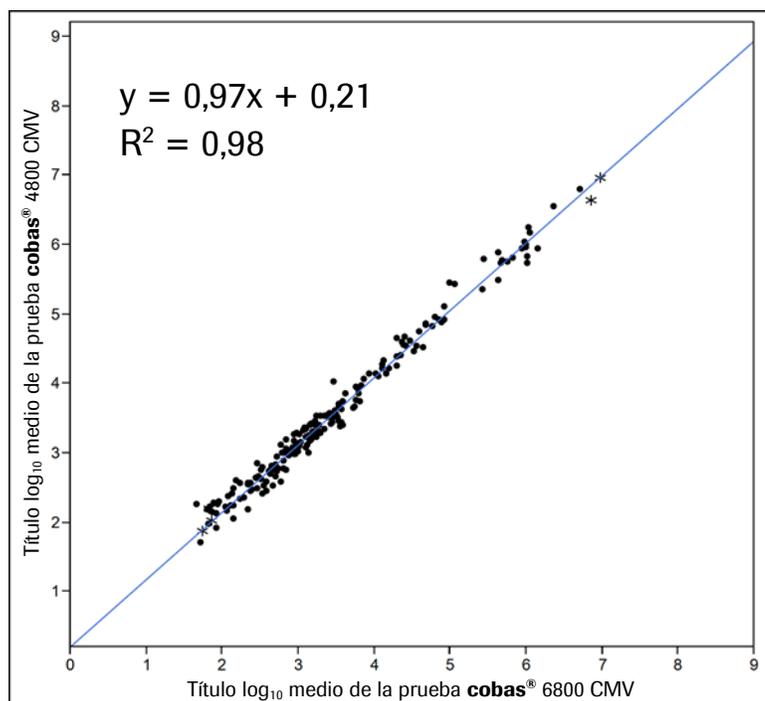
Correlación de métodos

Comparación de la evaluación del rendimiento de la prueba cobas® CMV en el cobas® 4800 System y la prueba cobas® CMV en los cobas® 6800/8800 Systems

Se realizó un análisis de muestras de plasma conservado en EDTA obtenidas de pacientes infectados por CMV para comparar el rendimiento de la prueba cobas® CMV para uso en el cobas® 4800 System y la prueba cobas® CMV para uso en los cobas® 6800/8800 Systems. Un total de 197 muestras de plasma conservado en EDTA de todos los genotipos del CMV, analizadas por duplicado, resultaron válidas y se encontraban dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizó el análisis de la regresión de Deming. La desviación del título medio de las muestras analizadas con las dos pruebas fue de 0,11 log₁₀ (intervalo de confianza del 95 %: 0,09; 0,13).

En la Ilustración 4 se muestran los resultados de la regresión de Deming. El símbolo * de las ilustraciones indica una única determinación.

Ilustración 4: Comparativa del análisis de regresión de la prueba cobas® CMV para uso en el cobas® 4800 y la prueba cobas® CMV para uso en los cobas® 6800/8800



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 611 muestras individuales de plasma conservado en EDTA con tres lotes de reactivo de cobas® CMV. 611 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 %).

Información adicional

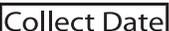
Características principales del ensayo

Tipo de muestra	Plasma conservado en EDTA
Volumen de procesamiento de muestras	400 µl
Sensibilidad analítica	34,5 UI/ml
Intervalo lineal	34,5 UI/ml – 1,0E + 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 10: Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de diagnóstico mediante PCR de Roche

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

Asistencia técnica

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

Fabricante e importador

Tabla 11: Fabricante e importador



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

Fabricado en los EE. UU.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marcas registradas y patentes

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografia

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Schoub BD, Griffiths PD, Mortimer P, editors. *Principles and Practice of Clinical Virology*. 6th Edition. London: John Wiley and Sons; 2009. pp. 161-197.
2. Mocarski ES, Shenk T, Griffiths P, Pass RF. Cytomegalovirus. In: Knipe DM, Howley PM, editors. *Fields' Virology*. 6th Edition. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2013. pp.1960-2014.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of human cytomegalovirus latency and reactivation. In: Shenk TE, Stinski MF, editors. *Human Cytomegalovirus*. Berlin Heidelberg, Germany: Springer-Verlag; 2008. pp. 2976-314.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. *Rev Infect Dis*. 1983;5:205-15.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. *Immunol Ser*. 1989;44:507-34.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5:204-10.
7. 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;186:829-33.
8. 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;68:1305-11.
9. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. The third international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2018;102:900-31.
10. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, et al. 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;176:1484-90.
11. Razonable RR, Hayden RT. Clinical utility of viral load in management of cytomegalovirus infection after solid organ transplantation. *Clin Microbiol Rev*. 2013;26:703-27.
12. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol*. 2008;41:237-41.
13. Salmon-Ceron 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;14:1041-9.
14. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, et al. Quantitative effects of valgacyclovir 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.
15. 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;11:889-93.
16. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, et al. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS*. 2002;16:877-87.
17. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, et al. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant*. 2009;9:258-68.

18. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human cytomegalovirus infection. *Clin Appl Immunol Rev.* 2002;2:155-67.
19. Kraft CS, Armstrong WS, Caliendo AM. Interpreting quantitative cytomegalovirus DNA testing: understanding the laboratory perspective. *Clin Infect Dis.* 2012;54:1793-7.
20. 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;5:218-27.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y).* 1992;10:413-7.
25. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-94.
26. Centers for Disease Control and Prevention, Public Health Service, National Institutes of Health, US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Revised Dec 2009; Accessed 10 July 2023. <https://www.cdc.gov/labs/pdf/CDC-BiosafetyMicrobiologicalBiomedicalLaboratories-2009-P.PDF>.
27. Clinical and Laboratory Standards Institute. M29-A4: Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; approved guideline-Fourth Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014. Accessed 10 July 2023. https://clsi.org/media/1459/m29a4_sample.pdf.
28. Fryer JF, Heath AB, Minor PD, Collaborative Study G. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification technology. *Biologicals.* 2016;44:242-51.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 3.0 07/2023	<p>Se ha revisado para cumplir con los requisitos del reglamento IVDR.</p> <p>Se ha añadido el apartado Evaluación clínica del rendimiento.</p> <p>Se ha incluido el símbolo Rx Only en la primera página.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Se han actualizado las direcciones del fabricante.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>
Doc Rev. 4.0 02/2024	<p>Se ha actualizado la información sobre peligros de los kits Lysis Kit 2.</p> <p>Se ha actualizado la marca cobas®.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>

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

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