



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A. N. M. A. T.

DISPOSICIÓN Nº

**8 6 5 3**

BUENOS AIRES,

**22 DIC 2014**

VISTO el expediente Nº 1-47-7714/13-1 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado COBAS® AmpliPrep/COBAS® Taqman HCV Quantitative Test, V 2.0 (CAT Nº: 5532264)/ Prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la determinación cuantitativa de los genotipos 1 al 6 del ARN del virus de la hepatitis C (HCV) en suero o plasma humano; mediante el equipo COBAS® AmpliPrep para el procesamiento automatizado de muestras y el analizador COBAS® Taqman® para la amplificación y la detección .

Que a fojas 238 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establecen que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización asimismo se deberá comunicar por nota al Servicio de Productos para Diagnóstico la primer importación del producto de referencia con el objetivo de efectuar la evaluación del primer lote en el país, quedando su comercialización sujeta a los resultados de las mismas.



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A.N.M.A.T

DISPOSICIÓN Nº

8 6 5 3

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la intervención de su competencia.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley Nº 16.463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición ANMAT Nº 2674/99.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos Nº 1490/92 y 1886/14.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE  
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado COBAS® AmpliPrep/COBAS® Taqman HCV Quantitative Test, V 2.0 (CAT Nº: 5532264)/ Prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la determinación cuantitativa de los genotipos 1 al 6 del ARN del virus de la hepatitis C (HCV) en suero o plasma humano; mediante el equipo COBAS® AmpliPrep para el procesamiento automatizado de muestras y el analizador COBAS® Taqman® para la amplificación y la detección, el que será elaborado por Roche Diagnostics International Ltd. Forrenstrasse 2, 6343 Rotkreuz (SUIZA) para Roche Molecular Systems Inc. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA) en envases conteniendo: cassette de reactivos de micropartículas magnéticas para HCV (HCV QT v2.0 CS1) para 72 determinaciones, cassette de reactivos de lisis para HCV (HCV QT v2.0 CS2) para



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A.N. M. A.T

DISPOSICIÓN N°

**8 6 5 3**

72 determinaciones, cassette de multireactivos para HCV (HCV QT v2.0 CS3) para 72 determinaciones, cassette específico para la prueba de HCV (HCV QT v2.0 CS4) para 72 determinaciones, control positivo alto del HCV (HCV H(+))C, v2.0: 6 X 0,85ml), control positivo bajo del HCV (HCV L(+))C, v2.0: 6 X 0,85ml), Control negativo de COBAS®TaqMan (CTM(-) C: 6 x 1ml), Clip de código de barras para control positivo alto de HCV (HCV H(+)) C, v2.0 Clip: 6), Clip de código de barras para control positivo bajo de HCV (HCV L(+)) C, v2.0 Clip: 6), y Clip de código de barras para control Negativo de HCV (HCV (-)) C, v2.0 Clip: 6), con una vida útil de DIECIOCHO (18) MESES desde la fecha de elaboración, conservado entre 2 y 8°C e importado terminado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica)y que la composición se detalla a fojas 26 a 28.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 83 a 174 y 188 a 230 (Desglosándose fjs. 83 a 112 y 188 a 199) debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

ARTICULO 4º.- LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MEDICA se reserva el derecho de reexaminar los métodos de control, estabilidad y elaboración cuando las circunstancias así lo determinen.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por Mesa de Entradas de la Dirección Nacional de



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A.N.M.A.T

DISPOSICIÓN Nº

**8 6 5 3**

Productos Médicos notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, Archívese.-

EXPEDIENTE Nº 1-47-7714/13-1

DISPOSICIÓN Nº: **8 6 5 3**

Fd

**Ing. ROGELIO LOPEZ**  
Administrador Nacional  
A.N.M.A.T.

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS EXTERNOS:**

**Nombre:** COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV  
Quantitative Test v 2.0 / HCVQTV2

**Números de catálogo:** 5532264

**Establecimiento elaborador:**

**Elaborado por:**

Roche Diagnostics International Ltd  
Forrenstrasse 2, 6343 Rotkreuz, Suiza

**para:**

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

**Establecimiento importador:**

Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).  
Av. Belgrano 2126; Don Torcuato, Pcia. de Buenos Aires  
República Argentina

Director Técnico: Dr. Ernesto A. Espino - Farmacéutico

**"Autorizado por la A.N.M.A.T."**


**Certificado N°:**

**Número de lote o partida:**

Lote N° \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**Constitución del equipo e indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:**

HCV QT v2.0 CS1	1 x 72 Tests
HCV QT v2.0 CS2	1 x 72 Tests
HCV QT v2.0 CS3	1 x 72 Tests
HCV QT v2.0 CS4	1 x 72 Tests
HCV H(+)C v2.0	6 x 0.85 MI
HCV L(+)C v2.0	6 x 0.85 mL
CTM (-) C	6 x 1.0 mL
HCV H(+)C v2.0 Clip	1 x 6 Clips
HCV L(+)C v2.0 Clip	1 x 6 Clips
HCV (-) C v2.0 Clip	1 x 6 Clips

**Número de determinaciones posibles siguiendo la/s metodología/s propuestas:** 72 tests

**Descripción de la finalidad de uso del producto:**

"Ver instrucciones de uso"

"Para uso diagnóstico in vitro"

**Descripción de las precauciones, de los cuidados especiales e instrucciones sobre los riesgos derivados del uso del producto y su descarte:**


"Irritante"

"Nocivo"

"Ver instrucciones de uso"

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2-8°C.

  
DR. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV QT v2.0 CS1

**Número de lote o partida:**

Lote N°: \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:**

MGP 7,0 ml

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 8° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.s.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



8637

**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV QT v2.0 CS2

**Número de lote o partida:**

Lote N°: \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:**


LYS                      78 ml

**Descripción de las precauciones, de los cuidados especiales e instrucciones sobre los riesgos derivados del uso del producto y su descarte:**

"Nocivo"

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 8° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



8 6 5 3



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

Nombre: HCV QT v2.0 CS3

Número de lote o partida:

Lote N°: \_\_\_\_\_

Fecha de vencimiento:

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:**

Pase 3,8 ml


EB 8,1 ml

**Descripción de las precauciones, de los cuidados especiales e instrucciones sobre los riesgos derivados del uso del producto y su descarte:**

"Nocivo"

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 8° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8 6 5 3



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV QT v2.0 CS4

**Número de lote o partida:**

**Lote N°:** \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

**Vencimiento:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:**

QS	3,6 ml
Mn <sup>2+</sup>	19,8 ml
MMX	3,5 ml

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 8° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV H(+)C, v2.0

**Número de lote o partida:**

Lote N°: \_\_\_\_\_


**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:** 0,85 ml

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 8° C

  
Dr. ERNESTO A. ESHINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.l.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV L(+)/C v2.0

**Número de lote o partida:**

**Lote N°:** \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

**Vencimiento:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_


**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:** 0,85 ml

**Descripción de las precauciones, de los cuidados especiales e instrucciones sobre los riesgos derivados del uso del producto y su descarte:**

"Nocivo"

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 8° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. # 1.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** CTM (-) C

**Número de lote o partida:**

Lote N°: \_\_\_\_\_


**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:** 1.0 ml

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 30° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV H(+)/C v2.0 Clip

**Número de lote o partida:**

Lote N°: \_\_\_\_\_


**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:** 6 unidades

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 30° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV L(+)<sup>C</sup> v2.0 Clip

**Número de lote o partida:**

**Lote N°:** \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

**Vencimiento:** \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:** 6 unidades

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 30° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHES S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



**PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:**

**Nombre:** HCV (-) C v2.0 Clip

**Número de lote o partida:**

Lote N°: \_\_\_\_\_

**Fecha de vencimiento:**

Vencimiento: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

**Indicación de las unidades métricas de cada componente del producto:** 6 unidades

**Indicación de las condiciones adecuadas de almacenamiento y transporte del producto:**

Conservar entre 2 - 30° C

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



# COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, version 2.0



PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV  
Quantitative Test, v2.0

**HCVQTV2**

72 Tests

P/N: 05532264 190

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®  
Wash Reagent

**PG WR**

5.1 Liters

P/N: 03587797 190

## Tabla de contenido

<b>USO PREVISTO</b> .....	1
<b>RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA</b> .....	2
<b>PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO</b> .....	2
<b>REACTIVOS</b> .....	5
<b>ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES DEL PROCEDIMIENTO</b> .....	8
<b>REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN</b> .....	9
<b>MATERIALES SUMINISTRADOS</b> .....	10
<b>MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS</b> .....	11
<b>OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS</b> .....	12
<b>INSTRUCCIONES DE USO</b> .....	12
<b>CONTROL DE CALIDAD</b> .....	15
<b>RESULTADOS</b> .....	16
<b>LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO</b> .....	17
<b>SUSTANCIAS INTERFERENTES</b> .....	18
<b>EVALUACIÓN NO CLÍNICA DEL RENDIMIENTO</b> .....	19
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	27

## USO PREVISTO

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la determinación cuantitativa de los genotipos 1 a 6 del ARN del virus de la hepatitis C (HCV) en suero o plasma conservado en EDTA humano mediante el equipo COBAS® AmpliPrep para el procesamiento automatizado de muestras y el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 para la amplificación y la detección automatizadas. La prueba está diseñada para su uso en el tratamiento de pacientes con HCV crónica en combinación con marcadores de infección clínicos y de laboratorio. La prueba puede utilizarse para predecir la probabilidad de una respuesta virológica sostenida (RVS) de forma temprana durante el curso de un tratamiento antiviral y para evaluar la respuesta viral a un tratamiento antiviral (tratamiento guiado por la respuesta) a través de la determinación de cambios en los niveles de ARN del HCV en suero o plasma conservado en EDTA.

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 no está indicada para utilizarse como prueba de detección sistemática de la presencia del HCV en sangre o hemoderivados ni como prueba diagnóstica para confirmar la presencia de una infección por HCV.

El apartado de información de revisión del documento se halla al final del documento.  
05902754001-01ES

1

Doc Rev. 1.0

Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus de la hepatitis C está considerado como el principal agente etiológico responsable del 90 al 95% de los casos de hepatitis post-transfusional<sup>1-4</sup>. El HCV es un virus ARN monocatenario de sentido positivo con un genoma de aproximadamente 9.500 nucleótidos que codifican 3.000 aminoácidos. Como virus transportado en sangre, el HCV es transmisible a través de la sangre y los productos hemoderivados. La adopción más o menos generalizada de medidas de detección sistemática del HCV en sangre ha reducido de forma considerable el riesgo de hepatitis asociado a las transfusiones. La incidencia más alta de infección por HCV se asocia al abuso de drogas por vía intravenosa y en menor medida a otras exposiciones percutáneas<sup>5</sup>. La prevalencia mundial de la infección por HCV, determinada mediante métodos inmunoserológicos, varía del 0,6% en Canadá al 1,5% en Japón<sup>6</sup>. Las tasas de eliminación viral espontánea en individuos expuestos varían en gran medida; se observan porcentajes de entre el 10 y el 60%, según los datos clínicos obtenidos con relación a la normalización de las enzimas hepáticas y la eliminación de ARN del HCV en plasma<sup>6</sup>.

Las partículas víricas del HCV no se pueden cultivar a partir de muestras de sangre infectadas, por lo que la presencia de anticuerpos anti-HCV en los pacientes infectados con HCV ha conducido al desarrollo de ensayos inmunoserológicos específicos para dichos anticuerpos. Sin embargo, la presencia de anticuerpos anti-HCV es una medida de la exposición previa a la infección por HCV, pero no puede considerarse un marcador de la infección real. La medición de los niveles de alanina aminotransferasa (ALT) se considera un indicador sustituto de la infección por HCV, pero no se considera una medición directa de viremia.

En cambio, la determinación cuantitativa de ARN del HCV para la medición de cargas víricas de la línea de base y la monitorización del tratamiento está bien establecida para demostrar la eficacia de la respuesta antiviral al tratamiento combinado de peginterferón y ribavirina<sup>8-10</sup>. Las directrices actuales para la gestión y el tratamiento del HCV recomiendan realizar pruebas de determinación cuantitativa del ARN del HCV antes del inicio del tratamiento antiviral, durante el tratamiento (terapia guiada por la respuesta) y generalmente de 12 a 24 semanas tras la finalización del mismo. El objetivo del tratamiento es la ausencia de ARN del HCV detectable mediante una prueba sensible realizada 24 semanas después de finalizar el tratamiento, lo que indica que se ha logrado una respuesta virológica sostenida (RVS)<sup>11</sup>. Durante el tratamiento antiviral, se suele observar una respuesta virológica temprana (RVT), definida como una disminución de dos log o más en el ARN del HCV tras 12 semanas de tratamiento. Si no se alcanza una RVT, el valor predictivo para alcanzar una RVS es altamente negativo, por lo que se ha incorporado a las reglas de futilidad (detención) de los tratamientos de interferón pegilado y ribavirina<sup>11-13</sup>. Una respuesta viral rápida (RVR), es decir, niveles no detectables de ARN del HCV tras 4 semanas de tratamiento, presenta un valor predictivo altamente positivo para una RVS<sup>14</sup>. Más recientemente, se ha utilizado la determinación de la cinética viral durante el tratamiento para personalizar más su duración con los nuevos agentes antivirales de acción directa para el tratamiento de infecciones del HCV crónicas<sup>15,16</sup>.

## PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos para la determinación cuantitativa del ARN del virus de la hepatitis C (HCV) en suero o plasma conservado en EDTA humano. La preparación de las muestras se realiza automáticamente mediante el equipo COBAS® AmpliPrep con amplificación y detección automáticas mediante el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48.

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se basa en tres procesos principales: (1) preparación manual de la muestra para aislar el ARN del HCV; (2) transcripción inversa del ARN objetivo para generar ADN complementario (ADNc); y (3) amplificación mediante PCR del ADNc objetivo y detección simultánea de sondas de detección oligonucleótidas doblemente marcadas, escindidas y específicas del fragmento objetivo.

8653



### Preparación de las muestras

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 utiliza la preparación automatizada de la muestra en el equipo COBAS® AmpliPrep mediante una técnica de captura genérica basada en sílice. El volumen de introducción de la muestra es de 650 µl, mientras que el procedimiento procesa 500 µl de plasma conservado en EDTA o suero. Se lleva a cabo la lisis de las partículas víricas del HCV mediante incubación a alta temperatura con una proteasa y un tampón de lisis/unión caotrópico para liberar los ácidos nucleicos y proteger al ARN del HCV liberado de las RNasas presentes en el suero o el plasma conservado en EDTA. Junto con el reactivo de lisis y las micropartículas magnéticas, se introducen en cada muestra proteasa y un número conocido de moléculas de ARN del estándar de cuantificación (QS) del HCV. Posteriormente se incubaba la mezcla y el ARN del HCV y el ARN del QS del HCV quedan unidos a la superficie de las micropartículas magnéticas. Las sustancias no unidas, tales como sales, proteínas y otras impurezas celulares, se eliminan mediante el lavado de las micropartículas magnéticas. Tras la separación de las partículas y la completa realización de los pasos de lavado, se hacen eluir los ácidos nucleicos adsorbidos a temperatura elevada con una solución acuosa. Se añade entonces la muestra procesada, que contiene el ARN del HCV y el ARN del QS del HCV liberados, a la mezcla de amplificación que se transfiere al analizador COBAS® TaqMan® o al analizador COBAS® TaqMan® 48.

### Transcripción inversa y amplificación mediante PCR

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 utiliza la transcripción inversa del ARN del HCV al ADN complementario (ADNc) y la amplificación del PCR del ADNc con cebadores (primers) que definen una secuencia en la región muy conservada de la región no traducida 5' del genoma del HCV<sup>17</sup>. Se ha optimizado la secuencia de nucleótidos de los cebadores para producir una amplificación comparable de los genotipos 1 a 6 del HCV. La transcripción inversa y la reacción de amplificación mediante PCR se lleva a cabo con una mezcla optimizada de enzimas recombinantes termoestables: las polimerasas de ADN ZOS5 y ZOS. En presencia de manganeso (Mn<sup>2+</sup>) y bajo condiciones de tampón apropiadas, ZOS y ZOS5 exhiben actividad tanto de transcriptasa inversa como de polimerasa de ADN. Esto permite que la transcripción inversa y la amplificación mediante PCR tengan lugar junto con la detección en tiempo real de los amplicones.

Las muestras procesadas se añaden a la mezcla de amplificación en tubos de amplificación (tubos K) donde se producen tanto la transcripción inversa como la amplificación mediante PCR. La mezcla de reacción se calienta para permitir que un cebador descendente hibride específicamente con el ARN objetivo del HCV y el ARN del QS del HCV. En presencia de Mn<sup>2+</sup> y un exceso de desoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs), entre los que se encuentran trifosfatos de desoxiadenosina, desoxiguanosina, desoxicitidina y desoxiuridina, las polimerasas ZOS y ZOS5 extienden los cebadores hibridados formando una cadena de ADN complementaria al ARN objetivo.

### Amplificación del fragmento objetivo

Tras la transcripción inversa del ARN objetivo del HCV y el ARN del QS del HCV, el termociclador del analizador COBAS® TaqMan® o del analizador COBAS® TaqMan® 48 calienta la mezcla de reacción para desnaturalizar el híbrido ARN:ADNc y exponer las secuencias objetivo específicas del cebador. A medida que la mezcla se enfría, los cebadores se hibridan con el ADNc del fragmento objetivo. Las polimerasas de ADN termoestables (ZOS y ZOS5), en presencia de Mn<sup>2+</sup> y un exceso de desoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs), extienden los cebadores hibridados a lo largo de la plantilla objetivo para producir una molécula de ADN bicatenario denominada amplicón. El analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 repite automáticamente este proceso durante un número de ciclos predeterminado, con el fin de duplicar en cada ciclo la cantidad de ADN amplicón. El número de ciclos requerido se programa previamente en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48. La amplificación tiene lugar únicamente en la región del genoma del HCV situada entre los cebadores. No se amplifica el genoma entero del HCV.

05902754001-01ES

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. de I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

3

Doc Rev. 1.0

8 6 5 3



**Amplificación selectiva**

La amplificación selectiva del ácido nucleico del fragmento objetivo de la muestra se logra en la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina<sup>16</sup>, pero no del ADN que contiene desoxitimidina. El ADN natural carece de desoxiuridina que, sin embargo, está siempre presente en el amplicón debido al uso de trifosfato de desoxiuridina como uno de los dNTPs del reactivo de la mezcla maestra; por lo tanto, sólo el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina permite que la enzima AmpErase pueda destruir el amplicón contaminante antes de la amplificación del ADN del fragmento objetivo. Además, la enzima AmpErase destruye cualquier producto inespecífico que se pueda formar tras la activación inicial de la mezcla maestra por el manganeso. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de la mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de la desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico, la cadena de ADN amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, por lo que el ADN ya no puede amplificarse. La enzima AmpErase permanece inactiva durante un período de tiempo prolongado una vez expuesta a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo formado durante la reacción de PCR.


**Detección de sondas escindidas y doblemente marcadas y determinación cuantitativa del ARN del HCV**

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 utiliza la tecnología de PCR en tiempo real<sup>16,17</sup>. El uso de sondas doblemente marcadas con fluorescente permite detectar en tiempo real la acumulación del producto de la PCR mediante la supervisión de la intensidad de emisión de los marcadores emisores fluorescentes liberada durante el proceso de amplificación. Las sondas constan de sondas oligonucleótidas específicas para el HCV y el QS del HCV con un marcador emisor (reporter dye) y un marcador silenciador (quencher dye). En la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0, las sondas del HCV y del QS del HCV están marcadas con diferentes marcadores emisores fluorescentes. Cuando las sondas están intactas, la proximidad del marcador silenciador suprime la fluorescencia del marcador emisor debido a efectos de transferencia de energía de tipo Förster. Durante la PCR, la sonda se hibrida con una secuencia del fragmento objetivo y se escinde por la actividad de las nucleasas 5' → 3' de las polimerasas de ADN ZOI y ZO5D termoestables. Cuando se han liberado y separado el marcador emisor y el marcador silenciador, cesa el enmascaramiento (quenching) y la actividad fluorescente del marcador emisor experimenta un aumento. La amplificación del ARN del HCV y el ARN del QS del HCV se miden de forma independiente a distintas longitudes de onda. Este proceso se repite durante un número de ciclos predeterminado, aumentando en cada ciclo la intensidad de emisión de los marcadores emisores individuales, lo que permite la identificación independiente del ARN del HCV y el QS del HCV. El ciclo de la PCR en el que la curva de crecimiento adquiere forma exponencial está relacionado con la cantidad de material de partida presente al inicio de la PCR.

La cuantificación del ARN vírico del HCV se realiza empleando el QS del HCV. El estándar compensa los efectos de inhibición y controla los procesos de preparación y amplificación para permitir una cuantificación más exacta del ARN del HCV presente en cada muestra. El QS del HCV es un constructo de Armored RNA (aRNA) no infeccioso que contiene fragmentos de las secuencias del HCV con sitios de unión a cebadores idénticos a los del ARN objetivo del HCV y una región exclusiva de unión a sonda que permite diferenciar el amplicón del QS del HCV del amplicón del HCV objetivo.

El QS del HCV se añade a cada una de las muestras en un número de copias conocido y está presente durante la preparación de las muestras, la transcripción inversa y la amplificación mediante PCR y la detección de las sondas de detección oligonucleótidas doblemente marcadas y escindidas. El analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 calcula la concentración de ARN de HCV presente en las muestras de prueba comparando la señal del HCV con la señal del QS del HCV para cada muestra y control.

Durante la fase de hibridación de la PCR en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48, las muestras se iluminan y excitan con luz filtrada, lo que permite recoger los datos de emisión de fluorescencia filtrada correspondientes a cada muestra. Las lecturas obtenidas para cada muestra se corrigen entonces para compensar fluctuaciones instrumentales. El equipo envía esas lecturas de fluorescencia al programa AMPLILINK y las almacena en una base de datos. Se utilizan comprobaciones previas para determinar si los datos de ARN del HCV y ARN del QS del HCV constituyen conjuntos válidos; asimismo, se generan avisos cuando los datos estén fuera de límites prefijados. Una vez completadas y superadas todas las comprobaciones previas, las lecturas de fluorescencia se procesan para generar valores de Ct correspondientes al ARN del HCV y el ARN del QS del HCV. Las constantes de calibración específicas del lote incluidas con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se utilizan para calcular

  
Dr. ERNESTO ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. S. L.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



el valor de título de las muestras y los controles en función de la diferencia entre los valores de Ct obtenidos para el ARN del HCV y el ARN del QS del HCV. La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 está estandarizada con respecto al estándar internacional de la OMS para ARN del virus de la hepatitis C para ensayos realizados mediante la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (Código NIBSC 96/798)<sup>23</sup>, y los resultados de título se indican en unidades internacionales por mililitro (UI/ml).

**REACTIVOS**

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0**  
(P/N: 05532264 190)

**HCVQTV2**

72 pruebas

**HCV QT v2.0 CS1**

(Casete de reactivo de micropartículas magnéticas para HCV)

1 x 72 pruebas

- Micropartículas magnéticas
- Tampón Tris
- 0,09% de azida sódica
- 0,1% de metilparabén

**HCV QT v2.0 CS2**

(Casete de reactivos de lisis para HCV)

1 x 72 pruebas

- Citrato de sodio dihidratado
- 42,5% de tiocianato de guanidina
- < 6% de polidocanol
- 0,9% de ditioneitol

Xn 42,5% (p/p) de tiocianato de guanidina



Nocivo

R20/21/22-R52/53-R32: Nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. Nocivo para los organismos acuáticos, puede provocar a largo plazo efectos negativos en el medio ambiente acuático. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.

S13-S61: Manténgase lejos de alimentos, bebidas y piensos. Evítese su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas de la ficha de datos de seguridad.

Xn < 6% de polidocanol



Nocivo

R22-R41-R50: Nocivo por ingestión. Riesgo de lesiones oculares graves. Muy tóxico para los organismos acuáticos.

S26-S39-S61: En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Usese protección para los ojos/la cara. Evítese su liberación al medio ambiente. Recábense instrucciones específicas de la ficha de datos de seguridad.

8653



1 x 72 pruebas


**HCV QT v2.0 CS3**

Casete de multireactivos para HCV, que contiene:

**Pase**

(Solución de proteinasa)

- Tampón Tris
- < 0,05% de EDTA
- Cloruro de calcio
- Acetato de calcio
- ≤ 7,8% de proteinasa
- Glicerol

Xn  ≤ 7,8% (p/p) de proteinasa

Nocivo

R37/38-R41-R42: Irrita las vías respiratorias y la piel. Riesgo de lesiones oculares graves. Posibilidad de sensibilización por inhalación.

S22-S24-S26-S36/37/39: No respirar el polvo. Evítense el contacto con la piel. En caso de contacto con los ojos, lávense inmediata y abundantemente con agua y acúdase a un médico. Úsense indumentaria y guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.

1 x 3,8 ml

**EB**

(Tampón de elución)

- Tampón Tris-base
- 0,09% de azida sódica

1 x 72 pruebas

**HCV QT v2.0 CS4**

Casete de reactivos específico para la prueba HCV, que contiene:

**QS**

(Estándar de cuantificación del HCV)

- Tampón Tris
- EDTA
- < 0,002% de ARN poli Ar (sintético)
- < 0,001% de constructo de Armored RNA del HCV que contiene secuencias de unión al cebador del HCV y una región exclusiva de unión a sonda (ARN no infeccioso en bacteriófago MS2)
- 0,05% de azida sódica

1 x 3,6 ml

**MMX**

(Mezcla maestra para HCV)


- Tampón tricina
- Acetato de potasio
- Hidróxido potásico
- < 20% de sulfóxido de dimetilo
- Glicerol
- < 0,004% de dATP, dCTP, dGTP y dUTP
- < 0,002% de cebadores del HCV ascendentes y descendentes para la región 5' UTR del HCV
- < 0,001% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para el HCV y el estándar de cuantificación del HCV
- < 0,001% de aptámero oligonucleótido
- < 0,05% de polimerasa de ADN ZO5 y ZO5D (microbiana)
- < 0,1% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana)
- 0,09% de azida sódica

1 x 3,5 ml

05902754001-01ES

6

Doc Rev. 1.0

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO


865



**Mn<sup>2+</sup>**  
(Solución de manganeso para CAP/CTM)  
< 0,5% de acetato de manganeso  
Ácido acético glacial  
0,09% de azida sódica

6 x 0,85 ml


**HCV H(+ )C, v2.0**

(Control positivo alto del HCV)  
< 0,001% de constructo de Armored HCV RNA con secuencias de HCV (ARN no infeccioso en bacteriófago MS2)  
Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas para anticuerpos frente al HCV, anticuerpos frente al HIV-1/2, antígeno p24 del HIV y HBsAg; ARN de HIV-1, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR  
0,1% de conservante ProClin<sup>®</sup> 300  
Xi  (3:1) mezcla de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona

Irritante  
R36/38: Irrita los ojos y la piel.  
R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

6 x 0,85 ml


**HCV L(+ )C, v2.0**

(Control positivo bajo del HCV)  
< 0,001% de constructo de Armored HCV RNA con secuencias de HCV (ARN no infeccioso en bacteriófago MS2)  
Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas para anticuerpos frente al HCV, anticuerpos frente al HIV-1/2, antígeno p24 del HIV y HBsAg; ARN de HIV-1, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR  
0,1% de conservante ProClin<sup>®</sup> 300  
Xi  (3:1) mezcla de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona

Irritante  
R36/38: Irrita los ojos y la piel.  
R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

6 x 1,0 ml

**CTM (-) C**


(Control negativo de COBAS<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup> (plasma humano))  
Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas para anticuerpos frente al HCV, anticuerpos frente al HIV-1/2, antígeno p24 del HIV y HBsAg; ARN de HIV-1, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR  
0,1% de conservante ProClin<sup>®</sup> 300  
Xi  (3:1) mezcla de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona

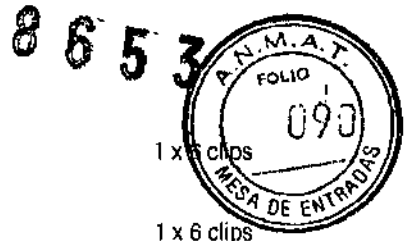
Irritante  
R36/38: Irrita los ojos y la piel.  
R43: Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

05902754001-01ES

7

Doc Rev. 1.0

  
DR. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



**HCV H(+)<sup>2</sup>C, v2.0 Clip**  
(Clip de código de barras para control positivo alto del HCV)

1 x 6 clips

**HCV L(+)<sup>2</sup>C, v2.0 Clip**  
(Clip de código de barras para control positivo bajo del HCV)

1 x 6 clips

**HCV (-) C, v2.0 Clip**  
(Clip de código de barras para control negativo del HCV)

1 x 6 clips

**COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep/COBAS<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup> Wash Reagent**  
Reactivo de lavado COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep/COBAS<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup>  
(P/N: 03587797 190)

**PG WR**

1 x 5,1 l

**PG WR**  
(Reactivo de lavado COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep/COBAS<sup>®</sup> TaqMan<sup>®</sup>)  
Citrato de sodio dihidratado  
< 0,1% de N-metilisotiazolona-HCl

**ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES DEL PROCEDIMIENTO**

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial aplicar una técnica adecuada de laboratorio 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.

- A. PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.
- B. Esta prueba está diseñada para su uso con plasma o suero humano recogido en anticoagulante EDTA.
- C. No pipetee con la boca.
- D. No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio. Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular para manipular las muestras o los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de las pruebas.
- E. Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos cuando extraiga alícuotas de los viales de control.
- F. Se recomienda el uso de pipetas estériles desechables con puntas exentas de ribonucleasa.
- G. No mezcle controles de distintos lotes o de distintos viales de un mismo lote.
- H. No mezcle casetes de reactivos o controles de distintos kits.
- I. No abra los casetes COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep ni cambie, mezcle, retire o añada botellas.
- J. Elimine los reactivos no utilizados así como los desechos y las muestras según las reglamentaciones nacionales, federales, estatales y locales.
- K. No utilice ningún kit con posterioridad a la fecha de caducidad.
- L. Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad del Material (Material Safety Data Sheets, MSDS) en las oficinas locales de Roche.
- M. Las muestras y los controles deben tratarse como si fueran infecciosos, utilizando procedimientos de seguridad de laboratorio como los que se establecen en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>19</sup> y en el documento M29-A3<sup>20</sup> del CLSI. Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% de agua destilada o desionizada.

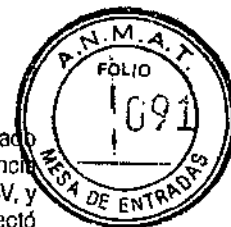
05902754001-01ES

8

Doc Rev. 1.0

**Dr. ERNESTO AY ESPINO**  
PRODUCTOS ROCHE S.A.O. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO





- N. Los controles **CTM (-) C, HCV L(+)**C, v2.0** y **HCV H(+)**C, v2.0**** contienen plasma humano derivado de sangre humana. El material de origen ha sido probado con resultado no reactivo para la presencia de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos frente al HIV-1/2 y al HCV, y antígeno p24 del HIV. En ensayos del plasma humano negativo mediante métodos PCR, no se detectó ARN del HIV-1, ARN del HCV ni ADN del HBV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmitirá agentes infecciosos. Por lo tanto, cualquier material de procedencia humana, como los controles **CTM (-) C, HCV L(+)**C, v2.0** y **HCV H(+)**C, v2.0****, debería considerarse potencialmente infeccioso.****
- O. Los reactivos **EB, QS, Mn<sup>2+</sup>** y **MMX** contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al desechar soluciones que contengan azida sódica por los fregaderos del laboratorio, deje correr grandes cantidades de agua por el desagüe para evitar la acumulación de azidas.
- P. Utilice protección ocular, batas de laboratorio y guantes desechables para manipular cualquier reactivo. 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 se deja sin tratar. Si se derrama alguno de estos reactivos, dilúyalo con agua antes de limpiarlo con un paño.
- Q. No permita que el reactivo **HCV QT v2.0 CS2** ni los residuos líquidos como las cubetas de reacción (SPU) usadas **COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep** del equipo **COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep**, que contienen tiocianato de guanidina, entren en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases muy tóxicos.

#### REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

- A. Almacene los reactivos **HCV QT v2.0 CS1, HCV QT v2.0 CS2, HCV QT v2.0 CS3** y **HCV QT v2.0 CS4** a una temperatura de entre 2 y 8 °C. Si no se utilizan, estos reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez usados, los reactivos permanecen estables durante 70 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o hasta la fecha de caducidad, lo que se produzca primero. Los reactivos **HCV QT v2.0 CS1, HCV QT v2.0 CS2, HCV QT v2.0 CS3** y **HCV QT v2.0 CS4** se pueden utilizar hasta acumular un máximo de 96 horas en el equipo **COBAS<sup>®</sup> AmpliPrep**. Entre ciclos instrumentales, deben almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.
- B. Almacene los controles **HCV H(+)**C, v2.0**, HCV L(+)**C, v2.0** y **CTM (-) C** a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Los controles se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abiertos, deben desecharse las partes sobrantes.**
- C. Almacene los clips de código de barras [**HCV H(+)**C, v2.0** Clip, HCV L(+)**C, v2.0** Clip** y **HCV (-) C, v2.0 Clip**] a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C.
- D. Almacene el reactivo **PG WR** a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C. El **PG WR** no utilizado se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abierto, el reactivo se mantiene estable durante 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C o hasta su fecha de caducidad, lo que se produzca primero.

8 6 5 3



**MATERIALES SUMINISTRADOS**

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative Test, v2.0**

**HCVQTV2**

**HCV QT v2.0 CS1**

(Casete de reactivo de microparticulas magnéticas para HCV)

**HCV QT v2.0 CS2**

(Casete de reactivos de lisis para HCV)

**HCV QT v2.0 CS3**

(Casete de multireactivos para HCV)

**HCV QT v2.0 CS4**

(Casete de reactivo específico para la prueba HCV)

**HCV H(+)<sub>H</sub>C, v2.0**

(Control positivo alto del HCV)

**HCV L(+)<sub>H</sub>C, v2.0**

(Control positivo bajo del HCV)

**CTM (-) C**

(Control negativo de COBAS® TaqMan® (plasma humano))

**HCV H(+)<sub>H</sub>C, v2.0 Clip**

(Clip de código de barras para control positivo alto del HCV)

**HCV L(+)<sub>H</sub>C, v2.0 Clip**

(Clip de código de barras para control positivo bajo del HCV)

**HCV (-) C, v2.0 Clip**

(Clip de código de barras para control negativo del HCV)

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent**

Reactivo de lavado COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®

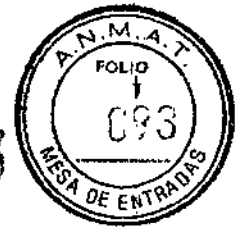
**PG WR**

**PG WR**

(Reactivo de lavado COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®)

## MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

8 6 5 3



### Instrumentos y software

- Equipo COBAS® AmpliPrep
- Analizador COBAS® TaqMan® o analizador COBAS® TaqMan® 48
- Docking Station (opcional)
- Equipo **cobas p** 630 (opcional)
- Programa AMPLILINK, versión 3.3 Series
- Ordenador del programa AMPLILINK, con impresora
- Manuales de equipo y software:
  - Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK versión 3.3 Series para uso con el equipo COBAS® AmpliPrep, el analizador COBAS® TaqMan®, el analizador COBAS® TaqMan® 48, el analizador COBAS® AMPLICOR® y el equipo **cobas p** 630
  - Manual del equipo COBAS® AmpliPrep para uso con el analizador COBAS® TaqMan®, el analizador COBAS® TaqMan® 48, el analizador COBAS® AMPLICOR® o el equipo **cobas p** 630 y el programa AMPLILINK versiones 3.2 y 3.3 Series
  - Manual del equipo del analizador COBAS® TaqMan® (con Docking Station opcional) para uso con el Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK versiones 3.2 y 3.3 Series
  - Manual del equipo del analizador COBAS® TaqMan® 48 para uso con el Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK versiones 3.2 y 3.3 Series
  - Manual de usuario del equipo **cobas p** 630 versión del programa 2.2 (opcional)

### Otros materiales

- Bandeja de muestras (bandeja de 24 tubos)
- Bandeja de reactivos
- Bandeja de SPU
- K-carrier
- Transportador de K-carrier
- Bandeja de K-carrier
- Pipeteadores con puntas exentas de RNasa con filtro para aerosol o desplazamiento positivo (con capacidad de 1.000 µl). La precisión de las pipetas debe estar dentro del 3% del volumen indicado. Para evitar la contaminación cruzada de la muestra y el amplicón, deben usarse puntas exentas de ribonucleasa con filtro para aerosol o desplazamiento positivo.
- Guantes desechables, sin polvo
- Agitador vórtex

### Consumibles

- Cubetas de reacción (SPU)
- Tubo para introducción de muestras (tubos S) con clip de código de barras
- Bandeja de puntas K
- Caja de tubos K, 12 x 96

05902754001-01ES

11

Doc Rev. 1.0

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



## OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

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

### Obtención y almacenamiento de las muestras

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 ha sido concebida para su uso con muestras de suero o plasma conservado en EDTA. La sangre debería recogerse en tubos de separación de suero SST®, en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o en tubos estériles y utilizar EDTA (tapón lavanda) como anticoagulante. Siga las instrucciones del fabricante para la manipulación de tubos de recogida. Las muestras recién obtenidas (sangre total) se pueden almacenar a una temperatura de entre 2 y 25 °C durante un máximo de 24 horas antes de la centrifugación. Después de la centrifugación, transfiera el suero o plasma conservado en EDTA a un tubo de polipropileno estéril. Se recomienda almacenar las muestras en alícuotas de un volumen aproximado de 1.000 µl en tubos de polipropileno estériles de 2,0 ml con tapón de rosca (tales como los microtubos con tapón de rosca de 2 ml de Sarstedt). Las muestras de suero o plasma conservado en EDTA se pueden almacenar:

- A 4 °C durante un máximo de 72 horas
- A -20 °C o -80 °C durante un máximo de 6 semanas

Las muestras de suero y plasma conservado en EDTA se pueden congelar y descongelar hasta cinco veces sin que haya una pérdida del ARN del HCV.

### Transporte de las muestras

El transporte de sangre total, suero o plasma conservado en EDTA debe cumplir las reglamentaciones locales, estatales, federales y nacionales para el transporte de agentes etiológicos<sup>21</sup>. La sangre total debe transportarse a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C y procesarse dentro de las 24 horas siguientes a su extracción. El suero o plasma conservado en EDTA pueden transportarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o congelarse a una temperatura entre -20 y -80 °C.

## INSTRUCCIONES DE USO

Para obtener instrucciones detalladas sobre el funcionamiento, una descripción precisa de las configuraciones posibles, la impresión de los resultados y la interpretación de los avisos, comentarios y mensajes de error, consulte los manuales del programa AMPLILINK versión 3.3 Series, que se muestran en el apartado "Instrumentos y software".

### Tamaño de lotes y flujo de trabajo

Cada kit contiene reactivos suficientes para 72 pruebas, que pueden realizarse en lotes de 12 a 24 pruebas. En cada lote debe incluirse como mínimo uno de cada uno los controles [CTM (-) C, HCV L(+)C, v2.0 y HCV H(+)C, v2.0] (consulte el apartado "Control de calidad"). La serie se debe iniciar en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48 durante los 240 minutos posteriores a la finalización de la preparación de las muestras y los controles. NO CONGELE ni ALMACENE muestras o controles procesados a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.

### Preparación de las muestras y los controles

Si utiliza muestras congeladas, déjelas a temperatura ambiente hasta conseguir su completa descongelación y agítelas durante 3-5 segundos antes de usarlas. Los controles se deben extraer del almacenamiento de 2 a 8 °C, equilibrar hasta que alcancen la temperatura ambiente y agitar durante 3-5 segundos antes de usarlos.

8653



Configuración del equipo COBAS® AmpliPrep

**Parte A. Mantenimiento y cebado**

- A1. El equipo COBAS® AmpliPrep está listo para su funcionamiento en modo Stand-by.
- A2. Encienda el ordenador del programa AMPLILINK. Prepare el ordenador tal y como se indica a continuación:
  - a. Inicie sesión en Windows® XP.
  - b. Haga doble clic sobre el icono del programa AMPLILINK.
  - c. Inicie una sesión en el programa AMPLILINK introduciendo el identificador de usuario y la contraseña asignados.
- A3. Compruebe el suministro de **PG WR** en la pantalla **Status** y repóngalo en caso necesario.
- A4. Lleve a cabo todas las tareas de mantenimiento que aparecen en la pestaña **Due**. El equipo COBAS® AmpliPrep procederá automáticamente al cebado del sistema.

**Parte B. Carga de casetes de reactivos**

**NOTA:** todos los casetes de reactivos se deben extraer de su lugar de almacenamiento a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C para cargarlos inmediatamente en el equipo COBAS® AmpliPrep y dejar que alcancen el equilibrio con la temperatura ambiente en el equipo durante al menos 30 minutos antes de proceder con el procesamiento de la primera muestra. No permita que los casetes de reactivos alcancen la temperatura ambiente fuera del equipo, ya que podría formarse condensación en las etiquetas de código de barras. En caso de aparecer condensación en las etiquetas de código de barras, no trate de eliminarla con un paño.

- B1. Coloque **HCV QT v2.0 CS1** en una bandeja de reactivos. Coloque **HCV QT v2.0 CS2**, **HCV QT v2.0 CS3** y **HCV QT v2.0 CS4** en una bandeja de reactivos distinta.
- B2. Cargue la bandeja de reactivos que contiene **HCV QT v2.0 CS1** en la posición A para bandejas del equipo COBAS® AmpliPrep.
- B3. Cargue la bandeja de reactivos que contiene **HCV QT v2.0 CS2**, **HCV QT v2.0 CS3** y **HCV QT v2.0 CS4** en la posición para bandejas **B, C, D** o **E** del equipo COBAS® AmpliPrep (para obtener información adicional y detallada, consulte los manuales del equipo apropiados).

**Parte C. Carga de consumibles**

**NOTA:** determine el número de casetes de reactivos COBAS® AmpliPrep, cubetas de reacción (SPU), tubos de muestras (tubos S), puntas K y tubos K necesarios. Se necesita una SPU, un tubo S de entrada, una punta K y un tubo K por cada muestra o control.

Hay múltiples configuraciones posibles de uso del equipo COBAS® AmpliPrep con el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48. Según la configuración utilizada, cargue el número apropiado de bandejas de casetes de reactivos, bandejas de muestras con tubos S de entrada, bandejas de SPU, bandejas de puntas K, bandejas de tubos K y K-carrier en las bandejas de K-carrier en las respectivas posiciones de bandeja del equipo COBAS® AmpliPrep.

- C1. Coloque las SPU en las bandejas de SPU y cargue las bandejas en la posición para bandejas **J, K** o **L** del equipo COBAS® AmpliPrep.
- C2. Según la configuración utilizada, cargue las bandejas llenas de tubos K en la posición para bandejas **M, N, O** o **P** del equipo COBAS® AmpliPrep.
- C3. Cargue las bandejas llenas de puntas K en la posición para bandejas **M, N, O** o **P** del equipo COBAS® AmpliPrep.
- C4. Según la configuración utilizada, cargue los K-carrier en las bandejas de K-carrier en la posición para bandejas **M, N, O** o **P** del equipo COBAS® AmpliPrep.

05902754001-01ES

Doc Rev. 1.0

13  
  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROZJE S.A. Q. e. L.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO

8653



#### Parte D. Peticiones y carga de muestras

- D1. Prepare las bandejas de muestras tal y como se indica a continuación: coloque un clip de etiqueta de código de barras en cada posición de la bandeja de muestras donde se vaya a colocar una muestra (en tubo S). Coloque uno de los clips de etiqueta de código de barras específicos para los controles [CTM (-) C, HCV L(+)C, v2.0 y HCV H(+)C, v2.0] en cada posición de la bandeja de muestras donde se vayan a colocar los controles (en tubo S). Los clips de etiqueta de código de barras de los controles deben tener el mismo número de lote de control que los viales de control incluidos en el kit. Preste atención para asignar cada control correctamente en posición con el clip con código de barras apropiado. Coloque un tubo S de entrada en cada posición que contenga un clip de etiqueta de código de barras.
- D2. Con el programa AMPLILINK, cree peticiones de muestra para cada muestra y control de la pestaña **Sample** de la ventana **Orders**. Seleccione el archivo de pruebas adecuado y guarde la información.
- D3. Asigne las peticiones de muestras y controles en las posiciones de bandeja de muestras en la pestaña **Sample Rack** de la ventana **Orders**. El número de bandeja de muestras debe corresponder a la bandeja preparada en el paso D1.
- D4. Imprima el informe **Sample Rack Order** para usarlo como hoja de trabajo.
- D5. Prepare las bandejas de muestras y controles en el área designada para la adición de muestras y controles, tal y como se indica a continuación: someta al agitador vórtex cada una de las muestras y los controles [CTM (-) C, HCV L(+)C, v2.0 y HCV H(+)C, v2.0] durante 3-5 segundos. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y los controles.
- D6. Transfiera 650 µl de cada muestra y control [CTM (-) C, HCV L(+)C, v2.0 y HCV H(+)C, v2.0] al tubo S de entrada con la etiqueta de código de barras apropiada utilizando para ello un micropipeteador con filtro para aerosol o punta exenta de RNasa con desplazamiento positivo. **Evite la transferencia de partículas o coágulos de fibrina que pudieran estar presentes en la muestra original al tubo S de entrada.** Las muestras y los controles se deben transferir a las posiciones de tubo asignadas y registradas en la hoja de trabajo en el paso D4. Los clips de etiqueta de código de barras de los controles deben tener el mismo número de lote de control que los viales de control incluidos en el kit. Asigne cada control correctamente a la posición que tenga el clip con código de barras apropiado. **Evite la contaminación de la parte superior de los tubos S con muestras o controles.**
- D7. Si utiliza el equipo **cobas p 630** para la preparación de muestras, consulte el Manual de usuario del equipo **cobas p 630**.
- D8. Según la configuración utilizada, cargue las bandejas de muestras llenas de tubos S de entrada en las posiciones de bandeja **F, G** o **H** del equipo **COBAS® AmpliPrep**.
- D9. Según la configuración utilizada, cargue las bandejas de muestras con tubos S de entrada o tubos K (uno por cada tubo S de entrada, cargados en la posición derecha adyacente a los tubos S de entrada) en la posición de bandeja **F, G** o **H** del equipo **COBAS® AmpliPrep**.

#### Parte E. Inicio de la serie en el equipo COBAS® AmpliPrep

- E1. Inicie el equipo **COBAS® AmpliPrep** mediante el programa **AMPLILINK**.

#### Parte F. Finalización de la serie en el equipo COBAS® AmpliPrep y transferencia al analizador COBAS® TaqMan® o al analizador COBAS® TaqMan® 48 (sólo para la transferencia manual)

- F1. Compruebe si hay algún aviso o mensaje de error.
- F2. Retire las muestras y los controles procesados del equipo **COBAS® AmpliPrep**, bien en bandejas de muestras (para el analizador **COBAS® TaqMan®** sin **Docking Station**), o en bandejas de K-carrier (para el analizador **COBAS® TaqMan® 48**), en función de la configuración.
- F3. Elimine los residuos del equipo **COBAS® AmpliPrep**.

**NOTA:** no se pueden exponer a la luz las muestras ni los controles procesados tras completarse la preparación de muestras y controles.

05902754001-01ES

Doc Rev. 1.0

14  
 Dr. ERNESTO A. ESPINO  
 PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. I.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO



8653

## Amplificación y detección

Configuración del analizador COBAS® TaqMan® o analizador COBAS® TaqMan® 48

La serie se debe iniciar en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48 durante los 240 minutos posteriores a la finalización de la preparación de las muestras y los controles. NO CONGELE ni ALMACENE muestras o controles procesados a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.

### Parte G. Carga de muestras procesadas

- G1. Según la configuración del equipo, lleve a cabo los pasos apropiados para transferir los tubos K al analizador COBAS® TaqMan® o al analizador COBAS® TaqMan® 48.

### Parte H. Inicio de la serie en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48

- H1. Inicie el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 según la configuración utilizada.

### Parte I. Finalización de la serie en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48

- I1. Una vez completada la serie en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48, imprima el informe de resultados. Compruebe si hay algún aviso o mensaje de error en el informe de resultados. Los resultados obtenidos para muestras con avisos y comentarios se interpretarán tal como se describe en el apartado "Resultados". Una vez aceptados los datos, guárdelos en un archivo.
- I2. Retire los tubos K usados del analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48.

## CONTROL DE CALIDAD

En cada lote de pruebas debe incluirse un control negativo de COBAS® TaqMan®, un control positivo bajo de HCV y un control positivo alto de HCV. El lote se considera válido cuando no aparecen avisos para ninguno de los controles [HCV L(+)C, v2.0, HCV H(+)C, v2.0 y CTM (-) C].

No hay requisitos relacionados con la posición de los controles en la bandeja de muestras.

Compruebe la impresión de avisos y comentarios del lote para asegurarse de que el lote es válido.

### Control negativo

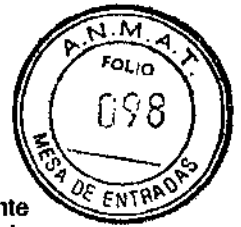
El control **CTM (-) C** debe dar un resultado "Target Not Detected". Si el resultado obtenido para **CTM (-) C** está marcado como no válido, se considerará no válida la totalidad del lote. Repita todo el proceso (preparación, amplificación y detección de muestras y controles). Si el resultado obtenido para **CTM (-) C** es repetidamente no válido en múltiples lotes, póngase en contacto con su oficina local de Roche para recibir asistencia técnica.

### Controles positivos

El intervalo asignado para **HCV L(+)C, v2.0** y **HCV H(+)C, v2.0** es específico para cada reactivo y se suministra en los códigos de barras de los casetes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0.

Las UI/ml del ARN del HCV para **HCV L(+)C, v2.0** y **HCV H(+)C, v2.0** deben estar dentro de los intervalos asignados. Si uno o ambos controles positivos tienen el aviso de no válido, todo el lote será no válido. Repita todo el proceso (preparación, amplificación y detección de muestras y controles). Si el título de ARN del HCV de uno o ambos controles positivos está repetidamente fuera de los intervalos asignados en varios lotes, póngase en contacto con su oficina local de Roche para obtener asistencia técnica.

8653



## RESULTADOS

El analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 determina automáticamente la concentración de ARN del HCV presente en las muestras y los controles. La concentración de ARN del HCV se expresa en unidades internacionales (UI)/ml.

### El programa AMPLILINK:

- Determina el valor de Ct para el ARN del HCV y el ARN del QS del HCV.
- Determina la concentración de ARN del HCV según los valores de Ct calculados para el ARN del HCV y el ARN del QS del HCV y los coeficientes de calibración específicos del lote incluidos en los códigos de barras de los casetes.
- Determina que las UI/ml calculadas para **HCV L(+)<sub>C</sub>, v2.0** y **HCV H(+)<sub>C</sub>, v2.0** se encuentran dentro de los intervalos asignados.

### Validación de lotes:

Compruebe los posibles avisos y comentarios en la ventana de resultados del programa AMPLILINK o la impresión de resultados para asegurarse de que el lote es válido.

Para peticiones de controles, se realiza una comprobación para determinar si el valor de UI/ml correspondiente al control está dentro del intervalo especificado. Si el valor de UI/ml correspondiente al control está fuera del intervalo asignado, se genera un aviso para indicar que el control no ha superado la prueba.

El lote se considera válido cuando no aparecen avisos para ninguno de los controles [**HCV L(+)<sub>C</sub>, v2.0**, **HCV H(+)<sub>C</sub>, v2.0** y **CTM (-) C**].

El lote no es válido si aparece cualquiera de los avisos siguientes para los controles del HCV:

### Control negativo:

Aviso	Resultado	Interpretación
NC_INVALID	Invalid	Un resultado no válido o el resultado del título calculado para el control negativo no es negativo, es decir, no se genera el resultado "Target Not Detected".

### Control positivo bajo del HCV:

Aviso	Resultado	Interpretación
LPCINVALID	Invalid	Un resultado no válido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.

### Control positivo alto del HCV:

Aviso	Resultado	Interpretación
HPCINVALID	Invalid	Un resultado no válido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

Si el lote no es válido, repita todo el lote incluyendo los pasos de preparación, transcripción reversa, amplificación y detección de las muestras y los controles.

05902754001-01ES

16

Doc Rev. 1.0

  
 DR. ERNESTO A. ESPINO  
 PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.I.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO



8653



### Interpretación de los resultados:

Para lotes válidos, compruebe los posibles avisos o comentarios asociados a cada muestra en la impresión de los resultados.

⇒ Un lote válido puede incluir resultados de muestras tanto válidos como no válidos según los avisos y/o comentarios asociados con cada una de las muestras.

Los resultados de las muestras se interpretan como se indica a continuación:

Resultado	Interpretación
Target Not Detected	El valor de Ct para el HCV está por encima del límite para el ensayo o no se ha obtenido un valor de Ct para el HCV. Comuníquese el resultado como "ARN del HCV no detectado".
$< 1.50E+01$ IU/mL	Las UI/ml calculadas están por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) del ensayo. Comuníquese el resultado como "ARN del HCV detectado, menos de 15 UI/ml de ARN del HCV".
$\geq 1.50E+01$ IU/mL y $\leq 1.00E+08$ IU/mL	Los resultados calculados superiores o iguales a 15 UI/ml e inferiores o iguales a 1,00E+08 UI/ml se encuentran dentro del intervalo lineal del ensayo. Comuníquese el resultado como "XX UI/ml de ARN del HCV detectado".
$> 1.00E+08$ IU/mL	Los resultados calculados están por encima del intervalo lineal del ensayo. Comuníquese el resultado como "más de 1,00E+08 UI/ml de ARN del HCV". Si desea obtener resultados cuantitativos, diluya la muestra original con plasma conservado en EDTA o suero humano negativo para el HCV (según la matriz de la muestra original) y repita la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

Si el elemento que aparece como resultado de la muestra es "Failed", "Invalid" o "Aborted", consulte el Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK versión 3.3 Series, que se muestra en el apartado "Materiales necesarios no suministrados".

**NOTA:** *Las muestras cuya concentración esté por encima del intervalo del ensayo pueden producir también un resultado no válido con el aviso "QS INVALID". Si desea obtener resultados cuantitativos, diluya la muestra original con plasma conservado en EDTA o suero humano negativo para el HCV (según la matriz de la muestra original) y repita la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.*

### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con suero o plasma humano recogido en anticoagulante EDTA. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico cubiertas por los cebadores y/o las sondas de la prueba pueden causar una cuantificación a la baja del virus o incluso impedir su detección.
- La cuantificación del ARN del HCV depende del número de partículas víricas presentes en la muestra 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.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de obtención, transporte y almacenamiento de las muestras, así como su procesamiento, sean adecuados.
- La presencia de la enzima AmpErase en la mezcla maestra de COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV reduce el riesgo de contaminación del amplión. No obstante, la contaminación procedente de controles y muestras clínicas positivas para HCV sólo puede evitarse mediante la utilización de buenas prácticas de laboratorio y la estricta adhesión a los procedimientos especificados en este prospecto.

05902754001-01ES

17

Doc Rev. 1.0

Dr. ERNESTO H. ESPINO  
 PRODUCTOS RODRÍGUEZ S.A.Q. e I.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO

8653



6. El uso de este producto debe limitarse al personal con formación en el funcionamiento del equipo **cobas p 630** (opcional), el equipo **COBAS® AmpliPrep** y el analizador **COBAS® TaqMan®** o el analizador **COBAS® TaqMan® 48**. El usuario debe contar con un conocimiento avanzado de las aplicaciones que se ejecutan en los equipos y debe seguir buenas prácticas de laboratorio.
7. Este producto sólo se puede utilizar con el equipo **cobas p 630** (opcional), el equipo **COBAS® AmpliPrep** y el analizador **COBAS® TaqMan®** o el analizador **COBAS® TaqMan® 48**.
8. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que, antes de cambiar de una a otra, realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas.

### SUSTANCIAS INTERFERENTES

Los niveles elevados de triglicéridos (3.300 mg/dl), la bilirrubina conjugada (25 mg/dl) y la bilirrubina no conjugada (20 mg/dl), la albúmina (6.000 mg/dl), la hemoglobina (200 mg/dl) y el ADN humano (40 mg/dl) en las muestras, así como la presencia de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) o anticuerpos antinucleares (ANA) no interfieren en la determinación cuantitativa del ARN del HCV de la prueba **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0**.

Los siguientes compuestos farmacológicos analizados al nivel de plasma máximo ( $C_{max}$ ) y a 3 veces el  $C_{max}$  no interfieren en la determinación cuantitativa del ARN del HCV de la prueba **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0**:

<b>Inhibidores de la transcriptasa inversa y de la polimerasa de ADN análogos a los nucleótidos</b> Tenofovir Adefovir dipivoxil	<b>Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos</b> Efavirenz Nevirapina
<b>Inhibidores de la proteasa del HIV</b> Atazanavir Saquinavir Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavir Darunavir Tipranavir Fosamprenavir	<b>Inhibidores de la transcriptasa inversa nucleósidos</b> Lamivudina Zidovudina Estavudina Abacavir Didanosina Emtricitabina Entecavir Telbivudina
<b>Inhibidor de fusión del HIV</b> Enfuvirtide	<b>Inhibidor de la entrada del HIV</b> Maraviroc
<b>Compuestos para el tratamiento de los virus del herpes</b> Ganciclovir Valganciclovir Aciclovir	<b>Modulador del sistema inmunológico</b> Peginterferón alfa-2b Ribavirina Peginterferón alfa-2a
<b>Inhibidor de la integrasa del HIV</b> Raltegravir	

05902754001-01ES

Doc Rev. 1.0

  
 Dr. ERNESTO A. ESPINO  
 PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO

8 6 5 3



## EVALUACIÓN NO CLÍNICA DEL RENDIMIENTO

### A. Límite de detección

El límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar internacional de la OMS para ARN del virus de la hepatitis C para ensayos realizados mediante la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos, genotipo 1a, obtenido del NIBSC, en suero o plasma conservado en EDTA humano negativo para el HCV. Para cada matriz se analizaron tres series de dilución independientes. En cuanto a las réplicas por nivel de concentración, se analizó un total de hasta 252 réplicas por cada tipo de matriz. El estudio se llevó a cabo con tres lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0.

Los resultados del suero y el plasma conservado en EDTA se muestran en las tablas 1 y 2 y demuestran que la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 detectó el ARN del HCV a concentraciones de 15 UI/ml o superiores con una tasa de resultados positivos superior al  $\geq 95\%$ . La diferencia entre el suero y el plasma conservado en EDTA no fue estadísticamente significativa.

**Tabla 1**

**Límite de detección en el plasma conservado en EDTA determinado con el estándar internacional de la OMS para ARN del virus de la hepatitis C para ensayos realizados mediante la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos**

Título de entrada (ARN del HCV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50	251	251	100
25	251	250	100
15	251	246	98
10	252	236	94
5	252	180	71
2,5	251	121	48
0	250	0	0
LOD según PROBIT con tasa de resultados positivos del 95%	11 UI/ml intervalo de confianza del 95%: 10 – 13 UI/ml)		
LOD según tasa de resultados positivos	15 UI/ml		

0653



**Tabla 2**  
**Límite de detección en el suero determinado con el estándar internacional de la OMS para ARN del virus de la hepatitis C para ensayos realizados mediante la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos**

Título de entrada (ARN del HCV en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50	188	188	100
25	189	188	99
15	189	185	98
10	189	172	91
5	189	140	74
2,5	189	92	49
0	189	0	0
<b>LOD según PROBIT con tasa de resultados positivos del 95%</b>	<b>12 UI/ml</b> Intervalo de confianza del 95%: 10 – 14 UI/ml)		
<b>LOD según tasa de resultados positivos</b>	<b>15 UI/ml</b>		

**B. Precisión**

La precisión de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de muestras clínicas del HCV (genotipo 1a) o de Armored HCV RNA (aRNA) en suero o plasma conservado en EDTA humano negativo para el HCV.

Se analizaron seis niveles de dilución en 3 réplicas por nivel en 12 series en el plazo de 4 días. Cada muestra se sometió a todo el procedimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0, incluida la preparación de la muestra, la amplificación y la detección. El estudio se llevó a cabo con tres lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0, y los resultados se muestran en la Tabla 3.

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 muestra una buena precisión para tres lotes de reactivos en un intervalo de concentración de 3,0E+02 UI/ml a 1,0E+08 UI/ml.

**Tabla 3**  
**Precisión de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 (muestras de suero o plasma conservado en EDTA)\***

Concentración nominal [UI/ml]	Precisión como SD total [Log <sub>10</sub> ]					
	Plasma conservado en EDTA			Suero		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3
3,0E+02	0,22	0,07	0,09	0,07	0,05	0,09
3,0E+03	0,15	0,07	0,07	0,06	0,06	0,06
3,0E+04	0,06	0,05	0,07	0,05	0,07	0,08
3,0E+05	0,08	0,07	0,08	0,05	0,05	0,04
3,0E+06	0,14	0,04	0,07	0,11	0,06	0,07
1,0E+08	0,07	0,05	0,11	0,07	0,06	0,08

\* Se considera que los datos de título cuentan con una distribución de log normal y se analizan según la transformación de Log<sub>10</sub>. Las columnas de la 2 a la 7 presentan la desviación estándar (SD) total del título de log transformado para cada uno de los tres lotes de reactivos.

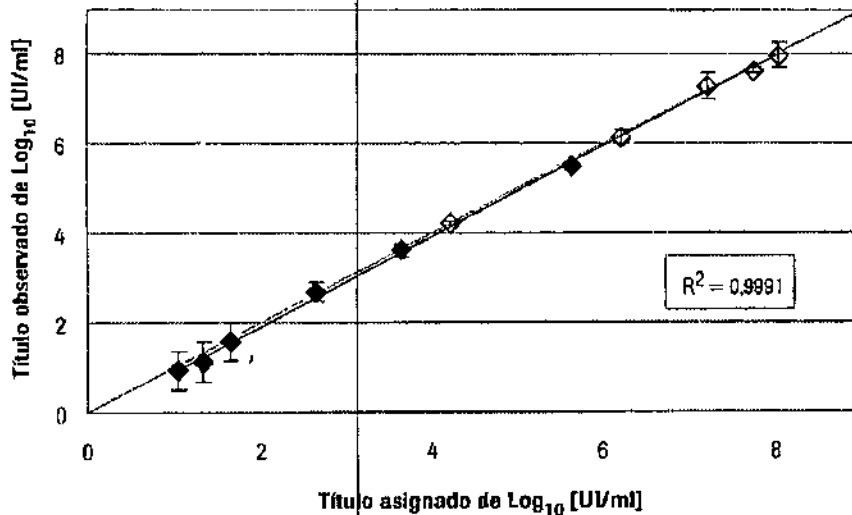
*[Signature]*  
 Dr. ERNESTO A. ESPINO  
 PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e I.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO

### C. Intervalo lineal

Se utilizaron dos paneles lineales para evaluar el intervalo lineal de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0. Estos paneles consistían en diluciones de una muestra clínica positiva para ARN del HCV para la parte inferior y media del intervalo dinámico (hasta  $3,0E+05$  UI/ml) y aRNA para el extremo superior del intervalo dinámico (hasta  $2,0E+08$  UI/ml) tanto en suero como en plasma conservado en EDTA. El estudio se realizó con dos lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0, según los métodos definidos en la directriz CLSI EP6-A<sup>22</sup>. Se analizaron los 11 miembros del panel del plasma conservado en EDTA y los 14 miembros del panel del suero en hasta 16 réplicas por nivel de concentración, matriz y lote de reactivos.

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 es lineal de 15 UI/ml de ARN del HCV a al menos  $1,0E+08$  UI/ml de ARN del HCV utilizando una desviación absoluta aceptable de la linealidad de  $\pm 0,2 \log_{10}$  (para obtener resultados representativos, consulte las ilustraciones 1 y 2). En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba se encuentran dentro de  $\pm 0,2 \log_{10}$ .

**Ilustración 1**  
**Determinación del intervalo lineal de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 en muestras de plasma conservado en EDTA**

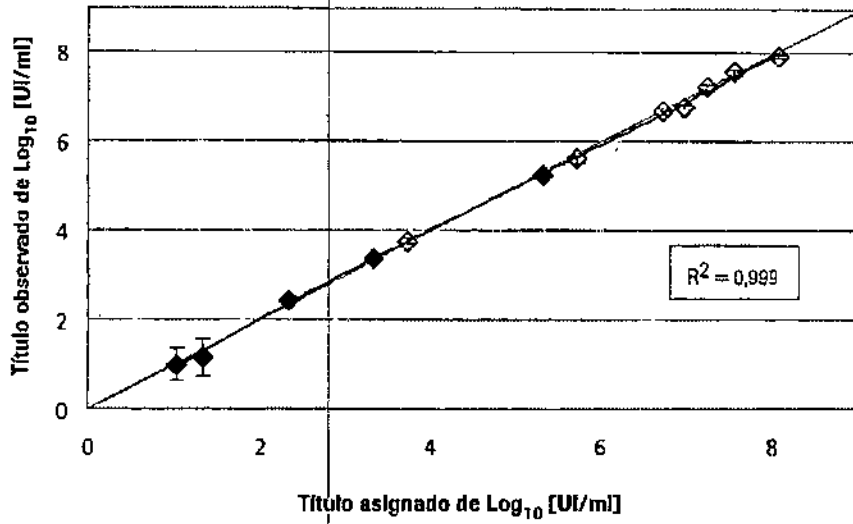


El gráfico de regresión muestra los promedios de los resultados de muestras observados para las muestras clínicas (rombo coloreado) y las muestras de aRNA (rombo en blanco) en relación con el título de  $\log_{10}$  asignado. La línea de regresión (en negrita; de 11 a  $1,1E+08$  UI/ml) se muestra junto con la línea de unidad (gris) para visualizar el comportamiento lineal de la prueba. La desviación estándar del título de  $\log_{10}$  se muestra en forma de barras de error, y se presenta  $R^2$ .

8653



**Ilustración 2**  
**Determinación del intervalo lineal de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV**  
**Quantitative v2.0 en muestras de suero**



El gráfico de regresión muestra los promedios de los resultados de muestras observados para las muestras clínicas (rombo coloreado) y las muestras de aRNA (rombo en blanco) en relación con el título de Log<sub>10</sub> asignado. La línea de regresión (negra; de 11 a 1,2E+08 UI/ml) se muestra junto con la línea de unidad (gris) para visualizar el comportamiento lineal de la prueba. La desviación estándar de los títulos de Log<sub>10</sub> se muestra en forma de barras de error, y se presenta R<sup>2</sup>.

8653



#### D. Inclusividad

El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 en los genotipos del HCV se evaluó mediante (i) la verificación del límite de detección de los genotipos 1 a 6 y (ii) la verificación del intervalo lineal de los genotipos 1 a 6.

##### Verificación del límite de detección de los genotipos 1 a 6

Se diluyeron muestras clínicas de ARN del HCV de 8 genotipos/subtipos diferentes (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 y 6) a tres niveles de concentración diferentes en suero o plasma conservado en EDTA y se determinó la tasa de resultados positivos para cada nivel con hasta 70 réplicas. El estudio se realizó con un lote de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0.

Los resultados del suero y el plasma conservado en EDTA se muestran en las tablas 4 y 5 y verifican que la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 detectó el ARN del HCV de 8 genotipos/subtipos diferentes a concentraciones de 15 UI/ml o superiores con una tasa de resultados positivos superior al ≥ 95%. La diferencia entre el suero y el plasma conservado en EDTA no fue estadísticamente significativa.

Tabla 4

##### Verificación del genotipo del ARN del HCV del límite de detección en plasma conservado en EDTA

Genotipo	5 UI/ml			15 UI/ml			45 UI/ml		
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
1a	63	44	70	63	63	100	63	63	100
1b	63	47	75	63	62	98	63	63	100
2a	63	43	68	63	61	97	62	61	98
2b	62	57	92	62	62	100	62	62	100
3	62	58	94	63	63	100	62	62	100
4	63	43	68	63	62	98	63	63	100
5	63	47	75	62	62	100	62	62	100
6	63	55	87	63	62	98	63	63	100

Tabla 5

##### Verificación del genotipo del ARN del HCV del límite de detección en suero

Genotipo	5 UI/ml			15 UI/ml			45 UI/ml		
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
1a	63	45	71	62	62	100	63	63	100
1b	62	48	77	63	63	100	63	63	100
2a	63	47	75	61	60	98	63	63	100
2b	63	42	67	63	61	97	63	63	100
3	63	58	92	63	63	100	63	63	100
4	63	41	65	63	62	98	63	63	100
5	62	46	74	61	60	98	62	62	100
6	70	58	83	70	69	99	69	69	100

05902754001-01ES

Doc Rev. 1.0

23  
 Dr. ERNESTO ESPINO  
 PRODUCTOS BACHE S.A.Q. s.l.  
 DIVISION DIAGNOSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO



### Verificación del intervalo lineal de los genotipos de 1 a 6

Se analizaron muestras clínicas del HCV de 8 genotipos/subtipos diferentes (1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4, 5 y 6) en hasta 22 niveles de concentración. Estos paneles consistían en diluciones de muestras clínicas de genotipos positivas para ARN del HCV para la parte inferior y media del intervalo dinámico y aRNA específico del genotipo para el extremo superior del intervalo dinámico (genotipos 1a, 1b, 3 y 4 hasta el límite superior de cuantificación) o el intervalo dinámico completo (genotipos 2a, 2b, 5 y 6) en plasma conservado en EDTA. El estudio se llevó a cabo con un lote de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0. Se analizaron los 22 miembros del panel en hasta 15 réplicas.

El intervalo lineal de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se verificó con los genotipos 1 a 6 del HCV de 13 UI/ml de ARN del HCV a al menos 1,4E+08 UI/ml de ARN del HCV utilizando una desviación absoluta aceptable de la linealidad de +/- 0,2 log<sub>10</sub>.

### E. Sensibilidad diagnóstica

La sensibilidad diagnóstica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se determinó mediante el análisis de muestras individuales de plasma conservado en EDTA o suero positivas para ARN del HCV (488 resultados totales) con dos lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0. Todas las muestras dieron positivo para ARN del HCV. En este panel, la sensibilidad diagnóstica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 es del 100% (nivel inferior unilateral del intervalo de confianza al 95%: ≥ 99,4%).

### F. Especificidad

La especificidad de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se determinó mediante el análisis de muestras de suero o plasma conservado en EDTA de ARN del HCV seronegativas de donantes de sangre. Se analizaron muestras de suero y plasma conservado en EDTA individuales (600 resultados totales) con dos lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0. Todas las muestras dieron negativo para ARN del HCV. En este panel, la especificidad de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 es del 100% (nivel inferior unilateral del intervalo de confianza al 95%: ≥ 99,5%).

### G. Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se evaluó diluyendo cultivos de títulos elevados de distintos patógenos (consulte la Tabla 6) con muestras clínicas de plasma conservado en EDTA positivas para ARN del HCV y negativas para ARN del HCV. Ninguno de los patógenos sin presencia del HCV interfirió con el rendimiento de la prueba o mostró un resultado de falso positivo en la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0.

**Tabla 6**  
**Muestras de especificidad analítica**

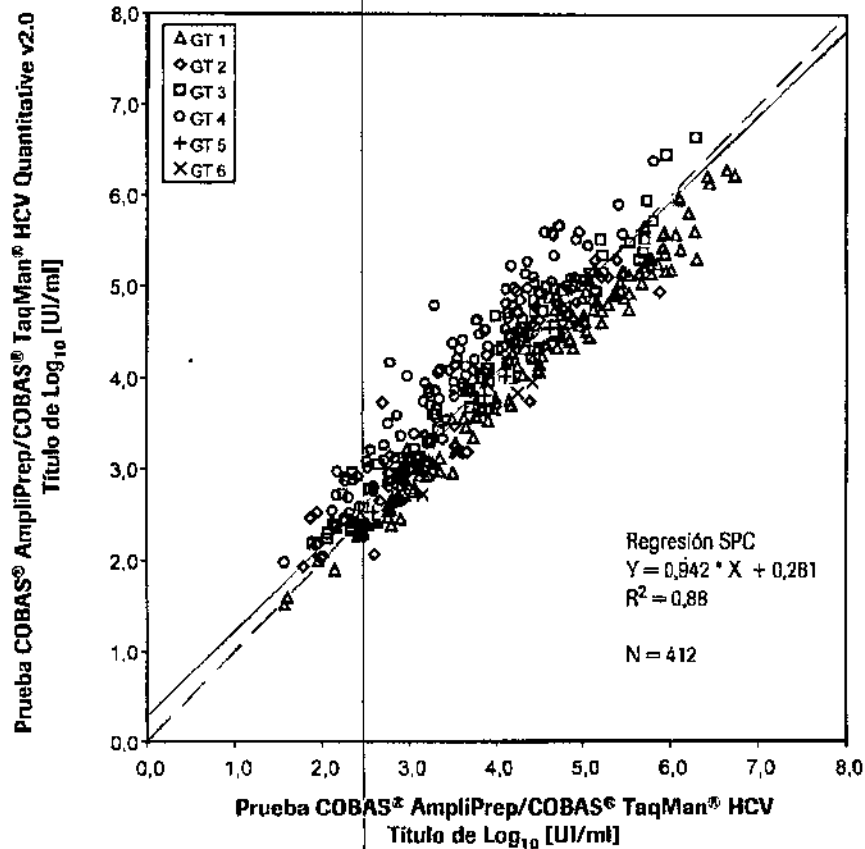
<b>Flavivirus sin presencia del HCV</b> Virus del Nilo Occidental Virus de la encefalitis de St. Louis Virus de la encefalitis del Valle Murray Virus del dengue tipos 1, 2, 3 y 4 Virus de la fiebre amarilla Virus Zika Virus FSME (cepa HYPR)	<b>Virus</b> Adenovirus tipo 5 Citomegalovirus Virus Epstein-Barr Virus de la hepatitis B Virus de la hepatitis A HIV-1 Virus linfotrópico de células T humanas tipos 1 y 2 Virus del herpes humano tipo 6 Virus del herpes simple tipos 1 y 2 Virus de la gripe A Virus del papiloma humano Virus de la varicela zóster
<b>Bacterias</b> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
<b>Levadura</b> <i>Candida albicans</i>	



#### H. Rendimiento comparado con el de la prueba COBAS® AmpliPrep / COBAS® TaqMan® HCV

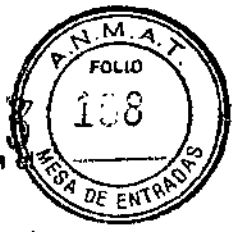
El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se comparó con el de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA de pacientes infectados por el HCV (diluidas y sin diluir). Un total de 412 muestras de suero y plasma conservado en EDTA de todos los genotipos, analizadas por duplicado, resultaron válidas y se mostraron dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizaron la regresión de Deming y el análisis de Bland Altman. Los resultados de la regresión de Deming se muestran en la Ilustración 3.

**Ilustración 3**  
**Correlación de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0**  
**y la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV**  
 (GT=Genotipo)



Se realizó el análisis de la regresión de Deming. El valor de raíz cuadrada fue de 0,88 para todas las muestras y de 0,94 si se excluían del análisis las muestras del genotipo 4. Tras el análisis de Bland-Altman, la correlación mostraba una diferencia media de título de  $\text{Log}_{10}$  de 0,1 (todas las muestras analizadas) o de -0,1 (muestras del genotipo 4 excluidas), respectivamente.

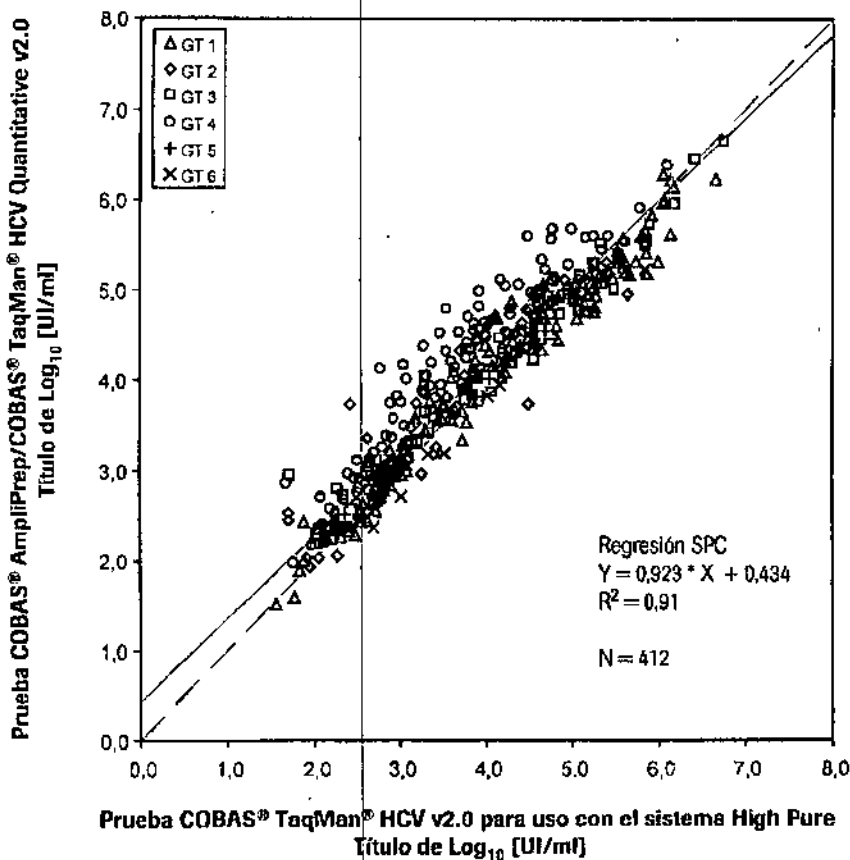
865



I. Rendimiento comparado con el de la prueba COBAS® TaqMan® HCV v2.0 para uso con sistema High Pure

El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 se comparó con el de la prueba COBAS® TaqMan® HCV v2.0 para uso con el sistema High Pure mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA de pacientes infectados por el HCV. Un total de 412 muestras de suero y plasma conservado en EDTA de todos los genotipos, analizadas por duplicado, resultaron válidas y se mostraron dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizaron la regresión de Deming y el análisis de Bland Altman. Los resultados de la regresión de Deming se muestran en la Ilustración 4.

**Ilustración 4**  
**Correlación de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative v2.0 y la prueba COBAS® TaqMan® HCV v2.0 para uso con el sistema High Pure**  
(GT=Genotipo)



Se realizó el análisis de la regresión de Deming y el valor de raíz cuadrada fue 0,91. Tras el análisis de Bland-Altman, la correlación mostró una diferencia media de título de Log<sub>10</sub> de 0,1.

8653



## BIBLIOGRAFÍA

1. Choo Q-L, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW and Houghton M. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis viral genome. *Science* **244**:359-362.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP et al. 2006. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med* **144**:705-714.
3. Rustgi VK. 2007. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol* **42**:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. 2001. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **345**:41-52.
5. Caruntu FA, Benea L. 2006. Acute hepatitis C virus infection: Diagnosis pathogenesis, treatment. *JGLD* **15**:249-256.
6. Mc Hutchison JG, Gordon SC, Schiff ER et al. 1998. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med* **339**:1485-1492.
7. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V et al. 1998. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. *N Engl J Med* **339**:1493-1499.
8. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC et al. 2001. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomized trial. *Lancet* **358**:958-965.
9. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR et al. 2002. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **347**:975-982.
10. Hadziyannis SJ, Sette H Jr., Morgan TR et al. 2004. Peginterferon-[alpha] 2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* **140**:346-355.
11. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL et al. 2009. Diagnosis management and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology* **49**:1335-1374.
12. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C. 2002. **19**:1-46.
13. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. 1999. *Hepatology* **30**:956-961.
14. Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P et al. 2006. Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology* **43**:954-960.
15. Poordad F, McCone J Jr., Bacon BR et al. 2011. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* **364**:1195-1206.
16. Jacobson IM, McHutchinson JG, Dusheiko G et al. 2011. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* **364**:2405-2416.
17. Bukh J, Purcell RH and Miller RH. 1992. Sequence analysis of the 5' noncoding region of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* **89**:4942-4946.
18. Longo MC, Berninger MS and Hartley JL. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
19. U.S. Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5<sup>th</sup> Edition, HHS Publication No. (CDC) 21-1112; December 2009.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline - 3<sup>rd</sup> Edition. CLSI Document M29-A3. CLSI: Wayne, PA 2005.

05902754001-01ES

Doc Rev. 1.0

  
 Dr. ERNESTO A. ESPINO  
 PRODUCTOS ROCHÉ S.A. Q. G. I.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO

8653



21. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 49th Edition. 2008.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI Document EP6-A. CLSI: Wayne, PA 2002.
23. Saldanha, J., Heath, A., Aberham, C., Albrecht, J., Gentili, G., Gessner, M. and Pisani, G. 2005. World Health Organization collaborative study to establish a replacement WHO international standard for hepatitis C virus RNA nucleic acid amplification technology assays. Vox Sanguinis 88:202-204.

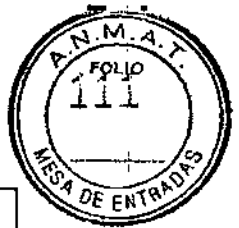
05902754001-01ES

28

Doc Rev. 1.0

  
Dr. ERNESTO A. ESPINO  
PRODUCTOS ROCHES S.A.Q. e I.  
DIVISION DIAGNOSTICA  
DIRECTOR TECNICO

8653



Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 09/2011	Primera publicación.



Fabricado en Suiza para:  
Roche Molecular Systems, Inc., Branchburg, NJ 08876 EE.UU.  
Un miembro del Grupo Roche



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG  
Industriestrasse 7  
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Vercors  
38240 Meylan, France

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Straße 116  
68305 Mannheim, Germany

Distributore in Italia:  
Roche Diagnostics S.p.A.  
Viale G. B. Stucchi 110  
20052 Monza, Milano, Italy

Roche Diagnostics, SL  
Avda. Generalitat, 171-173  
E-08174 Sant Cugat del Vallès  
Barcelona, Spain

Distribuidor em Portugal:  
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.  
Estrada Nacional, 249-1  
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostics  
201, boulevard Armand-Frappier  
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada  
(For Technical Assistance call:  
Pour toute assistance technique,  
appeler le: 1-877 273-3433)

Roche Diagnostica Brasil Ltda.  
Av. Engenheiro Billings, 1729  
Jaguare, Building 10  
05321-010 São Paulo, SP Brazil

ROCHE, AMPERASE, AMPLICOR, AMPLILINK, AMPLIPREP, COBAS, COBAS P, TAQMAN, ZO5 y HIGH PURE son marcas comerciales de Roche.

ARMORED RNA es una tecnología patentada desarrollada por Ambion, Inc. y Cenetron Diagnostics LLC. Patentes de EE.UU. nº 5.677.124, nº 5.919.625 y nº 5.939.262 y más patentes pendientes. ARMORED RNA es una marca comercial de Ambion y Cenetron.

MICROSOFT y WINDOWS XP son marcas comerciales de Microsoft Corporation.

PROCLIN es una marca comercial de Rohm and Haas Company.

SST es una marca comercial de Becton Dickinson and Co.

©2011 Roche Molecular Systems, Inc. Todos los derechos reservados.

09/2011  
Doc Rev. 1.0

05902754001-01



Roche Diagnostics GmbH  
D-68298 Mannheim



05902754001-01ES

29

Doc Rev. 1.0

  
Dr. ERNESTO ESPINO  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISION DIAGNOSTICA  
DIRECTOR TÉCNICO



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

- |  |  |  |  |
|--|--|--|--|
|  | Programa auxiliar                      |  | Denominación de lote   |
|  | Representante autorizado               |  | Riesgo biológico (Material biológico potencialmente peligroso) |
|  | Hoja de datos del código de barras     |  | Número de catálogo   |
|  | Consultar las instrucciones de uso     |  | Para evaluación del rendimiento MD únicamente                  |
|  | Suficiente para < n > pruebas          |  | Límite inferior del intervalo asignado                         |
|  | Contenido del kit                      |  | Elaborado por  |
|  | Distribuido por                        |  | Almacenar en la oscuridad                                      |
|  | De uso diagnóstico <i>in vitro</i>     |  | Temperatura límite (Conservar a)                               |
|  | Archivo de definición de pruebas       |  | Estable hasta (ultimo día del mes)                             |
|  | Límite superior del intervalo asignado |  |  |



El presente producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79 CE de productos sanitarios para el diagnóstico *in vitro*.

Servicio técnico para clientes de EE.UU.: 1-800-428-2336

05902754001-01

30  
 Dr. ERNESTO A. ESPINO  
 PRODUCTOS ROCHE S.A. S. de C.V.  
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
 DIRECTOR TÉCNICO



Ministerio de Salud  
Secretaría de Políticas, Regulación  
e Institutos  
A.N. M. A.T

CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN DE VENTA DE  
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO

Expediente nº 1-47-7714/13-1

Se autoriza a la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado COBAS® AmpliPrep/COBAS®Taqman HCV Quantitative Test, V 2.0 (CAT Nº: 5532264) / Prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la determinación cuantitativa de los genotipos 1 al 6 del ARN del virus de la hepatitis C (HCV) en suero o plasma humano; mediante el equipo COBAS® AmpliPrep para el procesamiento automatizado de muestras y el analizador COBAS® Taqman® para la amplificación y la detección. Envases conteniendo: cassette de reactivos de micropartículas magnéticas para HCV (HCV QT v2.0 CS1) para 72 determinaciones, cassette de reactivos de lisis para HCV (HCV QT v2.0 CS2) para 72 determinaciones, cassette de multireactivos para HCV (HCV QT v2.0 CS3) para 72 determinaciones, cassette específico para la prueba de HCV (HCV QT v2.0 CS4) para 72 determinaciones, control positivo alto del HCV (HCV H(+))C, v2.0: 6 X 0,85ml), control positivo bajo del HCV (HCV L(+))C, v2.0: 6 X 0,85ml), Control negativo de COBAS®TaqMan (CTM(-)) C: 6 x 1ml), Clip de código de barras para control positivo alto de HCV (HCV H(+)) C, v2.0 Clip: 6), Clip de código de barras para control positivo bajo de HCV (HCV L(+)) C, v2.0 Clip: 6), y Clip de código de barras para control Negativo de HCV (HCV (-)) C, v2.0 Clip: 6). Vida útil: DIECIOCHO (18) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley Nº 16.463

*[Handwritten mark]*

*[Handwritten mark]*

*[Handwritten mark]*

y Resolución Ministerial Nº 145/98. Lugar de elaboración: Roche Diagnostics International Ltd. Forrenstrasse 2, 6343 Rotkreuz (SUIZA) para Roche Molecular Systems Inc. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA). En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA. Certificado

nº **008119**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA

Buenos Aires, **22 DIC 2014**

*Handwritten initials*

*Handwritten signature*  
**Ing. ROGELIO LOPEZ**  
Administrador Nacional  
A.N.M.A.T.

Firma y sello

*Handwritten mark*

*Handwritten mark*