República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Disposición

Número: DI-2020-6123-APN-ANMAT#MS

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Miércoles 19 de Agosto de 2020

Referencia: 1-47-3110-2086/19-9

VISTO el expediente Nº 1-47-3110-2086/19-9 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Medica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) solicita la modificación del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominado: **cobas® HIV-1 (Cat. Nº 08792992190).**

Que lo solicitado se encuadra dentro de los alcances de la Disposición ANMAT Nº 2674/99 y la documentación aportada ha satisfecho los requisitos de la normativa aplicable.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que se autoriza la modificación solicitada, debiendo comunicar por nota al Instituto nacional de productos médicos, la importación del primer lote del producto con el objetivo de que ANMAT proceda a la verificación y fiscalización de la nueva indicación de uso (cuantificación del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1) procedente de una muestra de plasma seco, cobas® Plasma Separation Card (PSC), así como para la detección cualitativa del VIH-1 en muestras de sangre seca de personas con VIH-1, incluidos bebés de madres con VIH-1) para la liberación del primer lote en el país, quedando su comercialización sujeta a los resultados de las mismas.

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

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto Nº 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE

MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorizase la modificación en el uso previsto del producto **cobas® HIV-1 (Cat. Nº 08792992190)** de acuerdo con los Datos Característicos que figuran al pie de la presente.

ARTÍCULO 2º.- Practíquese la atestación correspondiente del Certificado de Inscripción Nº PM 740-560 cuando el mismo se presente acompañado de la presente Disposición.

ARTÍCULO 3º.- Autorícense los textos de los proyectos de instrucciones de uso que obran en documento N° IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT.

ARTÍCULO 4º- Regístrese; gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con rótulos y manuales de instrucciones autorizados.

Cumplido, archívese.-

DATOS CARACTERISTICOS

NOMBRE COMERCIAL: cobas® HIV-1 (Cat. Nº 08792992190)

NUEVA INDICACIÓN DE USO: Prueba de amplificación de ácidos nucleícos para la cuantificación del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1) en plasma humano conservado en EDTA o procedente de una muestra de plasma seco, cobas® Plasma Separation Card (PSC), así como para la detección cualitativa del VIH-1 en muestras de sangre seca de personas con VIH-1, incluidos bebés de madres con VIH-1.

FORMA DE PRESENTACIÓN: Envases por 120 determinaciones, conteniendo: 1 cassette integral de reactivos.

PERIODO DE VIDA ÚTIL Y CONDICIONES DE CONSERVACIÓN: No modifica.

Expediente Nº 1-47-3110-2086/19-9

Fd

Digitally signed by GARAY Valeria Teresa
Date: 2020.08.19 23:33:13 ART
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Valeria Teresa Garay
Subadministradora Nacional
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.08.19 23:33:35 -03:00

PROYECTO DE MANUAL DE INSTRUCCIONES

Rx Only

cobas® HIV-1

Prueba de ácidos nucleicos para uso en el cobas® 4800 System

Para diagnóstico in vitro

cobas® HIV-1	120 Tests	P/N: 08792992190
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	10 Sets	P/N: 06979572190
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	240 Tests	P/N: 06979556190
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

TABLA DE CONTENIDO

Uso previsto

Información sobre el contenido 6

Resumen y explicación de la prueba cobas® HIV-1 para la cuantificación del ARN del VIH-1 en muestras de plasma y plasma seco

Información de referencia 7

Motivos para el uso de la prueba cuantitativa del VIH-1 7

Explicación de la prueba cuantitativa 8

Principios del procedimiento 8

Materiales y reactivos para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Reactivos 10

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent 15

Requisitos de almacenamiento y manipulación 16

Material adicional necesario 16

Materiales adicionales necesarios únicamente para el uso con muestras de plasma seco de PSC 17

Glosario de términos simplificados para la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 17

Instrumentos y software necesarios pero no suministrados para la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 18

Tubos de muestra compatibles con la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 18

Precauciones y requisitos de manipulación para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Advertencias y precauciones 19

Buenas prácticas de laboratorio 20

Manipulación de reactivos 20

Contaminación 21

Integridad 21

Eliminación de residuos 21

Limpieza de derrames 21

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras 22

- Muestras de plasma conservadas en EDTA 22
- Muestras de plasma seco de PSC 22

Instrucciones de uso para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Preparación de muestras de plasma seco de PSC y procedimiento preanalítico 24

Realización de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 29

- Tipos de muestras y volumen de procesamiento para la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 29
- Tamaño de la serie para la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 29
- Flujos de trabajo para la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 (independiente y serie combinada) 29

Flujo de trabajo del modo individual – prueba cuantitativa del VIH-1 32

Flujo de trabajo de la serie combinada – pruebas cuantitativa y cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) 34

Resultados de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Control de calidad y validez de los resultados de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 38

Interpretación de los resultados de control de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 38

Interpretación de los resultados de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 39

Lista de avisos de resultados de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 40

Limitaciones del procedimiento 41

Evaluación no clínica del rendimiento de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Características clave de rendimiento para muestras de plasma conservado en EDTA 42

Límite de detección (LoD) para muestras de plasma conservadas en EDTA 42

Intervalo lineal para muestras de plasma conservadas en EDTA 43

Precisión intralaboratorio para muestras de plasma conservadas en EDTA 44

Verificación de grupo/subtipo para muestras de plasma conservadas en EDTA 45

Verificación del límite de detección para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N 45

Verificación del intervalo de linealidad para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N 46

Especificidad para muestras de plasma conservadas en EDTA 46

Correlación de métodos para muestras de plasma conservadas en EDTA 48

Fallo de todo el sistema para muestras de plasma conservadas en EDTA 49

Contaminación cruzada para muestras de plasma conservadas en EDTA 49

Características clave de rendimiento para muestras de plasma seco de PSC 49

Límite de detección (LoD) 49

Intervalo lineal con la PSC 50

Precisión intralaboratorio con la PSC 51

Tasa de fallo de todo el sistema con la PSC 52

Rendimiento de las muestras de plasma seco procedentes de una PSC en comparación con las muestras de plasma 52

Resumen y explicación de la prueba cobas® HIV-1 para la detección cualitativa del VIH-1 en muestras de sangre seca

Información de referencia 54

Motivos para el uso de la prueba cualitativa del VIH-1 54

Explicación de la prueba cualitativa del VIH-1 54

Principios del procedimiento 54

Materiales y reactivos para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Reactivos 56

Requisitos de almacenamiento y manipulación 62

Material adicional necesario 62

IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

Glosario de términos simplificados para la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 63
Instrumentos y software necesarios pero no suministrados para la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 64
Tubos de muestra compatibles con la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 64

Precauciones y requisitos de manipulación para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Advertencias y precauciones ... 64
Buenas prácticas de laboratorio ... 65
Manipulación de reactivos ... 65
Contaminación ... 66
Integridad ... 66
Eliminación de residuos ... 66
Limpieza de derrames ... 67
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras ... 67
Muestras de sangre seca ... 67

Instrucciones de uso para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Preparación de muestras de sangre seca en tarjetas DBS y procedimiento preanalítico ... 68
Realización de la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 69
Tipo de muestra y volumen de procesamiento para la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 69
Tamaño de la serie para la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 69
Flujos de trabajo para la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 69
Flujo de trabajo del modo individual – prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) ... 71

Resultados de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Control de calidad y validez de los resultados de la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 73
Interpretación de los resultados de control de la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 73
Interpretación de los resultados de la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 73
Lista de avisos de resultados de la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 ... 74
Limitaciones del procedimiento ... 75

Evaluación no clínica del rendimiento de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Características clave de rendimiento para muestras DBS ... 75
Límite de detección (LoD) con DBS ... 75
Repetibilidad con DBS ... 76
Especificidad con DBS ... 77
Correlación con DBS ... 77
Tasa de fallo de todo el sistema con DBS ... 78

Información adicional

Funciones clave del ensayo para muestras de plasma conservado en EDTA ... 79
Funciones clave del ensayo para muestras de plasma seco de PSC ... 79
Funciones clave del ensayo para muestras DBS ... 79

IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

Guía rápida del flujo de trabajo 80
Símbolos 81
Fabricante y distribuidores 82
Marcas registradas y patentes 82
Copyright 82
Bibliografía 83
Revisión del documento 84

Uso previsto

cobas® HIV-1 es una prueba de amplificación *in vitro* de ácidos nucleicos para la cuantificación del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (VIH-1) en plasma conservado en EDTA o procedente de una muestra de plasma seco **cobas**® Plasma Separation Card (**PSC**) así como para la detección cualitativa del VIH-1 en muestras de sangre seca de personas con VIH-1, incluidos bebés de madres con VIH-1. La prueba se utiliza con el **cobas**® 4800 System. Esta prueba se emplea junto con datos clínicos u otros marcadores de laboratorio de la evolución de la enfermedad, para el seguimiento clínico de los pacientes infectados por el VIH-1.

Empleada como prueba cuantitativa, esta prueba se puede usar como complemento en el diagnóstico para confirmar la infección por el VIH-1 en personas con anticuerpos reactivos y para valorar el pronóstico del paciente por medio de la determinación del nivel inicial de ARN del VIH-1 o monitorizar los efectos de la terapia antirretroviral por medio de la determinación de los cambios de los niveles de ARN del VIH-1 durante el curso del tratamiento antirretroviral.

Cuando se utiliza como una prueba cualitativa con muestras de sangre seca, la detección de los ácidos nucleicos del VIH-1 indica una infección activa por VIH-1 en bebés nacidos de madres infectadas por el VIH con anticuerpos maternos para el VIH-1. Esta prueba también puede utilizarse para confirmar infecciones por el VIH-1 en personas reactivas a anticuerpos o antígenos del VIH-1.

Información sobre el contenido

La prueba **cobas**® HIV-1 consta de un flujo de trabajo cuantitativo y otro cualitativo y ambos flujos de trabajo comparten el mismo kit de amplificación/detección y el mismo kit de control. La prueba cuantitativa y cualitativa, no obstante, presentan diferencias sustanciales y, por lo tanto, las descripciones de ambas pruebas se detallan en apartados independientes.

En los primeros apartados de este documento se exponen un resumen y la explicación de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1, los materiales y reactivos necesarios, las precauciones y requisitos de manipulación, las instrucciones de uso, los resultados y la evaluación no clínica del rendimiento. A esta información le siguen los apartados equivalentes que tratan la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1.

Resumen y explicación de la prueba cobas® HIV-1 para la cuantificación del ARN del VIH-1 en muestras de plasma y plasma seco

Información de referencia

El VIH es el agente etiológico del Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Tras la seroconversión, las personas infectadas, por lo general, entran en una fase relativamente asintomática, clínicamente estable, que puede prolongarse durante años. El periodo asintomático se caracteriza por una viremia plasmática persistente en determinados momentos condicionada por la genética del paciente y por una pérdida gradual de linfocitos T $CD4^+$. Aunque las concentraciones de virus en sangre periférica son relativamente bajas durante la fase asintomática de la infección, la replicación y eliminación del virus son procesos dinámicos en los que los altos índices de producción de virus e infección de los linfocitos $CD4^+$ quedan equilibrados por los altos índices de eliminación vírica, muerte de las células infectadas y reabastecimiento de linfocitos $CD4^+$, lo que da lugar a niveles relativamente estables de viremia plasmática y linfocitos $CD4^+$ durante aproximadamente 8 años en la mayoría de personas infectadas por el VIH.

La cuantificación de la viremia plasmática para el VIH ha demostrado que una carga viral elevada está relacionada con una progresión clínica más rápida de la enfermedad del VIH.[1,2] Además, casi dos décadas de ensayos clínicos han determinado que la reducción de la carga viral en plasma por acción de los tratamientos antirretrovirales (TAR) reduce significativamente el riesgo de progresión clínica, incluidos la muerte, el desarrollo del SIDA, infecciones oportunistas y la morbilidad asociada al VIH.[3] La carga viral del VIH también constituye un factor predictivo del riesgo de transmisión del VIH, y los ensayos clínicos controlados y aleatorizados han establecido que un inicio temprano del tratamiento TAR con supresión de la carga viral reduce la transmisión del VIH en un 96%.[4]

Motivos para el uso de la prueba cuantitativa del VIH-1

En la actualidad existe un gran número de fármacos antirretrovirales que atacan la proteasa viral, la integrasa, la cápside y la transcriptasa inversa. Los análisis genotípicos de virus de diferentes clases han puesto de manifiesto cambios de nucleótidos, polimorfismos y mutaciones secundarias en las regiones de la transcriptasa inversa, integrasa y proteasa del gen pol del VIH-1 producidos tanto de forma natural como inducidos por los fármacos. Los análisis de resistencia se han convertido en una herramienta de diagnóstico fundamental para la monitorización de las infecciones por el VIH-1 y se inician cuando la carga viral del paciente aumenta a un nivel capaz de ser detectado mediante ensayos de secuenciación. Y, lo que es más importante, se ha demostrado que la monitorización de la carga viral reduce el riesgo de resistencia a los fármacos y se considera clínicamente un indicador centinela de replicación viral activa consecuencia de la evolución viral en pacientes sometidos a tratamiento.[5,6] Por este motivo, múltiples directrices tanto nacionales como internacionales recomiendan la cuantificación de la carga viral del VIH-1.[3,7-9]

Durante muchos años, las directrices indicaban que el objetivo principal del tratamiento era la supresión de la carga viral del VIH-1 por debajo del límite de detección de una prueba (p. ej., 50 copias/ml). En el año 2011, en las directrices para el tratamiento del VIH de los Estados Unidos se empezó a indicar que una carga viral de 200 copias/ml en pacientes sometidos a tratamiento TAR no significaba necesariamente que el tratamiento hubiera fallado.[3] Las directrices europeas siguen recomendando el uso de 50 copies/ml como umbral para determinar si el tratamiento es fallido.[7] No se ha determinado el umbral correcto que se debe utilizar con ningún ensayo clínico riguroso. La disparidad del límite inferior de las distintas pruebas de carga viral pueden generar diferencias significativas en la interpretación clínica de los resultados de la carga viral durante la monitorización de la respuesta al tratamiento,[10,11] dado que el objetivo del tratamiento es la supresión del virus a un nivel por debajo del cual es menos probable que se produzca una resistencia a los fármacos y que, por otra parte, todavía está por definir.[12] En julio de 2013, la OMS también empezó a recomendar la utilización de pruebas de carga viral en situaciones de recursos limitados y estableció en 1.000 copias/ml el umbral para determinar un fracaso virológico que exija decisiones de gestión del tratamiento. En la actualidad, la OMS también recomienda el uso de muestras secas para ampliar el alcance de las pruebas de carga viral en situaciones de recursos limitados sin acceso

IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

inmediato a servicios de flebotomía u opciones sólidas de transporte de muestras de plasma conservadas en EDTA.[13] Las muestras de plasma seco procedentes de **PSC**, que también estabilizan el ARN del VIH en plasma seco, pueden mejorar la cobertura de las pruebas de carga viral en estas situaciones, ya que permiten transportar las muestras durante distancias más largas y en condiciones ambientales más rigurosas que el plasma conservado en EDTA.

Además de la monitorización de la respuesta al tratamiento, las directrices recomiendan valorar la carga viral para determinar si un paciente con un recuento de células CD4+ > 500 células/mm^3 (carga viral > 100.000 copias/ml) debería iniciar un tratamiento TAR y para garantizar que la secuenciación de resistencia a los fármacos será satisfactoria en los pacientes correspondientes (pacientes con una carga viral > 1.000 copias/ml o con una respuesta subóptima de carga viral tras el TAR). La valoración de la carga viral debería realizarse en el ámbito prenatal para determinar si es necesario practicar una cesárea a fin de evitar la transmisión madre-hijo de la infección por el VIH (para mujeres embarazadas con una carga viral > 1.000 copias/ml).

Explicación de la prueba cuantitativa

cobas® HIV-1 puede utilizarse como una prueba de ácidos nucleicos cuantitativa que se realiza en el **cobas**® 4800 System. La prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 permite la detección y cuantificación de ARN del VIH en plasma conservado en EDTA o en una muestra de plasma seco procedente de una **PSC** de pacientes infectados. Se emplean dos sondas que detectan y cuantifican, pero no discriminan, los subtipos de los grupos M, N y O. La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un estándar de cuantificación de Armored RNA diferente del VIH (RNA QS) que se añade a cada una de las muestras durante el procesamiento. El RNA QS actúa como control interno para monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza tres controles externos: uno positivo de título alto, uno positivo de título bajo y uno negativo.

Principios del procedimiento

La prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación y detección mediante PCR. El **cobas**® 4800 System incluye el **cobas x** 480 instrument para la preparación de muestras y el **cobas z** 480 analyzer para realizar la PCR a tiempo real. La gestión de datos automática se realiza mediante el **cobas**® 4800 software, que asigna los resultados de la prueba a todas las pruebas como fragmento objetivo no detectado, < LLoQ (límite de cuantificación inferior), > ULoQ (límite de cuantificación superior) o ARN de VIH detectado, un valor del intervalo lineal LLoQ ≤ x ≤ ULoQ. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente, controles externos y moléculas de RNA QS se realiza simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos víricos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los desechos celulares y posibles inhibidores de la PCR se eliminan en pasos posteriores con el reactivo de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el tampón de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para el fragmento objetivo que se seleccionan de regiones altamente conservadas del VIH. La prueba **cobas**® HIV-1 amplifica el gen gag del VIH-1 y la región LTR del VIH-1 (fragmento objetivo doble). La amplificación selectiva de RNA QS se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del VIH. Para los procesos de transcripción inversa y amplificación mediante PCR se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias objetivo y de RNA QS se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR con unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo Master Mix incluye trifosfato de desoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).[14-16] La enzima AmpErase, que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de

PCR anteriores. Sin embargo, no se elimina ningún amplicón nuevo porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de la prueba **cobas**® HIV-1 contiene dos sondas de detección específicas para las secuencias objetivo del VIH-1 y una para RNA QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes que permiten la detección simultánea del fragmento objetivo del VIH-1 y el RNA QS en dos canales de detección distintos.[17,18] Cuando no se unen a la secuencia objetivo, las señales fluorescentes de las sondas intactas se eliminan mediante un marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores para los fragmentos objetivo vírico y RNA QS respectivamente.

Materiales y reactivos para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Reactivos

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

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® HIV-1 120 pruebas (P/N: 08792992190)	**MMX R1** (Reactivo 1 de Master Mix para **cobas**®) Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	10 x 1,75 ml	N/A
	HIV-1 MMX R2 (Reactivo 2 de Master Mix para **cobas**® **HIV-1**) Tampón Tricina, acetato de potasio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de cebadores para VIH, < 0,01% de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el estándar de cuantificación, < 0,01% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para VIH y el estándar de cuantificación, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D (microbiano), < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	10 x 0,5 ml	N/A
	RNA QS (Estándar de cuantificación del ARN para **cobas**®) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de Armored RNA diferente del VIH que contiene regiones de secuencia específicas del cebador y la sonda (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,1% de azida sódica	10 x 1,75 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 juegos (P/N: 06979572190)	**HBV/HCV/HIV-1 L(+)C** (Control positivo bajo para **cobas**® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (plásmido) sintético de VHB encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VHC encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VIH 1/2, anticuerpos frente al VHC, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300[b]	10 x 0,75 ml	**ATENCIÓN** H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272 Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280 Utilice guantes protectores. P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P362 + P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501 Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 masa reactiva de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1)
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)C (Control positivo alto para **cobas**® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (plásmido) sintético de VHB encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VHC encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VIH 1/2, anticuerpos frente al VHC, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300[b]	10 x 0,75 ml	
	(–) C (Control negativo para **cobas**®) Plasma humano normal, no reactivo según pruebas autorizadas para anticuerpos del VIH-1/2, anticuerpos del VHC, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300[b]	10 x 0,75 ml	

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 pruebas (P/N: 06979513190)	**MGP 2** (Reactivo 2 de MGP para **cobas**® 4800) Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 x 8 ml	N/A
	EB 2 (Tampón de elución 2 para **cobas**® 4800) Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	10 x 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 pruebas (P/N: 06979521190)	**MGP 2** (Reactivo 2 de MGP para **cobas**® 4800) Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 x 16 ml	
	EB 2 (Tampón de elución 2 para **cobas**® 4800) Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	10 x 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 pruebas (P/N: 05235863190)	**WB** (Tampón de lavado para el **cobas**® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado, 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 x 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 pruebas (P/N: 05235871190)	**WB** (Tampón de lavado para el **cobas**® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado, 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 x 200 ml	N/A
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 pruebas (P/N: 06979556190)	**SD 2** (Diluyente de muestras 2 para el **cobas**® 4800 System) Tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 x 8 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 pruebas (P/N: 06979530190)	**P 2** (Proteasa 2 para **cobas**® 4800) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa[b]	10 x 1,0 ml	 **PELIGRO** H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/ máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 tiocianato de guanidinio 9002-92-0 polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol 39450-01-6 Proteinasa, serina de Tritirachium album
	LYS 2 (Tampón de lisis 2 para **cobas**® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidinio[b], 5% (p/v) de polidocanol[b], 2% (p/v) de ditiotreitol[b], citrato de sodio dihidratado	10 x 27 ml	

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 pruebas (P/N: 06979548190)	**P 2** (Proteasa 2 para **cobas**® 4800) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa[b]	10 x 1,0 ml	 **PELIGRO** H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/ máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 tiocianato de guanidinio 9002-92-0 polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol 39450-01-6 Proteinasa, serina de Tritirachium album
	LYS 2 (Tampón de lisis 2 para **cobas**® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidinio[b], 5% (p/v) de polidocanol[b], 2% (p/v) de ditiotreitol[b], citrato de sodio dihidratado	10 x 84 ml	

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

[b] Sustancia peligrosa

cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent

***Nota:** este reactivo es opcional y únicamente debe utilizarse en combinación con la cobas® Plasma Separation Card (PSC) para generar muestras de plasma seco. Consulte las instrucciones ms_07963084190, correspondientes a la PSC.*

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (P/N: 08064695190)	**SPER** Reactivo previo a la extracción de muestras (**cobas®**) 28% (p/p) de tiocianato de guanidinio[b], 6% (p/v) de polidocanol[b], 1% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	15 x 40 ml	 **PELIGRO** H302 Nocivo en caso de ingestión. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 tiocianato de guanidinio 9002-92-0 polidocanol

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

[b] Sustancia peligrosa

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Reactivo	Temperatura de almacenamiento	Periodo de almacenamiento
cobas® HIV-1	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada

No congele los reactivos.

Material adicional necesario

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

Materiales adicionales necesarios únicamente para el uso con muestras de plasma seco de PSC

Material
cobas® Plasma Separation Card[a]
Fórceps o pinzas estériles o desechables[b]
Capilar de 140 µl (p. ej., tubo de plástico Vitrex) con dispensador compatible (p. ej., soporte para pipetas Vitrex)[a]
Dispositivo de punción de un solo uso (p. ej., Greiner Bio-One: MiniCollect® Safety Lancet, profundidad de penetración de 2,00 mm)[a]
Bolsa de muestras (de plástico transparente resellable con cierre hermético) y bolsas desecantes de gel de sílice (para un total de 4 gramos) (Si desea obtener más información sobre el almacenamiento y la entrega de la **PSC**, consulte la **metódica ms_07963084190 de la PSC**.)
Bolsa de transporte (p. ej., Wicoseal 180 x 60 x 240 mm)
Pipeta (p. ej., pipeta Multistepper)
Agitador térmico (p. ej., Eppendorf Thermomixer® modelo R 5355, C o equivalente) con termobloque para 24 criotubos
Tubos de polipropileno de 5 ml y 12,5 mm de diámetro con rosca interior (p. ej., Greiner Bio-One Cryo.s™) y con tapones

[a] Consulte la **metódica ms_07963084190 de la PSC** para obtener más información sobre la recogida de muestras en una **PSC**.

[b] Para evitar la contaminación por arrastre, utilice únicamente un par de fórceps por paciente. Se recomienda utilizar fórceps de metal y esterilizarlos en una autoclave tras cada uso.

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

Glosario de términos simplificados para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

En las instrucciones de uso se utilizan los siguientes términos simplificados como referencia a algunos de los materiales y reactivos especificados en este apartado.

Término simplificado	**Material/Reactivo**
H(+)C	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control
Control positivo alto	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control
L(+)C	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control
Control positivo bajo	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control
LYS 2	**cobas**® 4800 Lysis Buffer 2
Microplaca	Placa de amplificación y detección (microplaca) de 0,3 ml para el **cobas**® 4800 System
MGP 2	**cobas**® 4800 MGP Reagent 2
MMX R1	**cobas**® Master Mix Reagent 1
MMX R2	**cobas**® HIV-1 Master Mix Reagent 2
Control negativo	**cobas**® Negative Control
P 2	**cobas**® 4800 Protease 2
PSC	**cobas**® Plasma Separation Card
QS	**cobas**® RNA Quantitation Standard
SD 2	**cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2
SPER	**cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent
WB	**cobas**® 4800 System Wash Buffer

Instrumentos y software necesarios pero no suministrados para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Instrumentos y software necesarios pero no suministrados
cobas® 4800 System **cobas x** 480 instrument **cobas z** 480 analyzer Unidad de control
Software de la aplicación (core) para el **cobas**® 4800 System versión 2.2.0 o posterior
cobas® 4800 System **cobas**® HIV-1 AP v1.2.0 o posterior

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

Tubos de muestra compatibles con la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

La prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 acepta los principales tubos de muestra primarios y secundarios.

Los tubos de muestra compatibles se indican a continuación:

Tubos primarios para plasma como tipo de muestra

Diámetro nominal (mm)	Volumen de entrada de muestra – sangre total procesada (centrifugada)		Aditivo para el tubo
	400 µl de volumen de procesamiento	200 µl de volumen de procesamiento	Plasma conservado en EDTA
11-14	1.800 µl o más	1.000 µl o más	Con o sin gel
14,5-16	Más de 4.000 µl	Más de 4.000 µl	Con o sin gel

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

Tubos secundarios para plasma como tipo de muestra

Diámetro nominal (mm)	Volumen de entrada de muestra	
	400 µl de volumen de procesamiento	200 µl de volumen de procesamiento
11-16	1.000 µl o más (algunos tubos secundarios tienen un volumen de entrada mínimo inferior a 1.000 µl)	750 µl o más (algunos tubos secundarios tienen un volumen de entrada mínimo inferior a 750 µl)

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

Tubos secundarios para PSC como tipo de muestra

Diámetro nominal (mm)	Volumen de entrada de SPER (volumen de procesamiento de 400 µl)
12,5	800 µl

Para obtener información específica de pedido de tubos de muestra, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Los tubos de muestras para el tipo de muestra **PSC** solo pueden cargarse en el transportador de muestras de 32 posiciones.

Precauciones y requisitos de manipulación para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico in vitro exclusivamente.
- No se ha evaluado el uso de la prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 para el cribado de la presencia de VIH-1 en sangre o productos sanguíneos.
- Todas las muestras de pacientes deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.[19,20] Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba **cobas**® HIV-1 y el **cobas**® 4800 System.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales.
- **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit contiene plasma derivado de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante una prueba para anticuerpos autorizada y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, anticuerpos anti-HBsAg y anticuerpos anti-HBc. El análisis mediante métodos PCR no ha detectado la presencia de ARN del VIH-1 ni del VIH-2, ARN del VHC ni ADN del VHB. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- Consulte las **instrucciones de la PSC ms_07963084190** para conocer las advertencias y precauciones adicionales.
- Evite la exposición del reactivo MGP a fuentes de campos magnéticos.
- **No congele la sangre total ni las muestras almacenadas en tubos primarios.**
- El **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent es sensible a la luz y se suministra en botellas con protección lumínica.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.

- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer, consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System. Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en la correspondiente Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

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

Buenas prácticas de laboratorio

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

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada botella de reactivo y vial para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 y el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent contienen tiocianato de guanidinio, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- La prueba **cobas**® HIV-1, el **cobas**® 4800 Sample Preparation Kit 2 y el **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 o el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent, que contienen tiocianato de guanidinio, entren en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.

Contaminación

- A fin de evitar la contaminación, es obligatorio el uso de guantes de laboratorio durante la manipulación de las muestras y los reactivos para la prueba **cobas**® HIV-1, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro. Evite la contaminación de los guantes de laboratorio durante la manipulación de las muestras y de los controles. Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit.
- Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos.
- Podrían obtenerse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante su manipulación.

Integridad

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

Eliminación de residuos

- La prueba **cobas**® HIV-1, el **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 y el **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 contienen azida sódica (consulte el apartado "**Advertencias y precauciones**"). La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.

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

Limpieza de derrames

- El **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 y el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent contienen tiocianato de guanidinio. Si se derrama líquido que contenga tiocianato de guanidinio, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. No permita que entre en contacto con desinfectantes con hipoclorito de sodio como la lejía. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- En caso de que se produzca un derrame de material de origen humano, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- Si se produce un derrame de muestras de plasma seco procedentes de una **PSC** en el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (que contiene tiocianato de guanidinio), no permita que entre en contacto con soluciones de hipoclorito de sodio que contengan desinfectantes como la lejía. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad. Limpie PRIMERO el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- Si el derrame se produce sobre el **cobas x** 480 instrument, siga las instrucciones de limpieza que se detallan en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

- No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer. Limpie el **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System correspondiente.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

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

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

Muestras de plasma conservadas en EDTA

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

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

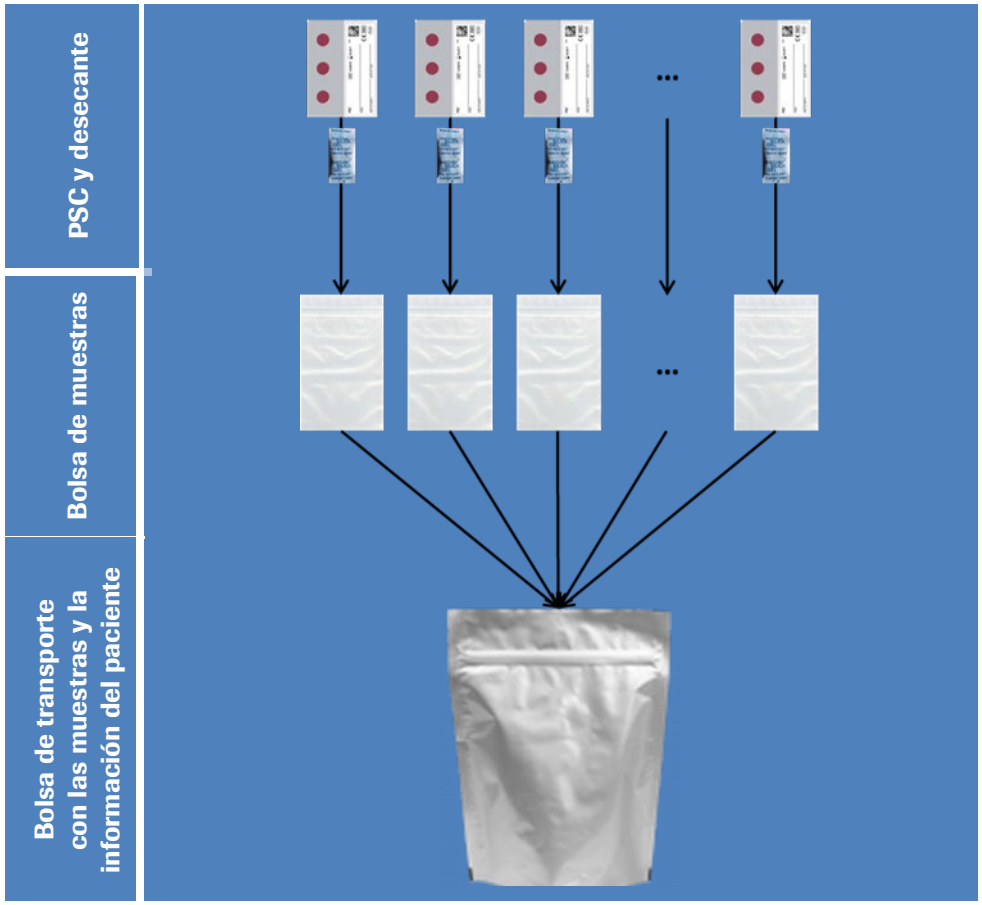
- La sangre total recogida en tubos para preparación de plasma BD Vacutainer® PPT™ para métodos de pruebas de diagnóstico molecular o tubos estériles con EDTA como anticoagulante pueden almacenarse y/o transportarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 25 °C antes de la preparación del plasma y la realización de las pruebas posteriores.
- Las muestras de plasma se pueden almacenar en tubos secundarios hasta 24 horas a una temperatura comprendida entre 2 °C y 30 °C, hasta 72 horas entre 2 °C y 8 °C o hasta 6 semanas a ≤ –18 °C. Las muestras de plasma separadas en tubos secundarios se mantienen estables hasta tres ciclos de congelación/descongelación si se congelan a ≤ –18 °C.
- Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

Muestras de plasma seco de PSC

- Para recoger muestras de plasma seco de una **PSC**, utilice los procedimientos clínicos adecuados (consulte la **metódica ms_07963084190 de la PSC**).
- Compruebe la fecha de caducidad de la **PSC** y continúe únicamente si la **PSC** todavía no ha caducado.
- Asegúrese de que la bolsa en la que está sellada la **PSC** está completamente cerrada e intacta.
- Etiquete la **PSC** con el nombre y la fecha de nacimiento del paciente, así como con la fecha y hora de obtención de la muestra.
- Realice una punción capilar y aplique 140 µl de sangre total en cada uno de los círculos de la membrana de la **PSC** delineados por la lámina de muestras mediante un capilar y un dispensador adecuados. Se recomienda rellenar las tres muestras de la **PSC** para posibilitar las repeticiones.
- No aplique muestras de más de un paciente en la misma **PSC**.
- No permita que las membranas entren en contacto con guantes, herramientas o cualquier superficie potencialmente contaminada durante este proceso.

- Asegúrese de que AMBAS caras de las muestras de la **PSC** (frontal: membrana con sangre; posterior: muestra con plasma) están saturadas transcurridos 5 minutos. Compruebe la cara posterior a través de la lámina posterior transparente.
- Deje secar la **PSC** a temperatura ambiente durante 4 horas como mínimo (y como máximo durante toda la noche), protegiéndola de la luz solar directa.
- No retire la lámina de muestras. Se retirará en el laboratorio, antes de la extracción de la muestra.
- Tras el secado, guarde la **PSC** en una bolsa de muestras individual con 4 gramos de desecante y séllela. Las bolsas de muestras recogidas deben empaquetarse en una bolsa de transporte junto con las hojas informativas de paciente correspondientes. Se recomienda empaquetar un máximo de 25 **PSC** por bolsa de transporte (consulte la Ilustración 1 para obtener una visión general).

Ilustración 1: Visión general del concepto de empaquetado para el transporte de PSC



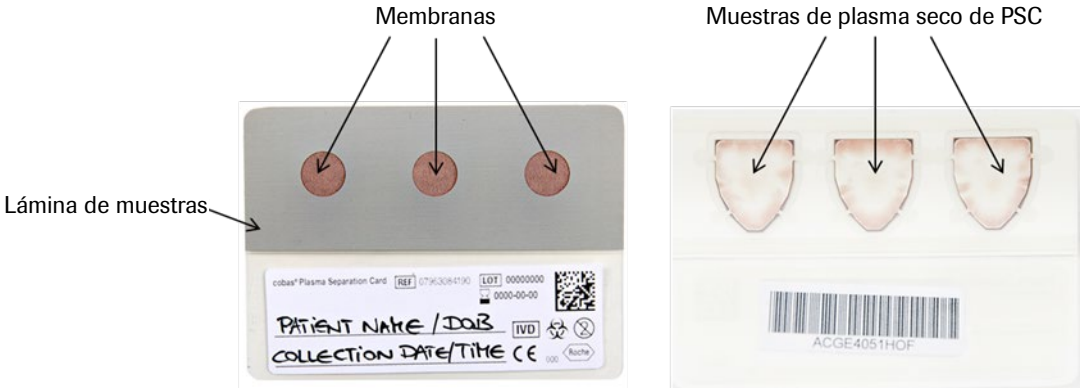
- Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos. Las **PSC** pueden transportarse durante un periodo de 28 días antes de su análisis a 18-45 °C con una humedad de hasta el 85%.
- Tras el transporte, las **PSC** en bolsas de muestras individuales con 4 gramos de desecante colocadas dentro de una bolsa de transporte pueden almacenarse a temperatura ambiente (18-30 °C), a 2-8 °C o a ≤ –10 °C durante un máximo de 56 días (con y sin separación de las láminas).

Instrucciones de uso para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Preparación de muestras de plasma seco de PSC y procedimiento preanalítico

- Compruebe la integridad de la bolsa de transporte antes de abrirla. Siga con el procedimiento únicamente si la bolsa de transporte está completamente cerrada.
- Abra la bolsa de transporte y proceda con cada bolsa de muestras únicamente si:
  - El formulario de solicitud del laboratorio está totalmente cumplimentado.
  - Los códigos de barras del formulario de solicitud del laboratorio y la **PSC** coinciden.
  - La bolsa de muestras está completamente cerrada y contiene una **PSC** con 4 gramos de desecante.
  - La fecha de recogida de las muestras está disponible y la recogida y el transporte de las muestras tuvo lugar durante los últimos 28 días y antes de la fecha de caducidad de la **PSC**.
  - La **PSC** no está caducada.
  - La muestra de plasma seco de la **PSC** parece homogénea en la cara frontal y completamente cubierta de plasma si se observa desde la parte posterior (consulte la Ilustración 2).

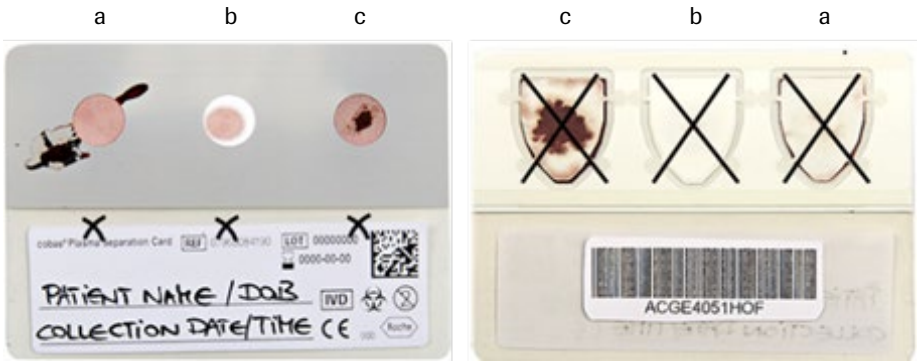
Ilustración 2: Muestras de plasma seco de PSC para procesar (izquierda: parte frontal; derecha: parte posterior)



  - Es necesario marcar y rechazar las muestras de plasma seco de **PSC** si:
    - Hay derrames de sangre visibles (Ilustración 3a) o la membrana no está totalmente cubierta de sangre (Ilustración 3b) y, por lo tanto, la muestra de **PSC** no presenta un área frontal homogénea y/o la cara posterior no está completamente cubierta de plasma (visible a través del transportador).
    - La membrana está dañada (Ilustración 3c) y, por lo tanto, la muestra de la **PSC** no presenta un área frontal homogénea y muestra una cara posterior entre rojo oscuro y marrón (visible a través del transportador).

Nota: ***las tres muestras permiten realizar pruebas y repeticiones de las pruebas. Una PSC puede incluir una muestra errónea, pero seguir proporcionando una buena muestra para el análisis. Marque correctamente las muestras erróneas para poder reconocerlas. Evite marcarlas en la lámina de muestras. Compare siempre las tres muestras entre ellas para valorar su calidad.***

Ilustración 3: Criterios de rechazo de las muestras de PSC (izquierda: cara frontal; derecha: cara posterior). Las muestras con derrames (a), membrana parcialmente sin cubrir (b) o membrana visiblemente dañada (c) no deben procesarse. Las muestras deben marcarse claramente cuando se rechazan.



- Etiquete un tubo (5 ml y 12,5 mm de diámetro con rosca interior y de propileno [p. ej., Greiner Bio-One Cryo.s™]) para cada **PSC** con el código de barras correspondiente del formulario de solicitud de laboratorio (Ilustración 4) y colóquelo en un rack. Transfiera los tubos a una cabina de flujo laminar junto con las bolsas de muestras que contienen las **PSC**. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para obtener información sobre las etiquetas de código de barras adecuadas.

Ilustración 4: Etiquetado del tubo con el código de barras de la PSC correspondiente

- Retire los tapones de los tubos de la cabina de flujo laminar.
- Abra la bolsa de muestras de la **PSC** seleccionada y retire la lámina de muestras (Ilustración 5).

Ilustración 5: Retirada de la lámina de muestras

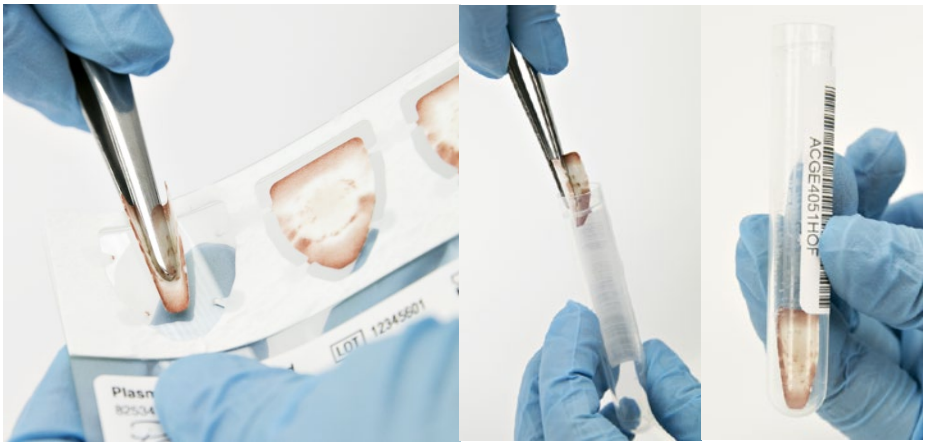
- Doble ligeramente la **PSC** y extraiga una muestra de plasma seco con fórceps o pinzas estériles tirando de ella hacia arriba. Doble la muestra de plasma seco extraída en la **PSC** para facilitar la inserción del tubo (Ilustración 6). Utilice un par de fórceps o pinzas por paciente.

Nota: ***las muestras de plasma seco pueden volverse frágiles tras su almacenamiento. Consulte los requisitos de almacenamiento para las PSC. Manipúlelas con cuidado al introducirlas en el tubo.***

Ilustración 6: Extracción y doblado de la muestra de plasma seco de la PSC

- Transfiera una muestra de plasma seco de la **PSC** previamente doblada al tubo correspondiente de forma que la punta inferior de la muestras de plasma seco de la **PSC** toque el fondo del tubo y se adhiera a la pared del tubo para evitar errores de pipeteo (Ilustración 7). En caso necesario, ajuste la posición de la muestra de plasma seco de la **PSC** con una punta de pipeta estéril. Cerciórese de que el tubo y la **PSC** de la muestra de plasma seco de **PSC** transferida tienen el mismo código de barras.

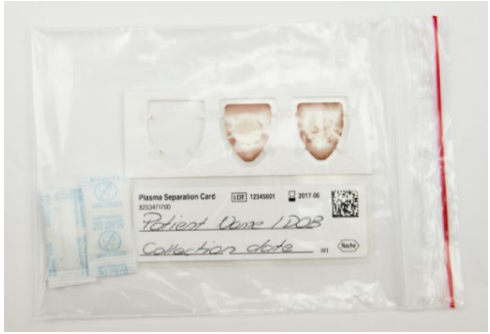
Ilustración 7: Transferencia de la muestra de plasma seco de la PSC al tubo



- Vuelva a colocar la **PSC** con las muestras de plasma seco restantes en su bolsa de muestras original con 4 gramos de desecante nuevo para repetir el análisis, en caso necesario (Ilustración 8). Las **PSC** pueden almacenarse durante un periodo de 56 días después del transporte con o sin separación de la lámina de muestras (a 18-30 °C, a 2-8 °C o a ≤ –10 °C).

Nota: ***asegúrese de utilizar desecante nuevo; no reutilice nunca el desecante de la bolsa de muestras original.***

Ilustración 8: PSC en bolsa de muestras para posible repetición



- Deje que el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo. Pipetee 800 µl de SPER en los tubos que contienen las muestras de plasma seco de la **PSC** (Ilustración 9) y coloque los tapones. Asegúrese de que los tapones de los tubos se han colocado correctamente para evitar la evaporación.

Nota: ***asegúrese de utilizar solo SPER y no otro tipo distinto de reactivo previo a la extracción (p. ej., SPEX). Es importante pipetear 800 µl de SPER (800 µl exactos) para que el rendimiento del ensayo sea correcto.***

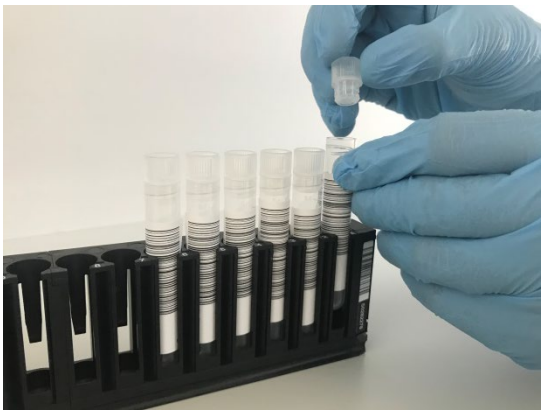
Ilustración 9: Adición de 800 µl de SPER

- Coloque los tubos tapados en un agitador térmico precalentado (p. ej., Eppendorf Thermomixer® modelo R 5355, C o equivalente) con termobloque para 24 criotubos e incube durante 10 minutos a 56 °C y 1.000 rpm para extraer el virus del plasma seco (Ilustración 10). Inicie la incubación inmediatamente después de incorporar el SPER.

Ilustración 10: Incubación

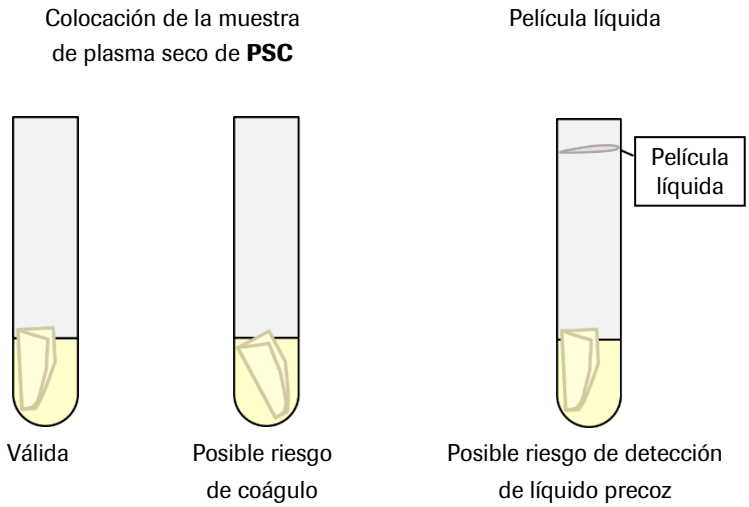
- Transfiera los tubos a un rack de muestras y quíteles el tapón uno a uno para minimizar la posibilidad de que se produzca contaminación por arrastre (Ilustración 11). Cámbiese los guantes después de retirar los tapones.

Ilustración 11: Destapado de los tubos



- Asegúrese de que la muestra de plasma seco de la **PSC** está colocada correctamente junto a la pared del tubo (Ilustración 12) para evitar coágulos en la muestra. En caso necesario, ajuste la posición de la muestra de plasma seco de la **PSC** con una punta de pipeta estéril.
- Elimine cualquier película líquida que se haya podido crear por encima del nivel del líquido mediante una punta de pipeta estéril para evitar la detección de nivel precoz.
- Cargue los tubos en el **cobas**® 4800 System utilizando solo el transportador de muestras de 32 posiciones.

Ilustración 12: Preparación de la muestra de plasma seco de la PSC antes de realizar el flujo de trabajo analítico



Nota: asegúrese de retirar cualquier película líquida que se haya creado durante el proceso.

Realización de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Tipos de muestras y volumen de procesamiento para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

La prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 admite tres tipos de muestras: plasma, plasma diluido y **PSC**. El volumen de procesamiento de cada uno de estos tipos de muestras es el siguiente:

Tipos de muestras compatibles y volumen de procesamiento

Tipo de muestra	Volumen de procesamiento [µl]
Plasma	400
Plasma diluido[a]	200
PSC	400

[a] Si se selecciona el tipo de muestra "plasma diluido" durante la creación de la petición de trabajo, el software solicitará al usuario que cargue el **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 como reactivo adicional durante la fase de carga de reactivos.

Tamaño de la serie para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Los reactivos genéricos para la preparación de muestras (**cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 y **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit) están disponibles en dos tamaños de kit, cada uno con cantidades suficientes para realizar 10 series de hasta 24 o 96 muestras, e incluyen además los controles y las muestras necesarios. La prueba **cobas**® HIV-1 se suministra en un único tamaño de kit suficiente para analizar hasta 120 (10×12) muestras, e incluye muestras y controles. En cada serie de pruebas, debe utilizarse un control positivo bajo para el VHB/VHC/VIH-1, un control positivo alto para el VHB/VHC/VIH-1 y un control negativo. Para una serie de análisis individual, el número máximo de muestras permitido es 93 muestras y 3 controles.

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

Flujos de trabajo para la prueba cuantitativa cobas® HIV-1 (independiente y serie combinada)

La prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 se realiza a partir del flujo de trabajo completo del **cobas**® 4800 software. Consta de la preparación de las muestras en el **cobas x** 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el **cobas z** 480 analyzer.

Para iniciar una prueba cuantitativa **cobas**® HIV-1 debe seleccionarse el tipo de prueba correspondiente al VIH-1.

La prueba cuantitativa del VIH-1 puede realizarse de manera independiente o bien en modo de serie combinada con pruebas que utilizan el mismo proceso automático de preparación de muestras y perfil de la PCR para la amplificación y la detección. Durante el paso de selección de la prueba, el software mostrará las pruebas compatibles con la prueba cuantitativa del VIH-1 para el modo de serie combinada.

A continuación se indica dónde puede encontrar un resumen de los flujos de trabajo de la prueba cuantitativa del VIH-1:

- El modo independiente de la prueba cuantitativa del VIH-1 se muestra en la Ilustración 13.
- El modo de serie combinada de la prueba cuantitativa del VIH-1 con la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) se muestra en la Ilustración 14.

- Para el modo de serie combinada de la prueba cuantitativa del VIH-1 con otras pruebas distintas a la prueba cualitativa del VIH-1, consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

Ilustración 13: Resumen del modo individual de la prueba cuantitativa del VIH-1: reactivos y flujo de trabajo

Reactivos	
Preparación genérica de las muestras • **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 ○ **MGP 2** ○ **EB 2** • **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 ○ **P 2** ○ **LYS 2** • **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit ○ **WB** Para plasma diluido: • **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 ○ **SD 2** Para Plasma Separation Card (**PSC**): • **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent ○ **SPER** Amplificación/Detección • **cobas**® HIV-1 ○ **MMX R1** ○ **HIV-1 MMX R2** ○ **RNA QS** Controles • **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit ○ **H(+)C** ○ **L(+)C** ○ **(-)C**	
Flujo de trabajo	
1	Inicie el sistema.
2	Efectúe el mantenimiento del equipo.
3	Extraiga las muestras y los reactivos del almacenamiento.
4	Inicie la serie analítica y seleccione HIV-1.
5	Escanee las tarjetas de parámetros.
6	Cargue las muestras.
7	Cree la petición de trabajo: • Con LIS: confirme la petición de trabajo. • Sin LIS: cree la petición de trabajo.
8	Cargue el material fungible.
9	Cargue los reactivos para la preparación de las muestras.
10	Cargue los reactivos de AMP/DET y los controles.
11	Inicie la serie de preparación de las muestras.
12	Descargue la microplaca.
13	Selle la microplaca.
14	Cargue la microplaca sellada en el analizador.
15	Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción.
16	Revise los resultados. • Opcional: Si hay conexión con el LIS, envíe los resultados al LIS.
17	Descargue el analizador.

IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

Ilustración 14: Resumen del modo de serie combinada de la prueba cuantitativa del VIH-1 con la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS): reactivos y flujo de trabajo

Reactivos	
Preparación genérica de las muestras • **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 ○ **MGP 2** ○ **EB 2** • **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 ○ **P 2** ○ **LYS 2** • **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit ○ **WB** Para plasma diluido: • **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 ○ **SD 2** Para Plasma Separation Card (**PSC**) y muestras de sangre seca (DBS): • **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent ○ **SPER** Amplificación/Detección • **cobas**® HIV-1 ○ **MMX R1** ○ **HIV-1 MMX R2** ○ **RNA QS** Controles • **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit ○ **H(+)C** *Requerido solo para la prueba cuantitativa del VIH-1* ○ **L(+)C** ○ **(-)C**	
Flujo de trabajo	
1	Inicie el sistema.
2	Efectúe el mantenimiento del equipo.
3	Extraiga las muestras y los reactivos del almacenamiento.
4	Inicie la serie analítica y seleccione HIV-1 y HIV-1-qual-DBS.
5	Escanee las tarjetas de parámetros para HIV-1. *Pueden utilizarse los mismos kits tanto para HIV-1 como para HIV-1-qual-DBS.*
6	Cargue las muestras.
7	Cree la petición de trabajo: • Con LIS: confirme la petición de trabajo. • Sin LIS: cree la petición de trabajo.
8	Cargue el material fungible.
9	Cargue los reactivos para la preparación de las muestras.

10	Cargue los reactivos de AMP/DET y los controles. *Para HIV-1:* • *Se requieren el QS y los controles L(+)C, H(+)C y (–)C del kit de amplificación/detección y del kit de control, respectivamente.* *Para HIV-1-qual-DBS:* • *El asistente del software solicitará la carga del QS, el cual se utiliza como el control interno (IC).* • *El asistente del software también solicitará la carga de los controles L(+)C y (–)C del kit de control. El control H(+)C no se requiere para HIV-1-qual-DBS.*
11	Inicie la serie de preparación de las muestras.
12	Descargue la microplaca.
13	Selle la microplaca.
14	Cargue la microplaca sellada en el analizador.
15	Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción.
16	Revise los resultados. • Opcional: Si hay conexión con el LIS, envíe los resultados al LIS. *En los resultados para HIV-1-qual-DBS, el QS se comunica como el IC y el L(+)C se comunica como el control positivo.*
17	Descargue el analizador.

Los flujos de trabajo correspondientes al modo individual de la prueba cuantitativa del VIH-1 y la serie combinada de la prueba cuantitativa del VIH-1 con la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) se describen, respectivamente, en los dos apartados siguientes.

Para obtener una descripción detallada del modo individual de la prueba cuantitativa del VIH-1, consulte el apartado Flujo de trabajo del modo individual – prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS).

Flujo de trabajo del modo individual – prueba cuantitativa del VIH-1

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

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

4. Inicie una serie nueva y seleccione el tipo de prueba HIV-1.
5. Siga las instrucciones de la guía del asistente del software y escanee las tarjetas de parámetros de los rangos de control y los coeficientes de calibración.

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

6. Cargue las muestras. Pueden cargarse tubos primarios o secundarios; el volumen de muestra mínimo depende del tipo de tubo y de su tamaño. Consulte el apartado "Tubos de muestra compatibles" para obtener información detallada.

   Las muestras de plasma y plasma diluido pueden cargarse en el transportador de muestras de 24 o de 32 posiciones. Las muestras **PSC** solo pueden cargarse en el transportador de muestras de 32 posiciones.

7. Cree la petición de trabajo. Existen tres formas de crear una petición:

   - Mediante el editor de muestras antes de cargar la bandeja de muestras en el **cobas x** 480 instrument (botón "Editor" a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario. El tipo de muestra debe seleccionarse como plasma, plasma diluido o **PSC**. Después de seleccionar el tipo de muestra, el resultado solicitado se define automáticamente como HIV-1.
   - Mediante las instrucciones del asistente del software para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el **cobas x** 480 instrument cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y deben definirse el tipo de muestra y los resultados solicitados para cada muestra. Cuando seleccione el tipo de muestra, seleccione plasma, plasma diluido o **PSC** según corresponda. Después de seleccionar el tipo de muestra, el resultado solicitado se define automáticamente como HIV-1.
   - Mediante el sistema LIS de su centro.

Nota: seleccione el tipo de muestra correcto. El software no comprueba si la selección del tipo de muestra se corresponde con la muestra cargada. Por ejemplo, si se carga una muestra PSC, asegúrese de seleccionar el tipo de muestra PSC (y no plasma o plasma diluido).

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

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

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

   - Leer el código de barras de la botella de reactivo
   - Leer el código de barras del depósito de reactivo
   - Verter el reactivo en el depósito (el vial de MGP debe agitarse antes de la dispensación)
   - Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

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

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

10. Cargue los viales de los reactivos de amplificación/detección [MMX R2, MMX R1 y RNA QS], los viales de control [L(+)C, H(+)C y (–)C] y los viales de reactivos genéricos [P 2 y SD 2 según corresponda] directamente en la bandeja de reactivos.

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

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

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

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

Flujo de trabajo de la serie combinada – pruebas cuantitativa y cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS)

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

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

4. Inicie una serie nueva y seleccione los tipos de prueba HIV-1 y HIV-1-qual-DBS.

   El tipo de prueba HIV-1 se corresponde con la prueba cuantitativa del VIH-1 y HIV-1-qual-DBS se corresponde con la prueba cualitativa del VIH-1.

   En una serie combinada pueden mezclarse los tipos de prueba HIV-1, HIV-1-qual-DBS, CMV, HCV y HCV GT. En cada serie del modo de serie combinada pueden mezclarse hasta cuatro pruebas.

   En este apartado se describe una serie combinada que incluye solo los tipos de prueba HIV-1 y HIV-1-qual-DBS. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para conocer los flujos de trabajo genéricos de las series combinadas.

5. Tanto HIV-1 como HIV-1-qual-DBS utilizan el kit de amplificación/detección y el kit de control HBV/HCV/HIV-1. En una serie combinada con las pruebas HIV-1 y HIV-1-qual-DBS se puede utilizar un solo kit de amplificación/detección y un solo kit de control. Para HIV-1 se requieren parámetros de los rangos de control y los coeficientes de calibración. Siga las instrucciones de la guía del asistente del software y escanee las tarjetas de parámetros de los rangos de control y los coeficientes de calibración.

   Si se utilizan varios kits del kit de amplificación/Detección o del kit de control para una serie combinada HIV-1 y HIV-1-qual-DBS, asegúrese de escanear las tarjetas de parámetros de los rangos de control y los coeficientes de calibración para los reactivos que se utilizarán para HIV-1. No es necesario escanear las tarjetas de los kits usados para HIV-1-qual-DBS.

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

6. Cargue las muestras. Pueden cargarse tubos primarios o secundarios; el volumen de muestra mínimo depende del tipo de tubo y de su tamaño. Consulte el apartado “Tubos de muestra compatibles” para obtener información detallada.

   Las muestras de plasma y plasma diluido pueden cargarse en el transportador de muestras de 24 o de 32 posiciones. Las muestras **PSC** y DBS solo pueden cargarse en el transportador de muestras de 32 posiciones.

7. Cree la petición de trabajo. Existen tres formas de crear una petición:

   - Mediante el editor de muestras antes de cargar la bandeja de muestras en el **cobas x** 480 instrument (botón “Editor” a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario. El tipo de muestra debe seleccionarse como plasma, plasma diluido, **PSC** o DBS, según corresponda. A continuación se define automáticamente el resultado solicitado como HIV-1 para plasma, plasma diluido o **PSC** y como HIV-1-qual-DBS para DBS.
   - Mediante las instrucciones del asistente del software para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el **cobas x** 480 instrument cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y deben definirse el tipo de muestra y los resultados solicitados para cada muestra. Cuando seleccione el tipo de muestra, seleccione plasma, plasma diluido, **PSC** o DBS, según corresponda. Después de seleccionar el tipo de muestra, se define automáticamente el resultado solicitado como HIV-1 para plasma, plasma diluido o **PSC** y como HIV-1-qual-DBS para DBS.
   - Mediante el sistema LIS de su centro.

Nota: seleccione el tipo de muestra correcto. El software no comprueba si la selección del tipo de muestra se corresponde con la muestra cargada. Por ejemplo, si se carga una muestra PSC, asegúrese de seleccionar el tipo de muestra PSC (y no plasma, plasma diluido o DBS).

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

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

9. Cargue los reactivos para la preparación de las muestras en los depósitos de reactivos con código de barras. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del software para seleccionar el tamaño correcto de depósito de reactivo. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben estar colocados frente al lateral derecho de la bandeja. Utilice el método de doble identificación y llenado para cargar los reactivos para la preparación de las muestras:
   - Leer el código de barras de la botella de reactivo
   - Leer el código de barras del depósito de reactivo
   - Verter el reactivo en el depósito (el vial de MGP debe agitarse antes de la dispensación)
   - Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

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

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

10. Cargue los viales de los reactivos de amplificación/detección [MMX R2, MMX R1 y RNA QS], los viales de control [L(+)C, H(+)C y (–) C para HIV-1 y L(+)C y (–) C para HIV-1-qual-DBS] y los viales de reactivos genéricos [P 2 y SD 2 según corresponda] directamente en la bandeja de reactivos.

    Los tipos de prueba HIV-1 y HIV-1-qual-DBS requieren su propio juego de viales de reactivos de amplificación/Detección y de viales de control, y cada juego puede proceder del mismo kit o de kits distintos.

    Para HIV-1-qual-DBS, el software solicita al usuario que cargue el QS. Este QS se utiliza como control interno (IC) y se comunica como IC en los resultados.

    También para HIV-1-qual-DBS, el software solicita al usuario que cargue el L(+)C. Este L(+)C se usa como control positivo y se comunica como control positivo en los resultados. El control H(+)C no se requiere para HIV-1-qual-DBS.

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

11. Inicie la serie de preparación de las muestras.

12. Si la serie de preparación de las muestras se realiza correctamente, los botones "Sample Preparation results" y "Unload" se muestran disponibles. Si lo desea, seleccione el botón "Sample Preparation results" para revisar los resultados y luego seleccione "Unload" para descargar los transportadores de placas. También puede seleccionar "Unload" para descargar el transportador de placas sin revisar los resultados. Consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

13. Después de descargar la microplaca, siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para sellar y transferir la placa al **cobas z** 480 analyzer.

14. Cargue la microplaca en el analizador e inicie la serie de amplificación y detección tal como indique la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

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

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

Resultados de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

El **cobas**® 4800 System determina automáticamente la concentración de ARN del HIV-1 en muestras y controles. La concentración de ARN del VIH-1 se expresa en copias por mililitro (cp/ml) o Unidades Internacionales por mililitro (UI/ml). El factor de conversión para la prueba **cobas**® HIV-1 es de 0,6 cp/UI.

Control de calidad y validez de los resultados de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

- Con cada lote se procesan un control negativo (–) C y dos controles positivos, un control positivo bajo HBV/HCV/HIV-1 L(+)C y un control positivo alto HBV/HCV/HIV-1 H(+)C.
- Compruebe la validez de la serie en el **cobas**® 4800 Software y/o en el informe.
- El **cobas**® 4800 software invalida automáticamente los resultados cuando fallan los controles positivos y negativos.

Interpretación de los resultados de control de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

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

Control negativo	Resultado	Interpretación
(–) C	Target Not Detected	El control es válido. No se ha detectado ARN del VIH-1.
	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	**Resultado**	**Interpretación**
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	Título	El control es válido. El título calculado está dentro del rango de control.
	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	Título	El control es válido. El título calculado está dentro del rango de control.
	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

Interpretación de los resultados de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

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

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

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

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

HIV-1	Notificación e interpretación de los resultados
Target Not Detected	No se ha detectado ARN del VIH. Los resultados se indican como “VIH no detectado”.
< Titer Min	El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLoQ) del ensayo. Los resultados se indican como “VIH detectado, inferior a (título mínimo)”. Título mínimo = 2,00E+01 cp/ml y 3,33E+01 UI/ml (400 µl de plasma) Título mínimo = 6,00E+01 cp/ml y 1,00E+02 UI/ml (200 µl de plasma diluido) Título mínimo = 5,99E+02 cp/ml y 9,98E+02 UI/ml (muestras **PSC**)
Título	El título calculado está comprendido en el intervalo lineal del ensayo: mayor o igual que el título mínimo y menor o igual que el título máximo. Los resultados se indican como “(Título) de VIH-1 detectado”.
> Titer Max[a]	El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULoQ) del ensayo. Los resultados se indican como “VIH detectado, superior a (título máximo).” Título máximo = 1,00E+07 cp/ml y 1,67E+07 UI/ml (400 µl de plasma, 200 µl de plasma diluido y muestras **PSC**)
Invalid	El fragmento objetivo no es válido, el control interno no es válido o es negativo o un control externo no es válido.

[a] Un resultado de muestra “> Titer Max” hace referencia a las muestras positivas para VIH-1 detectadas con títulos superiores al límite de cuantificación superior (ULoQ). Si se desea obtener un resultado cuantitativo, debe diluirse la muestra original con plasma conservado en EDTA negativo para el VIH-1 y repetirse la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

Lista de avisos de resultados de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

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

Tabla 3: Lista de avisos

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

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

[b] Este aviso incluye todas las situaciones en las que el control externo no es válido (identificación o título del fragmento objetivo).

Nota: para conocer todos los avisos del sistema, consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

Limitaciones del procedimiento

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

Evaluación no clínica del rendimiento de la prueba cuantitativa cobas® HIV-1

Características clave de rendimiento para muestras de plasma conservado en EDTA

Límite de detección (LoD) para muestras de plasma conservadas en EDTA

El límite de detección de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar internacional de la OMS para ARN del VIH-1 en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (segundo estándar internacional de la OMS) para el grupo M subtipo B obtenido de NIBSC, en plasma conservado en EDTA negativo para el VIH con volúmenes de procesamiento de muestras de 400 µl y 200 µl. Se analizaron paneles con seis niveles de concentración más uno negativo con tres lotes de reactivos de la prueba **cobas**® HIV-1, múltiples series analíticas, días, usuarios y equipos.

Los resultados del plasma conservado en EDTA correspondientes a los dos volúmenes de procesamiento se resumen en la Tabla 4 y la Tabla 5. El estudio demuestra que la prueba **cobas**® HIV-1 es capaz de detectar ARN del VIH-1 con una tasa de positividad ≥ 95%, según el análisis de PROBIT, en una concentración de 14,2 cp/ml (23,7 UI/ml) para el volumen de procesamiento de muestras de 400 µl y en una concentración de 43,9 cp/ml (73,4 UI/ml) para el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl.

Tabla 4: Límite de detección en plasma conservado en EDTA (400 µl)

Concentración del título de entrada (ARN del VIH-1 cp/ml)	Concentración del título de entrada (ARN del VIH-1 UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
60,0	100,0	252	252	100,0%
30,0	50,0	251	251	100,0%
20,0	33,3	252	247	98,0%
10,0	16,7	252	227	90,1%
5,0	8,3	252	160	63,5%
2,0	3,3	252	86	34,1%
0,0	0,0	71	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%		14,2 cp/ml; intervalo de confianza del 95%: 12,5-16,6 cp/ml 23,7 UI/ml; intervalo de confianza del 95%: 20,8-27,7 UI/ml)		

Tabla 5: Límite de detección en plasma conservado en EDTA (200 µl)

Concentración del título de entrada (ARN del VIH-1 cp/ml)	Concentración del título de entrada (ARN del VIH-1 UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
100,0	166,7	251	251	100,0%
60,0	100,0	251	249	99,2%
30,0	50,0	251	227	90,4%
15,0	25,0	250	172	68,8%
7,0	11,7	250	110	44,0%
3,5	5,8	250	83	33,2%
0,0	0,0	68	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%		43,9 cp/ml; intervalo de confianza del 95%: 37,7-52,7 cp/ml 73,4 UI/ml; intervalo de confianza del 95%: 62,9-88,1 UI/ml)		

Intervalo lineal para muestras de plasma conservadas en EDTA

La linealidad de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis con una serie de diluciones formadas por un panel de 12 miembros (volumen de procesamiento de muestras de 400 µl) y un panel de 11 miembros (volumen de procesamiento de muestras de 200 µl) en los que el grupo M subtipo B predominante del VIH-1 abarcaba el intervalo lineal del ensayo. Los miembros del panel se prepararon a partir de muestras de sobrenadante de cultivos celulares positivos para el ARN del VIH-1.

Para el volumen de procesamiento de 400 µl, la prueba **cobas**® HIV-1 fue lineal de 20,0 cp/ml a 1,00E+07 cp/ml (33,3 UI/ml a 1,67E+07 UI/ml) y presentó una desviación máxima respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a ± 0,07 $\log_{10}$ (consulte la Ilustración 15). En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida entre ± 0,18 $\log_{10}$.

Para el volumen de procesamiento de 200 µl, la prueba **cobas**® HIV-1 fue lineal de 60,0 cp/ml a 1,00E+07 cp/ml (100,0 UI/ml a 1,67E+07 UI/ml) y presentó una desviación máxima respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a ± 0,08 $\log_{10}$ (consulte la Ilustración 16). En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida entre ± 0,19 $\log_{10}$.

Ilustración 15: Determinación del intervalo lineal en plasma conservado en EDTA (400 µl)

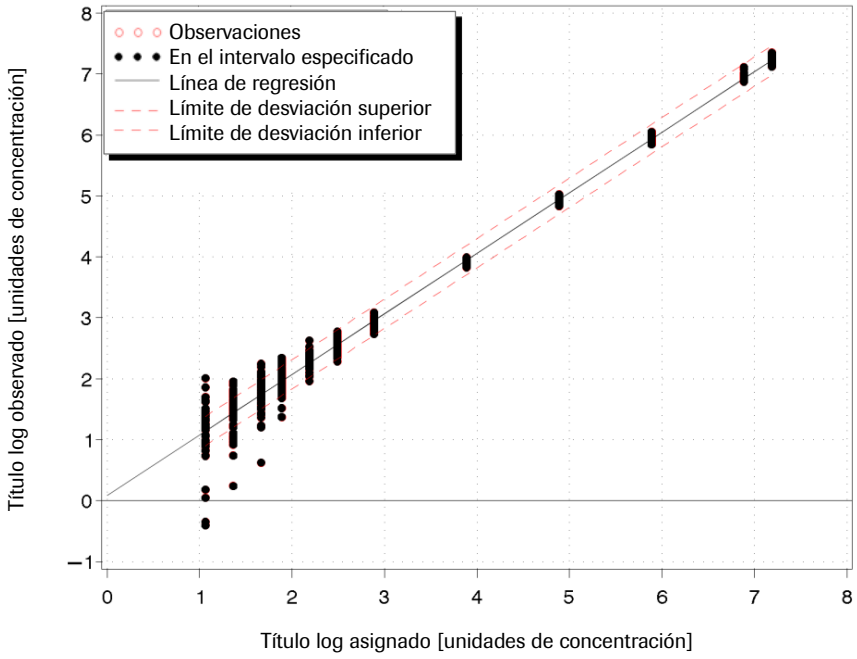
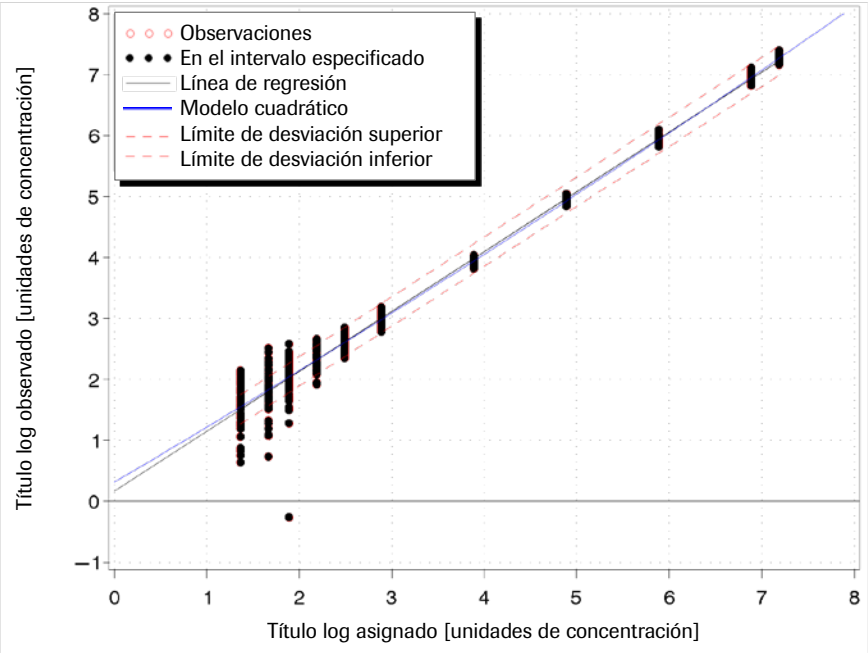


Ilustración 16: Determinación del intervalo lineal en plasma conservado en EDTA (200 µl)



Precisión intralaboratorio para muestras de plasma conservadas en EDTA

La precisión de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de una muestra positiva alta para VIH-1 (grupo M subtipo B; cultivos de virus) en plasma conservado en EDTA negativo para el VIH. Se analizaron siete niveles de dilución (volumen de procesamiento de muestras de 400 µl) y cinco niveles de dilución (volumen de procesamiento de muestras de 200 µl) en 16 réplicas para cada nivel y volumen de procesamiento de muestras con tres lotes de los reactivos de la prueba **cobas**® HIV-1 en tres instrumentos distintos y con cuatro usuarios diferentes durante 15 días. Los resultados se muestran en la Tabla 6 y la Tabla 7.

La prueba **cobas**® HIV-1 presentó una precisión excelente para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración de 1,0E+02 cp/ml a 2,00E+07 cp/ml con un volumen de procesamiento de muestras de 400 µl y de 1,00E+04 cp/ml a 2,00E+07 cp/ml con un volumen de procesamiento de muestras de 200 µl.

Tabla 6: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HIV-1 (muestras de plasma conservado en EDTA – volumen de procesamiento de muestras de 400 µl)[a]

Concentración nominal (cp/ml)	Concentración asignada (cp/ml)	Material de origen	Plasma conservado en EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
			SD	SD	SD	SD agrupada
2,0E+07	1,54E+07	Cultivo celular	0,05	0,05	0,04	0,05
1,0E+06	7,70E+05	Cultivo celular	0,05	0,05	0,05	0,05
1,0E+05	7,70E+04	Cultivo celular	0,05	0,05	0,05	0,05
1,0E+04	7,70E+03	Cultivo celular	0,04	0,06	0,07	0,06
1,0E+03	7,70E+02	Cultivo celular	0,09	0,10	0,07	0,09
4,0E+02	3,08E+02	Cultivo celular	0,08	0,10	0,09	0,09
1,0E+02	7,70E+01	Cultivo celular	0,18	0,24	0,15	0,19

[a] Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de $\log_{10}$. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.

Tabla 7: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HIV-1 (muestras de plasma conservado en EDTA – volumen de procesamiento de muestras de 200 µl)[a]

Concentración nominal (cp/ml)	Concentración asignada (cp/ml)	Material de origen	Plasma conservado en EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
			SD	SD	SD	SD agrupada
2,0E+07	1,54E+07	Cultivo de virus	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E+07	7,70E+06	Cultivo de virus	0,04	0,04	0,04	0,04
1,0E+06	7,70E+05	Cultivo de virus	0,03	0,04	0,05	0,04
1,0E+05	7,70E+04	Cultivo de virus	0,04	0,05	0,03	0,04
1,0E+04	7,70E+03	Cultivo de virus	0,05	0,04	0,04	0,04

[a] Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de $\log_{10}$. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.

Verificación de grupo/subtipo para muestras de plasma conservadas en EDTA

Se evaluó el rendimiento de la prueba **cobas**® HIV-1 para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N del VIH-1 mediante:

- Verificación del límite de detección para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N
- Verificación de la linealidad para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N
- Asignación de título realizada mediante **cobas**® HIV-1.

Verificación del límite de detección para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N

Se diluyeron cultivos de muestras del VIH-1 para VIH-1 M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1 O y VIH-1 N en plasma conservado en EDTA utilizando la concentración LoD del grupo/subtipo predominante (VIH-1 M subtipo B) según el análisis de LoD de la tasa de positividad del 95% (20,0 cp/ml). El análisis de la tasa de positividad se realizó con 42 réplicas de cada grupo/subtipo. Estos resultados verifican que la prueba **cobas**® HIV-1 es capaz de detectar el VIH para VIH-1 M (A, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1 O y VIH-1 N en la concentración de 20 cp/ml con un intervalo de confianza unilateral superior del 95% mayor que la tasa de positividad esperada del 95%.

Tabla 8: Verificación del LoD para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N del VIH-1 en 400 µl de plasma conservado en EDTA

Grupo/Subtipo	Concentración analizada: 20,0 cp/ml		
	Número de réplicas positivas	Número de réplicas válidas	Tasa de posit. en % (IC unilateral superior del 95%)
M A	39	42	92,86% (98,02%)
C	42	42	100% (100%)
D	41	42	97,62% (99,88%)
F	39	42	92,86% (98,02%)
G	38	42	90,48% (96,68%)
H	41	42	97,62% (99,88%)
CRF01_AE	40	42	95,24% (99,15%)
CRF02_AG	41	42	97,62% (99,88%)
O	39	42	92,86% (98,02%)
N	41	42	97,62% (99,88%)

Verificación del intervalo de linealidad para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de los subtipos de la prueba **cobas**® HIV-1 de un panel de siete miembros con el que se cubre el intervalo lineal. Los miembros del panel se prepararon a partir de muestras de sobrenadante de cultivos celulares positivos para el ARN del VIH-1 de título elevado del grupo/subtipo respectivo. El intervalo lineal analizado de la prueba **cobas**® HIV-1 abarcaba desde el LLoQ (20,0 cp/ml para un volumen de procesamiento de muestras de 400 µl) hasta el ULoQ (1,0E+07 cp/ml) e incluía al menos dos puntos de decisión médica. Se analizaron 12 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se verificó el intervalo lineal de la prueba **cobas**® HIV-1 para los subtipos del grupo M, el grupo O y el grupo N. La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue inferior a 0,12 $\log_{10}$.

Especificidad para muestras de plasma conservadas en EDTA

La especificidad de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de muestras de plasma conservadas en EDTA negativas para el VIH obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 614 muestras individuales de plasma conservado en EDTA con tres lotes de reactivo de **cobas**® HIV-1. Todas las muestras dieron negativo para ARN del VIH-1. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba **cobas**® HIV-1 fue del 100,0% [el límite inferior del intervalo de confianza unilateral del 95% (Clopper Pearson) fue del 99,5%].

Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba **cobas**® HIV-1 se evaluó mediante la dilución de un panel de patógenos en plasma conservado en EDTA positivo para ARN del VIH y negativo para ARN del VIH (Tabla 9). Los patógenos se añadieron al plasma conservado en EDTA negativo al virus y se analizaron con y sin ARN del VIH. Ninguno de los patógenos distintos del VIH interfirió en el rendimiento de la prueba. La prueba **cobas**® HIV-1 generó resultados negativos para todas las muestras de patógenos sin fragmento objetivo del VIH-1 y resultados positivos para todas las muestras de patógenos con fragmento objetivo del VIH-1. Además, el título $\log_{10}$ medio de cada una de las muestras positivas para el VIH-1 con organismos de posible reacción cruzada se situó en ± 0,32 $\log_{10}$ del título $\log_{10}$ medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 9: Patógenos analizados para reactividad cruzada

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

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (27,9-29,0 g/l), bilirrubina conjugada (0,18-0,22 g/l), bilirrubina no conjugada (0,19-0,2 g/l), albúmina (57,8-60,6 g/l), hemoglobina (1,8-2,3 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras en presencia y ausencia de ARN del VIH. El análisis de las sustancias demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba **cobas**® HIV-1. Asimismo, se analizó la presencia de marcadores de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y anticuerpos antinucleares (ANA).

Además, se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 10 con una concentración tres veces superior a la Cmax tanto en presencia como en ausencia de ARN del VIH.

Se ha demostrado que ninguna de las posibles sustancias interferentes afecta al rendimiento de la prueba. La prueba **cobas**® HIV-1 generó resultados negativos para todas las muestras sin fragmento objetivo del VIH y resultados positivos para todas las muestras con fragmento objetivo del VIH-1. Además, el título $\log_{10}$ medio de cada una de las muestras positivas para el VIH-1 con sustancias potencialmente interferentes se situó en ± 0,20 $\log_{10}$ del título $\log_{10}$ medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 10: Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia mediante cuantificación del ARN del VIH con la prueba cobas® HIV-1

Clase de fármaco	Nombre genérico del fármaco	
Moduladores del sistema inmunológico	Peginterferón α-2a	Ribavirina
	Peginterferón α-2b	
Inhibidor de la entrada del VIH	Maraviroc	
Inhibidores de la integrasa del VIH	Elvitegravir/Cobicistat	Raltegravir
Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos del VIH	Efavirenz	Nevirapina
	Etravirina	Rilpivirina
Inhibidores de la proteasa del VIH	Atazanavir	Nelfinavir
	Darunavir	Ritonavir
	Fosamprenavir	Saquinavir
	Lopinavir	Tipranavir
Inhibidores de la proteasa del VHC	Boceprevir	Telaprevir
	Simeprevir	
Inhibidores de la transcriptasa inversa o de la polimerasa de ADN	Abacavir	Ganciclovir
	Aciclovir	Lamivudina
	Adefovir dipivoxil	Sofosbuvir
	Cidofovir	Telbivudina
	Emtricitabina	Tenofovir
	Entecavir	Valganciclovir
	Foscarnet	Zidovudina
Compuestos para el tratamiento de infecciones oportunistas	Azitromicina	Pirazinamida
	Claritromicina	Rifabutina
	Etambutol	Rifampicina
	Fluconazol	Sulfametoxazol
	Isoniazida	Trimetoprima

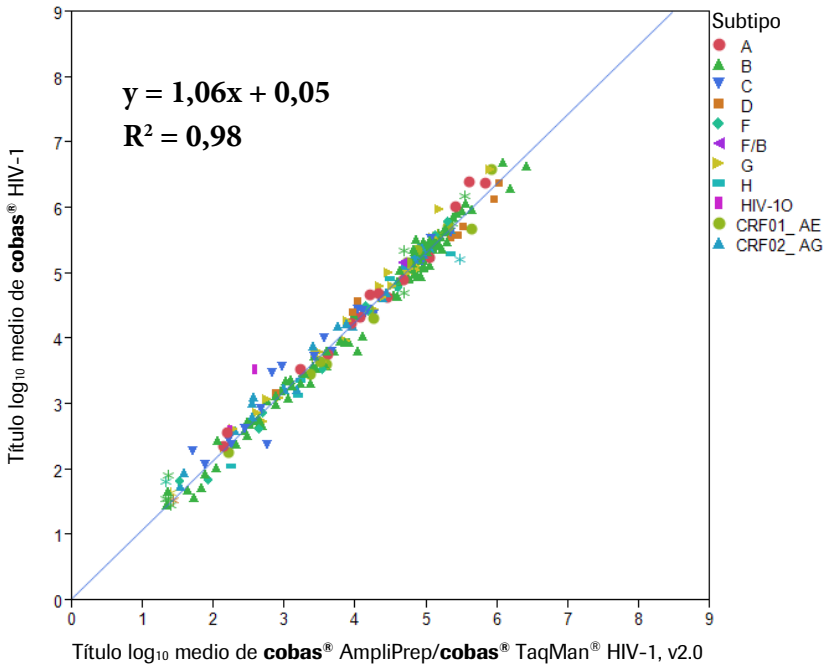
Correlación de métodos para muestras de plasma conservadas en EDTA

Evaluación del rendimiento de la prueba cobas® HIV-1 en comparación con la prueba COBAS® AmpliPrep/ COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0

Se comparó el rendimiento de la prueba **cobas**® HIV-1 y la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 (prueba TaqMan® HIV-1, v2.0) mediante el análisis de 243 muestras de plasma conservado en EDTA de pacientes infectados por el VIH-1. Las muestras que contenían VIH-1 M (A-D, F-H, F/B, CRF01_AE, CRF02_AG) y VIH-1 O se analizaron por duplicado en un laboratorio externo. Se realizó una regresión de Deming con los títulos log-transformados.

En la Ilustración 17 se muestran los resultados de la regresión de Deming. El símbolo * de las ilustraciones indica una única determinación. El color representa el subtipo.

Ilustración 17: Comparación del análisis de regresión entre las pruebas cobas® HIV-1 y TaqMan® HIV-1, v2.0 en muestras de plasma conservado en EDTA



Fallo de todo el sistema para muestras de plasma conservadas en EDTA

La tasa de fallo de todo el sistema de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA al que se añadió VIH-1 grupo M subtipo B. Dichas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 × LoD.

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el fragmento objetivo del VIH-1, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0,0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0,0% para el límite inferior y del 3,6% para el límite superior [0%: 3,6%].

Contaminación cruzada para muestras de plasma conservadas en EDTA

La tasa de contaminación cruzada de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de 230 réplicas de muestras de plasma conservado en EDTA negativo al VIH y 235 réplicas de una muestra de VIH-1 con un título alto de 1,9E+07 cp/ml. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

Las 230 réplicas de las muestras negativas resultaron negativas, por lo que la tasa de contaminación cruzada fue del 0,0% (intervalo de confianza unilateral superior del 95% del 1,3%).

Características clave de rendimiento para muestras de plasma seco de PSC

Límite de detección (LoD)

El límite de detección de la prueba **cobas**® HIV-1 en combinación con la **PSC** se determinó mediante el análisis de títulos de plasma asignados a diluciones en serie del sobrenadante del cultivo celular del grupo M del VIH-1 en sangre total humana negativa para VIH. Se analizaron paneles con cinco niveles de concentración más uno negativo con tres lotes de muestras de **PSC** y tres lotes de reactivos de la prueba **cobas**® HIV-1, con múltiples series analíticas, días, operadores

e instrumentos. Se centrifugaron muestras del miembro del panel más alto y la asignación del título del plasma se realizó mediante el método de calibradores de referencia (CBM) a través de la prueba **cobas**® HIV-1 con el tercer estándar internacional de la OMS para el VIH-1, grupo M, subtipo B, del VIH-1 para la preparación de los calibradores alto y bajo.

Los resultados combinados de estos tres lotes de **PSC**, donantes negativos y series de dilución con asignaciones de títulos de plasma individuales (CBM) se muestran en la tabla 11. El estudio demuestra que la prueba **cobas**® HIV-1 en combinación con la **PSC** detectó el ARN del VIH-1 a una concentración de 598,6 cp/ml (997,7 UI/ml) con una tasa de positividad del 95%, según determinan los análisis Probit.

Tabla 11: Límite de detección en combinación con la PSC

Concentración del título de plasma asignado (ARN del VIH-1 cp/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
2356,6	63	63	100,0%
1970,4	63	63	100,0%
2262,4	63	63	100,0%
1177,4	63	63	100,0%
984,5	63	62	98,4%
1130,3	63	63	100,0%
783,8	63	60	95,2%
655,3	63	63	100,0%
752,4	62	61	98,4%
391,9	63	58	92,1%
327,7	63	54	85,7%
376,2	62	41	66,1%
195,9	63	33	52,4%
163,8	63	32	50,8%
188,1	63	25	39,7%
0	144	1	0,7%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	598,6 cp/ml; intervalo de confianza del 95%: 526,4-707,0 cp/ml 997,7 UI/ml; intervalo de confianza del 95%: 877,3-1.178,3 UI/ml		

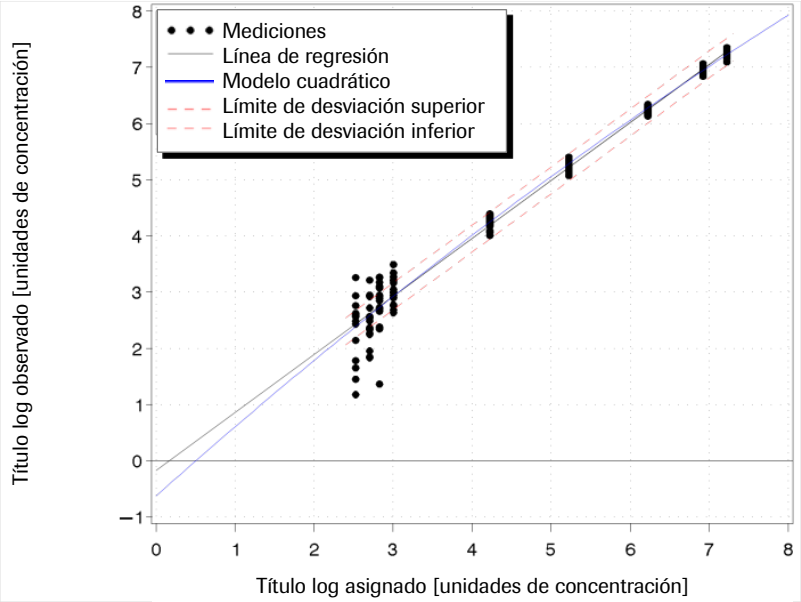
Intervalo lineal con la PSC

El estudio de linealidad de la prueba **cobas**® HIV-1 en combinación con la **PSC** se llevó a cabo con una serie de diluciones formadas por un panel 9 miembros con el que se cubría el intervalo lineal del grupo M, subtipo B, del VIH-1. Los miembros del panel se prepararon a partir de una muestra de sobrenadante de cultivos celulares positivos para ARN del VIH-1 de título elevado. La evaluación se realizó según las directrices del EP06-A del CLSI.[21] Se analizaron dos lotes de **PSC** y dos lotes de reactivo en dos **cobas**® 4800 Systems, con un operador y un total de 20 réplicas por miembro del panel y lote de reactivo/**PSC**.

Se centrifugaron muestras de un miembro del panel y la asignación del título del plasma se realizó mediante el método de calibradores de referencia (CBM) a través de la prueba **cobas**® HIV-1 con el tercer estándar internacional de la OMS para el grupo M, subtipo B, del VIH-1 para la preparación del calibrador alto y bajo.

En combinación con la **PSC**, la prueba **cobas**® HIV-1 es lineal de 599 cp/ml a 1,00E+07 cp/ml (de 998 UI/ml a 1,67E+07 UI/ml) y presenta una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a ± 0,07 $\log_{10}$ con la **PSC** (consulte la ilustración 18). En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida dentro de una desviación ± 0,04 $\log_{10}$ respecto al ajuste de la regresión lineal.

Ilustración 18: Determinación del intervalo lineal con la PSC



Precisión intralaboratorio con la PSC

La precisión de la prueba **cobas**® HIV-1 en combinación con la **PSC** se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de una muestra positiva alta para VIH-1 (muestra de sobrenadante de cultivo celular positiva para el ARN del VIH-1 de título elevado) en sangre total negativa para el VIH. Se analizaron cinco niveles de dilución en 48 réplicas para cada nivel en dos lotes de **PSC** y dos lotes de reactivos para la prueba **cobas**® HIV-1 en dos instrumentos diferentes y con dos usuarios distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al flujo de trabajo de **PSC** y al procedimiento de la prueba **cobas**® HIV-1 completos en los **cobas**® 4800 Systems. Los resultados de precisión mostrados en este documento engloban todos los aspectos del procedimiento de la prueba. Los resultados se muestran en la tabla 12.

La prueba **cobas**® HIV-1 en combinación con la **PSC** mostró una elevada precisión para dos lotes de **PSC** y reactivos analizados en un intervalo de concentración de 1,50E+03 cp/ml a 1,00E+07 cp/ml.

Tabla 12: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HIV-1 en combinación con la PSC

Concentración nominal (cp/ml)	Título de log_{10} medio observado	Material de origen	PSC		
			Lote 1	Lote 2	Todos los lotes
			SD	SD	SD agrupada
1,0E+07	6,98	Cultivo celular	0,08	0,07	0,08
1,0E+06	5,92	Cultivo celular	0,09	0,09	0,09
1,0E+05	4,88	Cultivo celular	0,09	0,11	0,10
1,0E+04	3,97	Cultivo celular	0,17	0,14	0,16
1,5E+03	3,19	Cultivo celular	0,26	0,19	0,23

Tasa de fallo de todo el sistema con la PSC

La tasa de fallo de todo el sistema de la prueba **cobas**® HIV-1 en combinación con la **PSC** se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de sangre total a la que se añadió subtipo B del grupo M del VIH-1. Dichas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 × LoD.

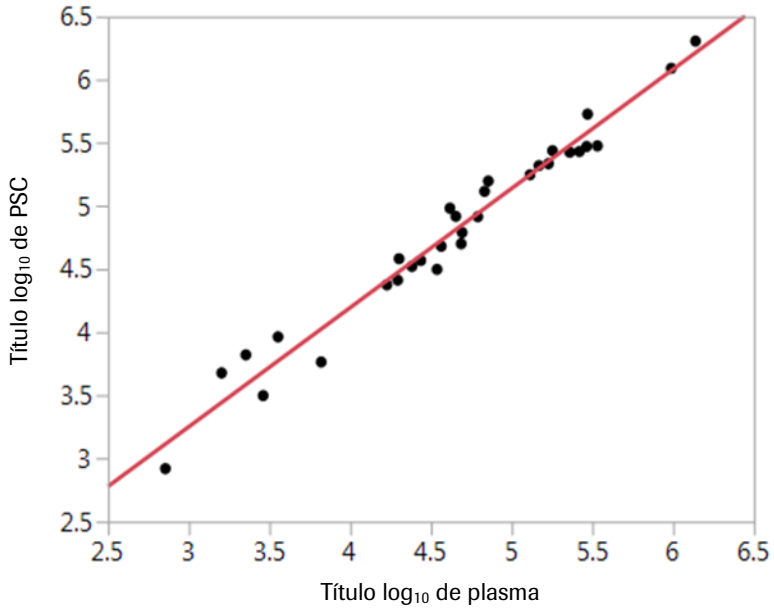
Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el fragmento objetivo del VIH-1, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0,0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0,0% para el límite inferior y del 3,6% para el límite superior [0%: 3,6%].

Rendimiento de las muestras de plasma seco procedentes de una PSC en comparación con las muestras de plasma

El rendimiento de las muestras de plasma seco procedentes de una **PSC** se comparó con las muestras de plasma conservado en EDTA centrifugadas mediante el análisis de 31 muestras procedentes de pacientes infectados por el VIH-1. Las muestras se analizaron con una réplica de cada (muestra de plasma seco de **PSC** y plasma conservado en EDTA). Los títulos inferiores al intervalo de cuantificación se excluyeron del análisis. Se realizó una regresión de Deming con los títulos log-transformados.

En la Ilustración 19 y en la Tabla 13 se muestran los resultados de la regresión de Deming.

Ilustración 19: Regresión de Deming



Resumen del ajuste	
Rcuadrado	0,97
Rcuadrado ajustado	0,97
Raíz del error cuadrático medio	0,14
Media de respuesta	4,81
Observaciones (o suma de ponderaciones)	31,00

Tabla 13: Resumen de datos estadísticos

Equivalencia de matriz (tipo de plasma)	**Número de muestras con título válido**	**Análisis de Bland Altman**		**Análisis de regresión de Deming**		
		Diferencia de log_{10} medio	**IC del 95% [inferior/superior]**	**Pendiente**	**Punto de intersección**	**R cuadrado**
PSC y plasma líquido	31	0,15	[0,10; 0,21]	0,94	0,42	0,97

Resumen y explicación de la prueba cobas® HIV-1 para la detección cualitativa del VIH-1 en muestras de sangre seca

Información de referencia

El VIH es el agente etiológico del Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) con más de 35 millones de personas infectadas[22] en todo el mundo. Tras la seroconversión, las personas infectadas, por lo general, entran en una fase relativamente asintomática, clínicamente estable, que puede prolongarse durante años. Sin un tratamiento antirretroviral, las personas infectadas suelen desarrollar SIDA, que se caracteriza por la disminución de linfocitos CD4+ en el sistema inmune, la propensión a padecer infecciones oportunistas y, finalmente, la muerte.[22]

Motivos para el uso de la prueba cualitativa del VIH-1

Tradicionalmente, la prueba del VIH se ha basado en la respuesta de los anticuerpos que los pacientes presentan ante el virus. Si bien estos anticuerpos no son eficaces a la hora de combatir el virus, se encuentran en casi todos los pacientes con infecciones crónicas.

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos permiten diagnosticar infecciones por VIH durante los primeros 18 meses de vida, periodo durante el cual la sangre del bebé todavía contiene anticuerpos maternos que dificultan la interpretación de las pruebas serológicas. La detección del VIH-1 en muestras de sangre seca puede demostrar la existencia de una infección activa mediante la utilización de tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Explicación de la prueba cualitativa del VIH-1

cobas® HIV-1 puede utilizarse como una prueba de ácidos nucleicos cualitativa que se realiza en el **cobas**® 4800. La prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 permite detectar el ácido nucleico del VIH-1 en DBS de pacientes infectados. Se emplean dos sondas que detectan, pero no discriminan, los subtipos de los grupos M, N y O.

El RNA QS suministrado con este kit funciona como un control interno para supervisar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR en el contexto de la aplicación cualitativa con DBS. Además, la prueba emplea dos controles externos: el control positivo de título bajo y un control negativo (el control positivo alto no se requiere para la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1).

Principios del procedimiento

La prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 se basa en la preparación de muestras totalmente automática (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguida de un proceso de amplificación y detección mediante PCR. El **cobas**® 4800 System incluye el **cobas x** 480 instrument para la preparación de muestras y el **cobas z** 480 analyzer para realizar la PCR a tiempo real. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software **cobas**® 4800, que asigna los resultados a las pruebas como detectados, no detectados o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

Los ácidos nucleicos de las muestras de pacientes, los controles externos y las moléculas del RNA QS (utilizadas como control del proceso de preparación de muestras y amplificación/detección) se extraen simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos víricos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los desechos celulares y posibles inhibidores de la PCR se eliminan en pasos posteriores con el reactivo de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el tampón de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para el fragmento objetivo que se seleccionan de regiones altamente conservadas del VIH. La prueba **cobas**® HIV-1 amplifica el gen gag del VIH-1 y la región LTR del VIH-1 (fragmento objetivo doble). La amplificación selectiva del RNA QS (utilizado y comunicado como control interno para DBS) se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del VIH. Para los procesos de transcripción inversa y amplificación mediante PCR se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias objetivo y de RNA QS se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR con unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo Master Mix incluye trifosfato de desoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).[14-16] La enzima AmpErase, que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se elimina ningún amplicón nuevo porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de la prueba **cobas**® HIV-1 contiene dos sondas de detección específicas para las secuencias objetivo del VIH-1 y una para RNA QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes que permiten la detección simultánea del fragmento objetivo del VIH-1 y el RNA QS en dos canales de detección distintos.[17,18] Cuando no se unen a la secuencia objetivo, las señales fluorescentes de las sondas intactas se eliminan mediante un marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores para los fragmentos objetivo vírico y RNA QS respectivamente.

Materiales y reactivos para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Reactivos

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

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® HIV-1 120 pruebas (P/N: 08792992190)	**MMX R1** (Reactivo 1 de Master Mix para **cobas**®) Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	10 x 1,75 ml	N/A
	HIV-1 MMX R2 (Reactivo 2 de Master Mix para **cobas**® HIV-1) Tampón Tricina, acetato de potasio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de cebadores para VIH, < 0,01% de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el estándar de cuantificación, < 0,01% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para VIH y el estándar de cuantificación, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D (microbiano), < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	10 x 0,5 ml	N/A
	RNA QS usado como control interno (IC) (Estándar de cuantificación del ARN para **cobas**®) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de Armored RNA diferente del VIH que contiene regiones de secuencia específicas del cebador y la sonda (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,1% de azida sódica	10 x 1,75 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit 10 juegos (P/N: 06979572190)	**HBV/HCV/HIV-1 L(+)C usado como control positivo** (Control positivo bajo para **cobas**® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (plásmido) sintético de VHB encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VHC encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VIH 1/2, anticuerpos frente al VHC, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300[b]	10 x 0,75 ml	 **ATENCIÓN** H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272 Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280 Utilice guantes protectores. P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P362 + P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501 Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9 masa reactiva de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1)
	HBV/HCV/HIV-1 H(+)C, no usado para DBS (Control positivo alto para **cobas**® HBV/HCV/HIV-1) < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (plásmido) sintético de VHB encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, < 0,001% de ARN (Armored) sintético de VHC encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VIH 1/2, anticuerpos frente al VHC, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR. 0,1% de conservante ProClin® 300[b]	10 x 0,75 ml	
	(–) C (Control negativo para **cobas**®) Plasma humano normal, no reactivo según pruebas autorizadas para anticuerpos del VIH-1/2, anticuerpos del VHC, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300[b]	10 x 0,75 ml	

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 240 pruebas (P/N: 06979513190)	**MGP 2** (Reactivo 2 de MGP para **cobas**® 4800) Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 x 8 ml	N/A
	EB 2 (Tampón de elución 2 para **cobas**® 4800) Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	10 x 17 ml	
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 960 pruebas (P/N: 06979521190)	**MGP 2** (Reactivo 2 de MGP para **cobas**® 4800) Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 x 16 ml	
	EB 2 (Tampón de elución 2 para **cobas**® 4800) Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	10 x 17 ml	
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 pruebas (P/N: 05235863190)	**WB** (Tampón de lavado para el **cobas**® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado, 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 x 55 ml	N/A
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 pruebas (P/N: 05235871190)	**WB** (Tampón de lavado para el **cobas**® 4800 System) Citrato de sodio dihidratado, 0,05% de N-metilisotiazolona-HCl	10 x 200 ml	N/A
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 240 pruebas (P/N: 06979556190)	**SD 2** (Diluyente de muestras 2 para el **cobas**® 4800 System) Tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	10 x 8 ml	N/A

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 240 pruebas (P/N: 06979530190)	**P 2** (Proteasa 2 para **cobas**® 4800) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa[b]	10 x 1,0 ml	 **PELIGRO** H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLOGÍA/médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 tiocianato de guanidinio 9002-92-0 polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol 39450-01-6 Proteinasa, serina de Tritirachium album
	LYS 2 (Tampón de lisis 2 para **cobas**® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidinio[b], 5% (p/v) de polidocanol[b], 2% (p/v) de ditiotreitol[b], citrato de sodio dihidratado	10 x 27 ml	

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 960 pruebas (P/N: 06979548190)	**P 2** (Proteasa 2 para **cobas**® 4800) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa[b]	10 x 1,0 ml	 **PELIGRO** H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 tiocianato de guanidinio 9002-92-0 polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol 39450-01-6 Proteinasa, serina de Tritirachium album
	LYS 2 (Tampón de lisis 2 para **cobas**® 4800) 43% (p/p) de tiocianato de guanidinio[b], 5% (p/v) de polidocanol[b], 2% (p/v) de ditiotreitol[b], citrato de sodio dihidratado	10 x 84 ml	

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia[a]
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent (P/N: 08064695190)	**SPER** (Reactivo previo a la extracción de muestras **cobas**®) 28% (p/p) de tiocianato de guanidinio[b], 6% (p/v) de polidocanol[b], 1% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	15 x 40 ml	 **PELIGRO** H302: Nocivo por ingestión. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P301 + P330 + P331 EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 tiocianato de guanidinio 9002-92-0 polidocanol

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

[b] Sustancia peligrosa

Requisitos de almacenamiento y manipulación

Reactivo	Temperatura de almacenamiento	Periodo de almacenamiento
cobas® HIV-1	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit	15-25 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Specimen Diluent 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® 4800 System Lysis Kit 2	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
cobas® Specimen Pre-Extraction Reagent	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada

No congele los reactivos.

Material adicional necesario

Material	P/N
Placa de extracción (pocillos profundos) de 2,0 ml para el **cobas**® 4800 System	06884008001
Placa de amplificación y detección (microplaca) de 0,3 ml para el **cobas**® 4800 System	05232724001
Sellador	04900383001
Puntas CORE, 1.000 µl, bandeja de 96	04639642001
Depósito de reactivo de 200 ml	05232759001
Depósito de reactivo de 50 ml	05232732001
Transportador de 24 posiciones	04639502001
Transportador de 32 posiciones	04639529001
Bolsa para residuos sólidos	05530873001 (pequeña) o 04691989001 (grande)
Salida de plástico Hamilton STAR	04639669001
Guantes de laboratorio, sin polvo	Se aceptan todos los tipos de guantes de laboratorio sin polvo.
Agitador (un solo tubo)	Se aceptan todos los tipos de agitadores.
Centrífuga equipada con un rotor para placas basculante con una FCR mínima de 1.500	Se aceptan todos los tipos de centrífugas con características similares.
Fórceps o pinzas estériles o desechables[a]	Puede utilizarse cualquier tipo de pinza.
Muestra de sangre seca (DBS)	Tarjeta de papel de filtro Whatman 903®, tarjeta para la obtención de muestras Munktell TFN o equivalente (diámetro de mancha: 12-13 mm)
Bolsa de muestras (de plástico transparente resellable con cierre hermético) y bolsas desecantes de gel de sílice (para un total de ≥ 0,5 gramos)	N/A
Pipeta (p. ej., pipeta Multistepper)	N/A
Agitador térmico	P. ej., Eppendorf Thermomixer® modelo R 5355, C o equivalente con termobloque para 24 criotubos

Material	P/N
Tubos de polipropileno de 5 ml y 12,5 mm de diámetro con rosca interior y con tapones	P. ej., Greiner Bio-One Cryo.s™

[a] Para evitar la contaminación por arrastre, utilice únicamente un par de fórceps por paciente. Se recomienda utilizar fórceps de metal y esterilizarlos en una autoclave tras cada uso así como pinzas de un solo uso.

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

Glosario de términos simplificados para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

En las instrucciones de uso se utilizan los siguientes términos simplificados como referencia a algunos de los materiales y reactivos especificados en este apartado.

Término simplificado	**Material/Reactivo**
(-)C	**cobas**® Negative Control
Kit de amplificación/detección	**cobas**® HIV-1
Kit de control	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit
DBS	Muestras de sangre seca
Placa de extracción	Placa de extracción (pocillos profundos) de 2,0 ml para el **cobas**® 4800 System
EB 2	**cobas**® 4800 Elution Buffer 2
Kit de control para HBV/HCV/HIV-1	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit
H(+)C	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control
Control positivo alto	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 High Positive Control
L(+)C	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control
Control positivo bajo	**cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Low Positive Control
LYS 2	**cobas**® 4800 Lysis Buffer 2
Microplaca	Placa de amplificación y detección (microplaca) de 0,3 ml para el **cobas**® 4800 System
MGP 2	**cobas**® 4800 MGP Reagent 2
MMX R1	**cobas**® Master Mix Reagent 1
MMX R2	**cobas**® **HIV-1** Master Mix Reagent 2
Control negativo	**cobas**® Negative Control
P 2	**cobas**® 4800 Protease 2
PSC	**cobas**® Plasma Separation Card
QS (comunicado como IC)	**cobas**® RNA Quantitation Standard
SD 2	**cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2
SPER	**cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent
WB	**cobas**® 4800 System Wash Buffer

Instrumentos y software necesarios pero no suministrados para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Instrumentos y software necesarios pero no suministrados
cobas® 4800 System **cobas x** 480 instrument **cobas z** 480 analyzer Unidad de control
Software de la aplicación (core) para el **cobas**® 4800 System versión 2.2.0 o posterior
cobas® 4800 System **cobas**® HIV-1-qual-DBS AP v1.0.0 o posterior

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

Tubos de muestra compatibles con la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Los tubos de muestra compatibles se indican a continuación:

Tubos secundarios para DBS como tipo de muestra

Diámetro nominal (mm)	Volumen de entrada de SPER (volumen de procesamiento de 400 µl)
12,5	700 µl

Para obtener información específica de pedido de tubos de muestra, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Los tubos de muestras para el tipo de muestra DBS solo pueden cargarse en el transportador de muestras de 32 posiciones.

Precauciones y requisitos de manipulación para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico in vitro exclusivamente.
- Todas las muestras de pacientes deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.[19,20] Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba **cobas**® HIV-1-qual-DBS y el **cobas**® 4800 System.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales.

- **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit contiene plasma derivado de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante una prueba para anticuerpos autorizada y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, anticuerpos anti-HBsAg y anticuerpos anti-HBc. El análisis mediante métodos PCR no ha detectado la presencia de ARN del VIH-1 ni del VIH-2, ARN del VHC ni ADN del VHB. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- Evite la exposición del reactivo MGP a fuentes de campos magnéticos.
- **No congele la sangre total ni las muestras almacenadas en tubos primarios.**
- El **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent es sensible a la luz y se suministra en botellas con protección lumínica.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Podrían producirse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer, consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System. Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en la correspondiente Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

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

Buenas prácticas de laboratorio

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

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada botella de reactivo y vial para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.

- El **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 y el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent contienen tiocianato de guanidinio, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- La prueba **cobas**® HIV-1, el **cobas**® 4800 Sample Preparation Kit 2 y el **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 o el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent, que contienen tiocianato de guanidinio, entren en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.

Contaminación

- A fin de evitar la contaminación, es obligatorio el uso de guantes de laboratorio durante la manipulación de las muestras y los reactivos para la prueba **cobas**® HIV-1, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro. Evite la contaminación de los guantes de laboratorio durante la manipulación de las muestras y de los controles. Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit.
- Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos.
- Podrían obtenerse resultados falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante su manipulación.

Integridad

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

Eliminación de residuos

- La prueba **cobas**® HIV-1, el **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2 y el **cobas**® 4800 System Specimen Diluent 2 contienen azida sódica (consulte el apartado "**Advertencias y precauciones**"). La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- Deseche los reactivos no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.

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

Limpieza de derrames

- El **cobas**® 4800 Lysis Buffer 2 y el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent contienen tiocianato de guanidinio. Si se derrama líquido que contenga tiocianato de guanidinio, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. No permita que entre en contacto con desinfectantes con hipoclorito de sodio como la lejía. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- En caso de que se produzca un derrame de material de origen humano, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- Si se produce un derrame de muestras de sangre seca en el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (que contiene tiocianato de guanidinio), no permita que entre en contacto con soluciones de hipoclorito de sodio que contengan desinfectantes como la lejía. Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad. Limpie PRIMERO el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- Si el derrame se produce sobre el **cobas x** 480 instrument, siga las instrucciones de limpieza que se detallan en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
- No utilice soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) para limpiar el **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer. Limpie el **cobas x** 480 instrument o el **cobas z** 480 analyzer según los procedimientos descritos en la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System correspondiente.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

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

Muestras de sangre seca

- Compruebe la fecha de caducidad de la tarjeta para muestras DBS y continúe únicamente si la tarjeta todavía no ha caducado.
- Obtenga las muestras DBS mediante los procedimientos clínicos correspondientes.
- Se recomienda aplicar un mínimo de 70 µl de sangre capilar dentro de cada círculo delineado en la tarjeta para muestras DBS.
- Asegúrese de que AMBAS caras del papel están saturadas y de que el círculo delineado está completamente cubierto.
- Coloque la tarjeta para muestras DBS sobre un rack de secado (una tarjeta por nivel) o sobre una superficie plana y deje que la tarjeta para muestras DBS se seque a temperatura ambiente (18-25 °C) durante al menos 4 horas (como máximo toda la noche), sin exponer la tarjeta a la luz solar directa.
- Para conocer más información, consulte el boletín técnico de las tarjetas de papel de filtro que utilice.
- Se recomienda preparar un mínimo de 3 discos de papel por cada muestra de paciente.
- Almacene las DBS en bolsas resellables individuales con una bolsita desecante en cada bolsa y protegidas de la luz solar.
- Las DBS se pueden transportar o almacenar a 15-30 °C hasta un máximo de tres meses.
- Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

Instrucciones de uso para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Preparación de muestras de sangre seca en tarjetas DBS y procedimiento preanalítico

- Abra la bolsa de transporte y proceda con cada bolsa de muestras únicamente si:
  - El formulario de solicitud del laboratorio está totalmente cumplimentado.
  - Los códigos de barras del formulario de solicitud del laboratorio y la tarjeta DBS coinciden.
  - La bolsa de muestras está completamente cerrada y contiene una tarjeta DBS con una bolsita desecante.
  - La fecha de recogida de las muestras está disponible y tuvo lugar antes de la fecha de caducidad de la tarjeta DBS.
- Deje que el **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent (SPER) alcance la temperatura ambiente antes de utilizarlo.

Nota: ***asegúrese de utilizar solo SPER y no otro tipo distinto de reactivo previo a la extracción (p. ej., SPEX).***

- Extraiga una DBS de la tarjeta para muestras DBS.
- Transfiera la muestra a un tubo (5 ml, rosca interior, 12,5 mm de diámetro, polipropileno [Cryo.s™]) mediante un nuevo juego de fórceps o pinzas estériles o desechables para cada paciente.
- Asegúrese de que la DBS se deposita en la parte inferior del tubo tal como se muestra en la Ilustración 20.
- Pipetee 700 µl de SPER en el tubo que contiene la DBS y coloque el tapón.

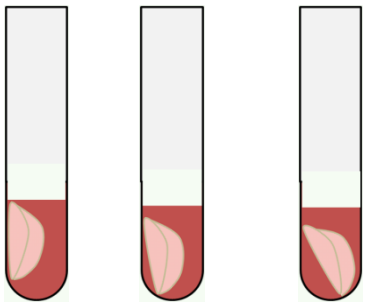
Nota: ***es importante pipetear 700 µl de SPER (700 µl exactos) para que el rendimiento del ensayo sea correcto.***

- Asegúrese de que la DBS está totalmente cubierta con SPER.
- Coloque los tubos tapados en un agitador térmico precalentado (p. ej., Eppendorf Thermomixer® modelo R 5355, C o equivalente) con termobloque para 24 criotubos e incube durante 10 minutos a 56 °C y 1.000 rpm para extraer el virus de la sangre total seca.
- Quite el tapón de los tubos y asegúrese de que la DBS está adherida a la pared del tubo (Ilustración 21) para evitar coágulos en la muestra.
- Elimine cualquier película líquida que se haya podido crear por encima del nivel del líquido (Ilustración 22) mediante una punta de pipeta estéril para evitar la detección de nivel precoz.
- Cargue los tubos en los **cobas**® 4800 Systems.

Ilustración 20: DBS en el tubo

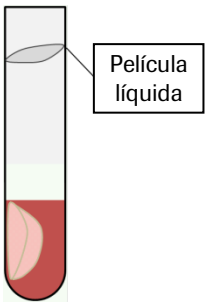
Válida

Ilustración 21: Ubicación de la DBS



Valida | Valida | Posible riesgo de coágulo

Ilustración 22: Película líquida



Posible riesgo de detección de líquido precoz

IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

Realización de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Tipo de muestra y volumen de procesamiento para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

La prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 es compatible con un único tipo de muestra: DBS. El volumen de procesamiento se indica a continuación:

Tipo de muestra compatible y volumen de procesamiento

Tipo de muestra	Volumen de procesamiento [µl]
DBS	400

Tamaño de la serie para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Los reactivos genéricos para la preparación de muestras (**cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 y **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit) están disponibles en dos tamaños de kit, cada uno con cantidades suficientes para realizar 10 series de hasta 24 o 96 muestras, e incluyen además los controles y las muestras necesarios. La prueba **cobas**® HIV-1 se suministra en un único tamaño de kit suficiente para analizar hasta 120 (10×12) muestras, e incluye muestras y controles. En cada serie de pruebas, debe utilizarse un control positivo bajo para el VHB/VHC/VIH-1 y un control negativo (el control positivo alto para el VHB/VHC/VIH-1 no es necesario para DBS). Para una serie de análisis individual, el número máximo de muestras permitido es 94 muestras y 2 controles.

Nota: para un uso óptimo de los reactivos, los reactivos genéricos para la preparación de muestras pueden utilizarse para series con un total de entre 1-22 muestras (tamaño del kit de la prueba de 10×24) o de entre 1-94 muestras (tamaño del kit de la prueba de 10×96). No obstante, no es posible mezclar tamaños de kit distintos del cobas® 4800 System Wash Buffer Kit, el cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2 y el cobas® 4800 System Lysis Kit 2. Por ejemplo, si se escanea una botella de reactivo de tampón de lavado para 96 pruebas al inicio de la serie analítica, también deben utilizarse reactivos con un tamaño para 96 pruebas de los otros kits de reactivos para preparación de muestras.

Flujos de trabajo para la prueba cualitativa cobas® HIV-1

La prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 se realiza a partir del flujo de trabajo completo del **cobas**® 4800 software. Consta de la preparación de las muestras en el **cobas x** 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el **cobas z** 480 analyzer.

Para iniciar una prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 debe seleccionarse el tipo de prueba HIV-1-qual-DBS.

La prueba cualitativa del VIH-1 puede realizarse de manera independiente o bien en modo de serie combinada con pruebas que utilizan el mismo proceso automático de preparación de muestras y perfil de la PCR para la amplificación y la detección. Durante el paso de selección de la prueba, el software mostrará las pruebas compatibles con la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) para el modo de serie combinada.

A continuación se indica dónde puede encontrar un resumen de los flujos de trabajo de la prueba cualitativa del VIH-1:

- El modo independiente de la prueba cualitativa del VIH-1 se muestra en la Ilustración 23.
- El modo de serie combinada de la prueba cualitativa del VIH-1 con la prueba cuantitativa del VIH-1 se muestra en la Ilustración 14.
- Para el modo de serie combinada de la prueba cualitativa del VIH-1 con otras pruebas distintas a la prueba cuantitativa del VIH-1, consulte la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.

Ilustración 23: Resumen del modo individual de la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS): reactivos y flujo de trabajo

Reactivos

Preparación genérica de las muestras
• **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2
  ○ **MGP 2**
  ○ **EB 2**
• **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2
  ○ **P 2**
  ○ **LYS 2**
• **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit
  ○ **WB**
Para muestras de sangre seca (DBS):
• **cobas**® Specimen Pre-Extraction Reagent
  ○ **SPER**
Amplificación/Detección
• **cobas**® HIV-1
  ○ **MMX R1**
  ○ **HIV-1 MMX R2**
  ○ **RNA QS** *Comunicado como IC*
Controles
• **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit
  ○ **L(+)C** *Comunicado como control positivo*
  ○ **(-)C**

Flujo de trabajo	
1	Inicie el sistema.
2	Efectúe el mantenimiento del equipo.
3	Extraiga las muestras y los reactivos del almacenamiento.
4	Inicie la serie analítica y seleccione HIV-1-qual-DBS.
5	Cargue las muestras.
6	Cree la petición de trabajo: • Con LIS: confirme la petición de trabajo. • Sin LIS: cree la petición de trabajo.
7	Cargue el material fungible.
8	Cargue los reactivos para la preparación de las muestras.
9	Cargue los reactivos de AMP/DET y los controles. • *El asistente del software solicitará la carga del QS, el cual se utiliza como el control interno (IC).* • *El asistente del software también solicitará la carga de los controles L(+)C y (–)C del kit de control. El control H(+)C no se requiere para HIV-1-qual-DBS.*
10	Inicie la serie de preparación de las muestras.
11	Descargue la microplaca.
12	Selle la microplaca.
13	Cargue la microplaca sellada en el analizador.
14	Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción.
15	Revise los resultados. • Opcional: Si hay conexión con el LIS, envíe los resultados al LIS. *En los resultados, el QS se comunica como el IC y el L(+)C se comunica como el control positivo.*
16	Descargue el analizador.

El flujo de trabajo del modo individual de la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) se describe en detalle en el apartado siguiente.

El flujo de trabajo de la serie combinada de la prueba cuantitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) con la prueba cualitativa del VIH-1 se detalla en el apartado Flujo de trabajo de la serie combinada – pruebas cuantitativa y cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS).

Para obtener una descripción completa del modo individual de la prueba cuantitativa del VIH-1, consulte el apartado Flujo de trabajo del modo individual – prueba cuantitativa del VIH-1.

Flujo de trabajo del modo individual – prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS)

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

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

4. Inicie una serie nueva y seleccione el tipo de prueba HIV-1-qual-DBS.
5. Cargue las muestras DBS. Consulte el apartado “Tubos de muestra compatibles” para obtener información detallada sobre los tubos de muestra.

   Las muestras DBS solo pueden cargarse en el transportador de muestras de 32 posiciones.
6. Cree la petición de trabajo. Existen tres formas de crear una petición:

- Mediante el editor de muestras antes de cargar la bandeja de muestras en el **cobas x** 480 instrument (botón “Editor” a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario. El tipo de muestra y el resultado solicitado se definen automáticamente como DBS y HIV-1-qual-DBS, respectivamente.
- Mediante las instrucciones del asistente del software para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el **cobas x** 480 instrument cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y el tipo de muestra y el resultado solicitado se definen automáticamente como DBS y HIV-1-qual-DBS, respectivamente.
- Mediante el sistema LIS de su centro.

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

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

8. Cargue los reactivos para la preparación de las muestras en los depósitos de reactivos con código de barras. Los depósitos de reactivos están disponibles en dos tamaños: 200 ml y 50 ml. Siga las instrucciones del asistente del software para seleccionar el tamaño correcto de depósito de reactivo. Los códigos de barras de los depósitos de reactivos deben estar colocados frente al lateral derecho de la bandeja. Utilice el método de doble identificación y llenado para cargar los reactivos para la preparación de las muestras:
   - Leer el código de barras de la botella de reactivo
   - Leer el código de barras del depósito de reactivo
   - Verter el reactivo en el depósito (el vial de MGP debe agitarse antes de la dispensación)
   - Colocar el depósito lleno de reactivo en la posición indicada de la bandeja de reactivos

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

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

9. Cargue los viales de los reactivos de amplificación/detección [MMX R2, MMX R1 y RNA QS], los viales de control [L(+)C y (–) C] y los viales de reactivos genéricos [P 2] directamente en la bandeja de reactivos.

   El software solicita al usuario que cargue el QS. Este QS se utiliza como control interno (IC) y se comunica como IC en los resultados.

   El software solicita al usuario que cargue el L(+)C. Este L(+)C se usa como control positivo y se comunica como control positivo en los resultados. El control H(+)C no se requiere para HIV-1-qual-DBS.

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

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

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

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

16. Siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System para descargar la microplaca del **cobas z** 480 analyzer.

Resultados de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

El **cobas**® 4800 System detecta el VIH-1 en muestras y controles y ofrece un resultado cualitativo que indica un resultado detectado o no detectado para ácidos nucleicos totales del VIH-1.

El control positivo bajo y el QS cargados durante el flujo de trabajo de HIV-1-qual-DBS se utilizan y se comunican como el control positivo y el IC, respectivamente.

Si fuera necesario identificar el número de lote del kit del control positivo o del IC, puede encontrar el número de lote del kit correspondiente en las etiquetas del control positivo bajo y del estándar de cuantificación del ARN, respectivamente.

Control de calidad y validez de los resultados de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

- En cada serie se procesa un control negativo [(–) C] y un control positivo [HBV/HCV/HIV-1 L(+)C].
- Compruebe la validez de la serie en el **cobas**® 4800 Software y/o en el informe.
- El **cobas**® 4800 software invalida automáticamente los resultados cuando fallan los controles positivos y negativos.

Interpretación de los resultados de control de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Tabla 14: Interpretación de los resultados de control de los controles negativo y positivo

Control	Resultado	Interpretación
(–) C	Valid	El control es válido. No se ha detectado el VIH-1.
	Invalid	El control negativo no es válido.
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C comunicado como control positivo	Valid	El control es válido.
	Invalid	El control positivo no es válido.

Interpretación de los resultados de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

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

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

Para una serie válida, los resultados de las muestras deben interpretarse tal como se indica en la Tabla 15.

Tabla 15: Resultados de fragmento objetivo para la interpretación de los resultados de fragmento objetivo individuales

HIV-1-qual-DBS	Notificación e interpretación de los resultados
Detected	Se ha detectado el VIH-1. Valor de Ct
Not detected	No se ha detectado el VIH-1.
Invalid	El fragmento objetivo no es válido, el fragmento objetivo no es válido o es negativo y el IC no es válido o es negativo o un control externo no es válido.

Nota: los valores de Ct de las muestras, si están disponibles, se comunican en el informe de resultados y también se exportan al LIS.

Lista de avisos de resultados de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

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

Tabla 16: Lista de avisos

Código del aviso	Descripción	Acción recomendada
R20	El control positivo no es válido.	Los valores del control positivo no son válidos. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R21	El control negativo no es válido.	Los valores del control negativo no son válidos. Para evitar la contaminación por arrastre, siga las buenas prácticas de laboratorio. 1. Repita toda la serie con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R4807	El fragmento objetivo de la muestra no es válido.	El fragmento objetivo no es válido debido a un error de cálculo. 1. Vuelva a analizar la muestra. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
R4808	El control interno de la muestra no es válido o es negativo y el fragmento objetivo de la muestra no es válido o es negativo.	Los valores del control interno, de un fragmento objetivo de la muestra no válido o negativo, no son válidos. 1. Vuelva a analizar la muestra con reactivos nuevos. 2. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio técnico de Roche.
X3	Error: se ha detectado un coágulo. No se ha procesado la muestra.	Asegúrese de que las muestras se hayan manipulado según la descripción del flujo de trabajo. 1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra. 2. Vuelva a analizar la muestra.
X4	Error: se ha producido un error de pipeteo. No se ha procesado la muestra.	Lo más probable es que el volumen de muestra sea insuficiente o se haya producido un error mecánico durante el pipeteo. 1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente. 2. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada. 3. Vuelva a analizar la muestra.

Nota: para conocer todos los avisos del sistema, consulte la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

Limitaciones del procedimiento

1. El uso de la prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 se ha evaluado solamente con el **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, el **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit 2, el **cobas**® 4800 System Lysis Kit 2 y el **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit.
2. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos que encontrará en este documento de instrucciones de uso (también denominado "boletín técnico") y la Asistencia al usuario del **cobas**® 4800 System.
3. La prueba cualitativa **cobas**® HIV-1 se ha validado solo para su uso con DBS. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
4. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico cubiertas por la prueba **cobas**® HIV-1 pueden afectar a la unión de cebadores y/o sondas e impedir la detección del virus.
5. El valor predictivo de un ensayo depende de la prevalencia de la enfermedad en una población concreta.
6. La incorporación de la enzima AmpErase a la Master Mix de la prueba **cobas**® HIV-1 permite realizar una amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar las buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos y de las mezclas de amplificación.
7. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del **cobas**® 4800 System.
8. Solamente el **cobas x** 480 instrument y el **cobas z** 480 analyzer se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.
9. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.
10. La contaminación por arrastre puede causar resultados falsos positivos. Según un estudio no clínico, la tasa de contaminación por arrastre entre muestras de la prueba **cobas**® HIV-1 es del 0,0% con un límite de confianza unilateral superior del 95% de 1,3% (Clopper Pearson). No se ha observado contaminación por arrastre entre series.

Evaluación no clínica del rendimiento de la prueba cualitativa cobas® HIV-1

Características clave de rendimiento para muestras DBS

Límite de detección (LoD) con DBS

El límite de detección de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar internacional de la OMS para ARN del VIH-1 en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (tercer estándar internacional de la OMS) para el grupo M subtipo B obtenido de NIBSC, en sangre total negativa para el VIH aplicada en tarjetas para muestras de sangre seca. Se analizaron paneles con cinco niveles de concentración más uno negativo con tres lotes de reactivos de la prueba **cobas**® HIV-1, dos tipos distintos de tarjetas DBS, múltiples series analíticas, días, usuarios e instrumentos.

Los resultados combinados para las muestras de sangre seca se muestran en la Tabla 17. El estudio demuestra que la prueba **cobas**® HIV-1 puede detectar ARN del VIH-1 con una tasa de positividad ≥ 95%, según el análisis PROBIT, en una concentración de 325,1 cp/ml (541,8 UI/ml) en muestras de sangre seca.

Tabla 17: Límite de detección para muestras de sangre seca

Concentración del título de entrada (ARN del VIH-1 cp/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
969	63	63	100,0%
	63	63	100,0%
	62	62	100,0%
484,5	63	63	100,0%
	62	59	95,2%
	63	63	100,0%
323	63	61	96,8%
	63	61	96,8%
	63	59	93,7%
161,5	63	50	79,4%
	61	44	72,1%
	63	45	71,4%
80,75	63	28	44,4%
	63	32	50,8%
	63	26	41,3%
0	48	0	0,0%
	48	0	0,0%
	48	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	325,1 cp/ml; intervalo de confianza del 95%: 284,1-385,8 cp/ml 541,8 UI/ml; intervalo de confianza del 95%: 473,5-643,0 UI/ml		

Repetibilidad con DBS

La repetibilidad de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar secundario de Roche para el VIH-1 en sangre total negativa para el VIH aplicada en tarjetas para muestras de sangre seca. Se analizaron tres niveles de dilución en 2 réplicas de la misma serie para cada nivel en dos tipos de tarjetas para muestras de sangre seca y dos lotes de reactivos para la prueba **cobas**® HIV-1 en dos instrumentos diferentes y con dos usuarios distintos durante 12 días. Los resultados se muestran en la Tabla 18.

La prueba **cobas**® HIV-1 mostró una repetibilidad elevada para los dos tipos de tarjetas para muestras de sangre seca y los dos lotes de reactivos analizados en tres niveles de concentración.

Tabla 18: Repetibilidad de la prueba cobas® HIV-1 con DBS

Concentración	Lote	Réplicas reactivos/válidas	Tasa de positividad [%]	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
~3 x LoD	1	24/24	100,0%	85,8%	100,0%
	2	24/24	100,0%	85,8%	100,0%
~1 x LoD	1	21/24	87,5%	67,6%	97,3%
	2	21/24	87,5%	67,6%	97,3%
~0,6 x LoD	1	17/24	70,8%	48,9%	87,4%
	2	21/24	87,5%	67,6%	97,3%

Especificidad con DBS

La especificidad de la prueba **cobas**® HIV-1 se determinó mediante el análisis de muestras de sangre seca negativas para el VIH de donantes individuales. Se analizó un total de 620 muestras DBS individuales con dos lotes de reactivos para la prueba **cobas**® HIV-1 y dos tipos de tarjetas DBS. Todas las muestras analizadas obtuvieron resultados no reactivos para ARN del VIH-1. Según estos resultados, la especificidad de la prueba **cobas**® HIV-1 con DBS fue del 100,0% [el límite inferior del intervalo de confianza unilateral del 95% (Clopper Pearson) fue del 99,5%].

Correlación con DBS

Se comparó el rendimiento de la prueba **cobas**® HIV-1 con el de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 mediante el análisis de muestras clínicas DBS procedentes de bebés en un centro externo. Para las muestras DBS positivas para VIH-1 y negativas para VIH-1, ambas pruebas mostraron un porcentaje de concordancia del 100%, lo que demuestra que el rendimiento de la prueba **cobas**® HIV-1 y el de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 es equivalente (Tabla 19).

Tabla 19: Resumen de resultados de correlación para muestras DBS de VIH-1

Correlación **Muestras DBS de VIH-1**		**Prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0**	
		Reactiva	No reactiva
cobas® HIV-1	Reactiva	99	0
	No reactiva	0	129
Porcentaje total de concordancia		100% (IC al 95%: 98-100%)	

Esto se traduce en una sensibilidad clínica del 100% (con un intervalo de confianza del 95% bilateral de 96-100%) y una especificidad clínica del 100% (con un intervalo de confianza del 95% bilateral de 97-100%).

Tasa de fallo de todo el sistema con DBS

La tasa de fallo de todo el sistema de la prueba **cobas**® HIV-1 con DBS se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de sangre total a la que se añadió VIH-1 grupo M subtipo B. Dichas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 x LoD.

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el fragmento objetivo del VIH-1, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0,0% para DBS. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0,0% para el límite inferior y del 3,6% para el límite superior [0%: 3,6%].

Información adicional

Funciones clave del ensayo para muestras de plasma conservado en EDTA

Tipo de muestra	Plasma conservado en EDTA
Volumen de procesamiento de muestras	400 µl o 200 µl
Sensibilidad analítica	14,2 cp/ml (400 µl)
	43,9 cp/ml (200 µl)
Intervalo lineal	400 µl: 20,0 cp/ml - 1,0E+07 cp/ml
	200 µl: 60,0 cp/ml - 1,0E+07 cp/ml
Especificidad	100% (intervalo de confianza unilateral del 95%: 99,5%)
Genotipos detectados	VIH-1M (A–D, F–H, CRF01_AE, CRF02_AG), VIH-1O, VIH-1N

Funciones clave del ensayo para muestras de plasma seco de PSC

Tipo de muestra	Muestra de plasma seco procedente de una Plasma Separation Card (PSC)
Cantidad mínima de muestra necesaria	140 µl de sangre total
Volumen de procesamiento de muestras	400 µl
Sensibilidad analítica	598,6 cp/ml
Intervalo lineal	599 cp/ml - 1,0E+07 cp/ml

Funciones clave del ensayo para muestras DBS

Tipo de muestra	Muestras de sangre seca
Cantidad mínima de muestra necesaria	70 µl de sangre total
Volumen de procesamiento de muestras	400 µl
Sensibilidad analítica	325,1 cp/ml
Especificidad	100% (intervalo de confianza unilateral del 95%: 99,5%)

Guía rápida del flujo de trabajo

	Serie individual		Serie combinada
	HIV-1 cuantitativa – Plasma – Plasma diluido – PSC	**HIV-1 cualitativa** – DBS	**HIV-1 cuantitativa** **HIV-1 cualitativa**
1	Inicie el sistema.		
2	Efectúe el mantenimiento del equipo.		
3	Retire las muestras y los reactivos del almacenamiento.		
4	Inicie la serie analítica y seleccione el tipo de prueba:		
	HIV-1	**HIV-1-qual-DBS**	**HIV-1** **HIV-1-qual-DBS**
5	Escanee las tarjetas de parámetros (AVC). – Coeficientes de calibración MMx – Intervalos de control	Tarjetas de parámetros no necesarias	Escanee las tarjetas de parámetros (AVC). – Coeficientes de calibración MMx – Intervalos de control
6	Cargue las muestras.		
7	Cree la petición de trabajo.		
8	Cargue el material fungible.		
9	Cargue los reactivos para la preparación de las muestras.		
10	Cargue los reactivos de AMP/DET y los controles:		
	– MMx1 y 2 + QS – L(+)C, H(+)C y (-)C – Reactivos genéricos	– MMx1 y 2 + QS – L(+)C y (-)C – Reactivos genéricos	– MMx1 y 2 + QS – L(+)C, H(+)C y (-)C – Reactivos genéricos
11	Inicie la serie de preparación de las muestras.		
12	Descargue la microplaca.		
13	Selle la microplaca.		
14	Cargue la microplaca sellada en el analizador.		
15	Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción.		
16	Revise los resultados.		
17	Descargue el analizador.		

Para la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS), el QS se comunica como IC, el L(+)C como control positivo y el H(+)C no es necesario.

- Detalles sobre los flujos de trabajo del modo de serie individual
  - Flujo de trabajo de la prueba cuantitativa del VIH-1 (consulte el apartado Flujo de trabajo del modo individual – prueba cuantitativa del VIH-1.)
  - Flujo de trabajo de la prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS) (consulte el apartado Flujo de trabajo del modo individual – prueba cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS).)
- Detalles sobre el flujo de trabajo de la serie combinada del VIH-1 (consulte el apartado Flujo de trabajo de la serie combinada – pruebas cuantitativa y cualitativa del VIH-1 (HIV-1-qual-DBS).)

Símbolos

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

Tabla 20: Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de diagnóstico mediante PCR de Roche

SW	Software auxiliar	IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea	LLR	Límite inferior del intervalo asignado
BARCODE	Hoja de datos del código de barras		Fabricante
LOT	Código de lote		Almacenar en la oscuridad
	Riesgo biológico	Σ	Suficiente para <*n*> pruebas
REF	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso	TDF	Archivo de definición de pruebas
Cont.	Contenido del kit	ULR	Límite superior del intervalo asignado
D	Distribuido por		Fecha de caducidad
	Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	GTIN	Número mundial de artículo comercial

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

CE 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.: 1-800-526-1247

IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

Fabricante y distribuidores

Tabla 21: Fabricante y distribuidores

Fabricado en los Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

D

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-526-1247)

Marcas registradas y patentes

Consulte la página http://www.roche-diagnostics.us/patents

Copyright

©2018 Roche Molecular Systems, Inc.

CE 0123 IVD

Bibliografía

1. Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. Ann Intern Med. 1997;126(12):946-954.
2. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. JAMA. 2007;297(21):2349-2350.
3. Guidelines for the use of antiviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services (DHHS);2015.
4. Cohen MS, Chen YQ, McCauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. N Engl J Med. 2011;365(6):493-505.
5. Phillips AN, Pillay D, Garnett G, et al. Effect on transmission of HIV-1 resistance of timing of implementation of viral load monitoring to determine switches from first to second-line antiretroviral regimens in resource-limited settings. AIDS. 2011;25(6):843-850.
6. Sigaloff KC, Hamers RL, Wallis CL, et al. Unnecessary antiretroviral treatment switches and accumulation of HIV resistance mutations; two arguments for viral load monitoring in Africa. J Acquir Immune Defic Syndr. 2011;58(1):23-31.
7. European AIDS Clinical Society 2013 Guidelines. http://www.eacsociety.org/Guidelines.aspx.
8. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection – Recommendations for a public health approach. World Health Organization HIV/AIDS Programme, Geneva. June 2013.
9. Günthard HF, Aberg JA, Eron JJ, et al.; Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society – USA panel. JAMA. 2014;312:410-425.
10. Do T, Duncan J, Butcher A, Liegler T. Comparative frequencies of HIV low-level viremia between real-time viral load assays at clinically relevant thresholds. J Clin Virol. 2011;52 Suppl 1:S83-S89.
11. Paba P, Fabeni L, Ciccozzi M, Perno CF, Ciotti M. Performance evaluation of the COBAS/TaqMan HIV-1 v2.0 in HIV-1 positive patients with low viral load: a comparative study. J Virol Methods. 2011;173(2):399-402.
12. Deeks SG. Durable HIV treatment benefit despite low-level viremia: reassessing definitions of success or failure. JAMA. 2011;286:224-226.
13. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection – Recommendations for a public health approach. World Health Organization HIV/AIDS Programme, Geneva. 2016.
14. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990;93:125-128.
15. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. Nature. 1995;373:487-493.
16. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. Cell. 1995;80:869-878.
17. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (NY). 1992;10:413-417.
18. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. Genome Res. 1996;6:986-994.
19. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP06-A. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: A statistical approach. CLSI Document EP06-A:Wayne, PA; CLSI, 2003.
22. UNAIDS. Global AIDS Update. Geneva;2016.

Revisión del documento

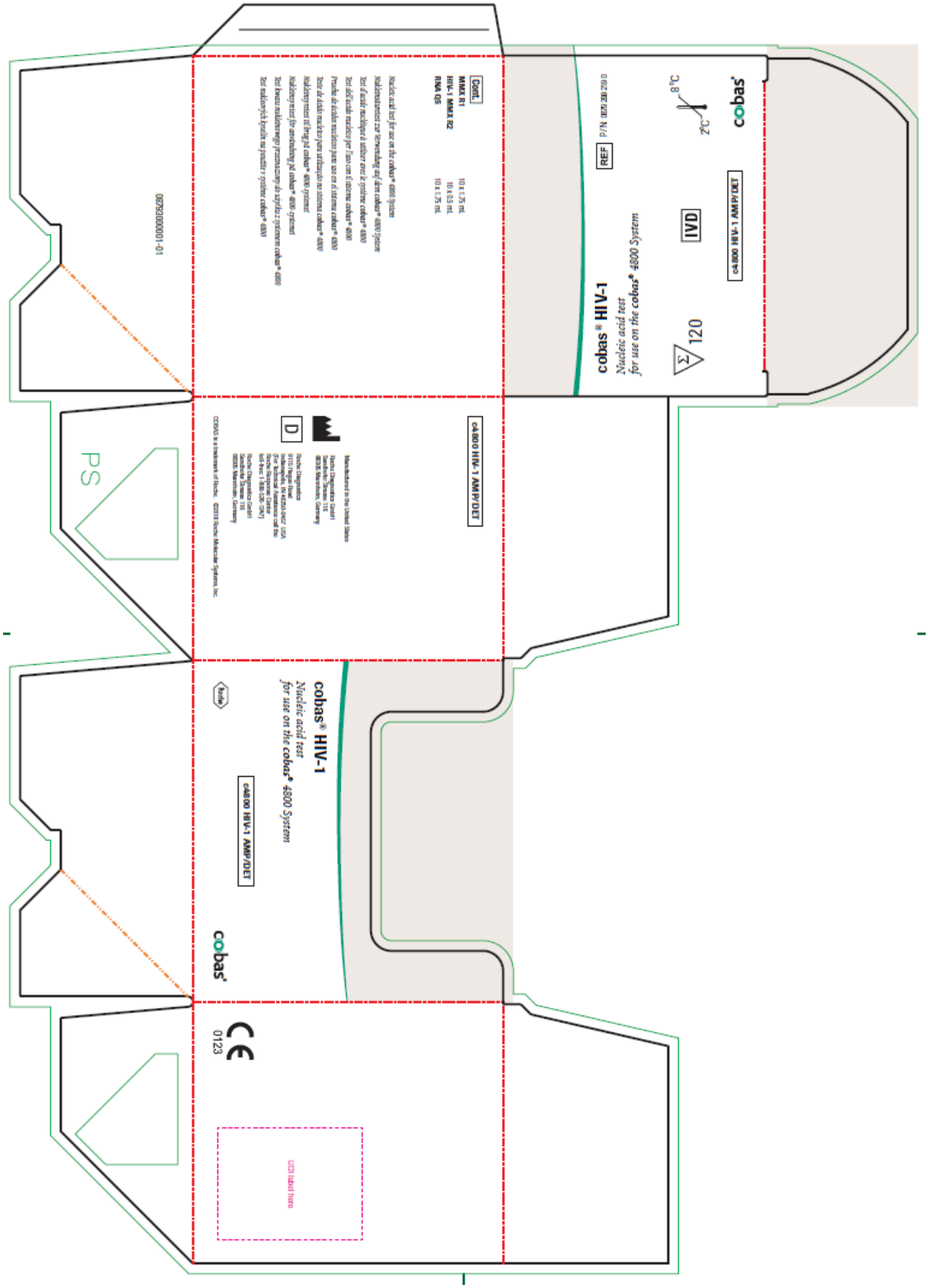
Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 09/2018	Primera publicación.

PROYECTO DE ROTULOS

PROYECTO DE ROTULO

Material N° 8792992190 – cobas® HIV-1

Rótulos externos:



Sobre-rótulo local

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica
Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-740-560
Establecimiento importador:
Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).
Otto Krause 4211, Tortuguitas,
Malvinas Argentinas, Pcia. de Buenos Aires
República Argentina

Uso profesional exclusivo

Rótulos internos:

República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2020 - Año del General Manuel Belgrano

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2020-54623158-APN-INPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Miércoles 19 de Agosto de 2020

Referencia: Rot. e Ins. de Uso - Productos Roche S.A.Q e I.

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 88 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.08.19 19:25:33 -03:00

Marcela Claudia Rizzo
Directora Nacional
Instituto Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2020.08.19 19:25:34 -03:00