



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
2019 - Año de la Exportación

**Disposición**

**Número:** DI-2019-888-APN-ANMAT#MSYDS

CIUDAD DE BUENOS AIRES  
Jueves 24 de Enero de 2019

**Referencia:** 1-47-3110-6069/17-2

---

VISTO el expediente N° 1-47-3110-6069/17-2 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

**CONSIDERANDO:**

Que por los presentes actuados la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico uso In Vitro denominados 1) *Cobas® CM*; 2) *Cobas® CMV Kit*.

Que en el expediente de referencia consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece la Ley N° 16.463, Resolución Ministerial N° 145/98 y Disposición ANMAT N° 2674/99.

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

Que corresponde autorizar la inscripción en el RPPTM del producto médico objeto de la solicitud.

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 1490/92 y sus modificatorios.

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE

## MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA

### DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) de los productos médicos para diagnóstico de uso In Vitro denominados 1) **Cobas® CM**; 2) **Cobas® CMV Kit**, de acuerdo a lo solicitado por la firma firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnostica) con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTICULO 2º.- Autorícense los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2019-00359749-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda "Autorizado por la ANMAT PM-740-549", con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

ARTÍCULO 4º.- Extiéndase el Certificado de Autorización e Inscripción en el RPPTM con los datos característicos mencionados en esta Disposición.

ARTÍCULO 5º.- Regístrese. Inscribese en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica al nuevo producto. Por el Departamento de Mesa de Entrada, notifíquese al interesado, haciéndole entrega de la presente Disposición, conjuntamente con rótulos e instrucciones de uso autorizados y el Certificado mencionado en el artículo 4º. Gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a los fines de confeccionar el legajo correspondiente. Cumplido, archívese.

### DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

Nombre comercial: 1) **Cobas® CM**; 2) **Cobas® CMV Kit**.

Indicación de uso: 1) Prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la medición cuantitativa del ADN del citomegalovirus (CMV) en plasma humano conservado en EDTA para usar en el cobas® 4800 System, diseñado como soporte para el diagnóstico y la gestión del CMV en pacientes trasplantados de órganos sólidos y en pacientes que han recibido trasplantes de células madre hematopoyéticas. La prueba se puede utilizar con estas poblaciones para valorar la necesidad de iniciar un tratamiento antiviral. En aquellos pacientes sometidos a terapia anti-CMV, pueden utilizarse las mediciones en serie del ADN para valorar la respuesta viral al tratamiento. 2) Kit de control cobas® CMV.

Forma de presentación: 1) Código N° 07865970190 - Envases para 120 determinaciones conteniendo: MMX R1 (10 x 1,75 ml), CMV MMX R2 (10 x 0,5 ml) y DNA QS (10 x 1,75 ml). 2) Código N° 07865988190, Envases para 10 determinaciones conteniendo: **CMV L(+)**C (Control positivo bajo) 10 x 0,75 ml, **CMV H(+)**C (Control positivo alto) 10 x 0,75 ml y **(-)C2** (Control negativo) 10 x 0,75 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: 18 meses desde la fecha de elaboración, conservados a 2 a 8°C.

Condición de venta: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.

Nombre y dirección del fabricante: *Roche Molecular System, Inc.* 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA), para Roche Diagnostics Gmth, Sandholer Strasse 116 683 Mannheim (Alemania).

Expediente N° 1-47-3110-6069/17-2

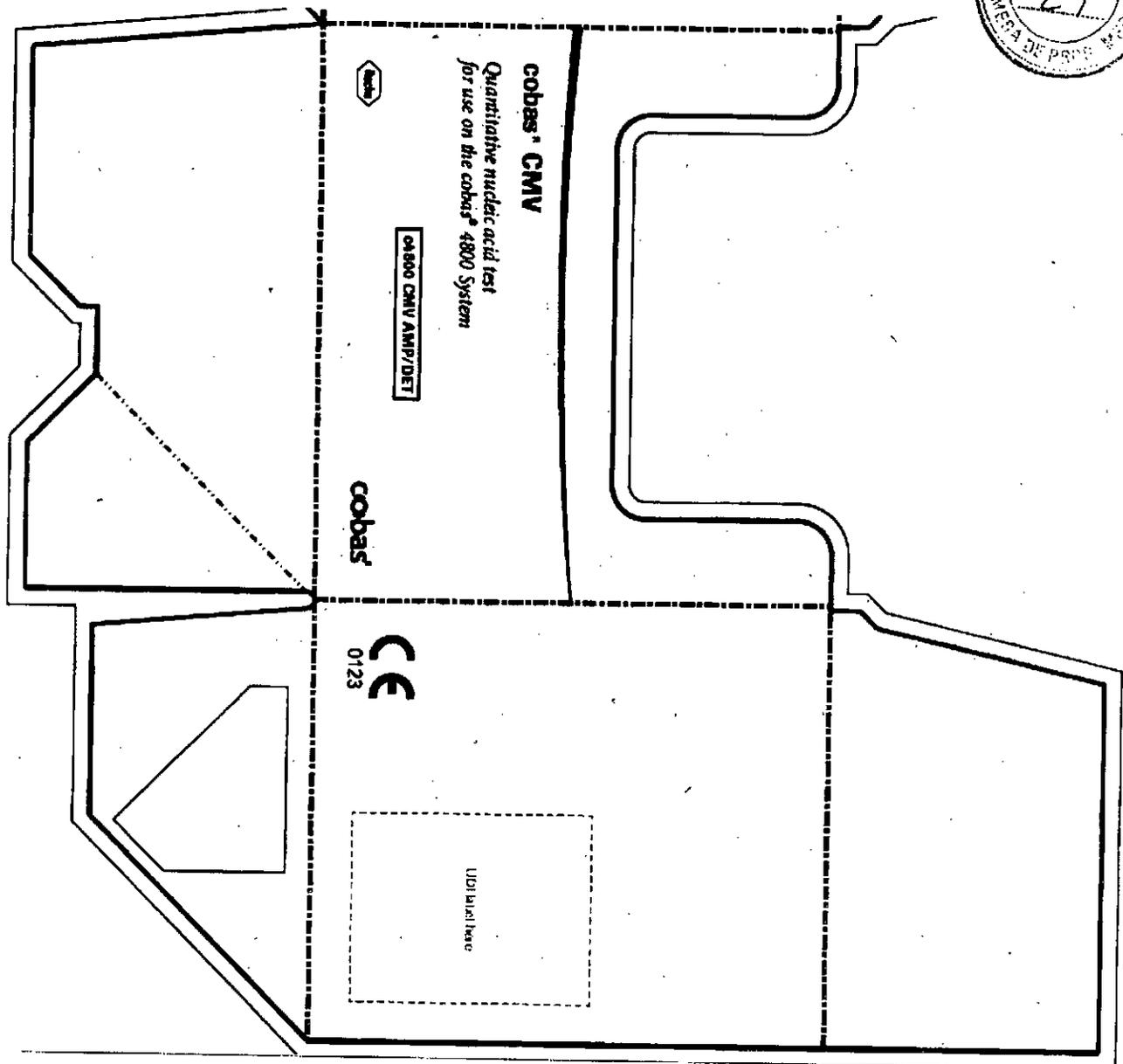
av

Digitally signed by BELLOSO Waldo Horacio  
Date: 2019.01.24 10:40:26 ART  
Location: Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Waldo HORACIO BELLOSO  
SubAdministrador  
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología  
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -  
GDE  
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, c=AR,  
o=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE  
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT  
30715117564  
Date: 2019.01.24 10:40:36 -0300'





Sobre-rótulo local

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica  
Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-740-549  
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

IF-2019-00359745-APN-DNPM/A/MAZ/A  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.  
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA  
CALLE OTTO KRAUSE 4211, TORTUGUITAS, MALVINAS ARGENTINAS, BUENOS AIRES, REPÚBLICA ARGENTINA



Rótulos internos:

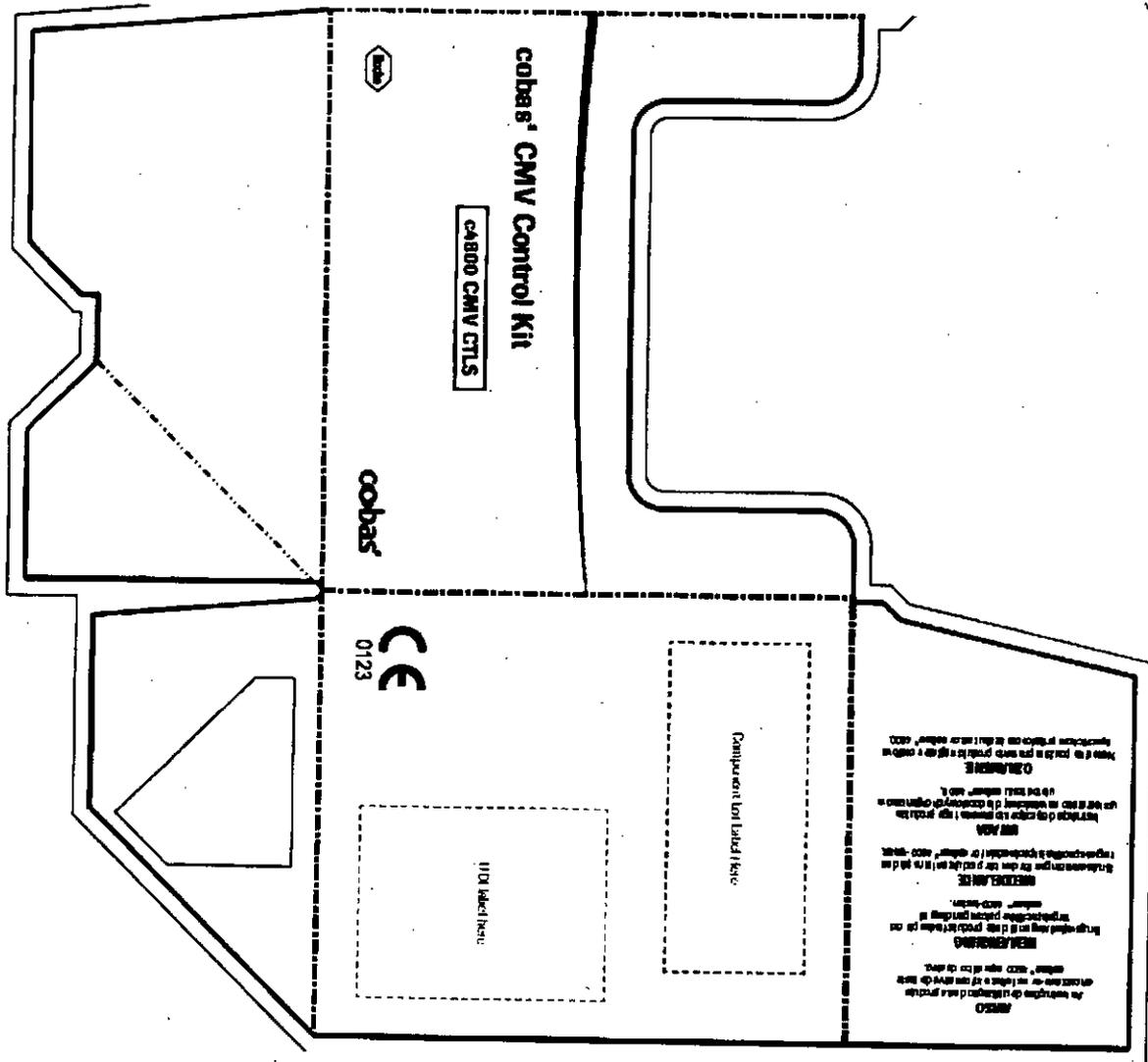
cobas® 4800  
MMX R1  
1.75 mL IVD 2-8°C LOT Y01162  
Manufactured in the United States  
069 47304001  
07275412001-02  
2018/04

cobas® 4800  
CMV MMX R2  
0.5 mL IVD 2-8°C LOT Y08358  
Manufactured in the United States  
47865937001  
07096174001-01  
2018/10

cobas® 4800 Tests  
DNA QS  
1.75 mL IVD 2-8°C LOT Y07372  
Manufactured in the United States  
06653235001  
07275404001 01

Firma: ROBERTA MELE MAZZA  
PRODIGER FUDER S.A. de I.  
IF-2019-00359749-APN-DNPM#ANMAT  
C/101 N. 1000 VALPARAISO LEGAL





Sobre-rótulo local

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica  
 Autorizado por la A.N.M.A.T. PM-740-549  
 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:**

cobas® CMV Control Kit  
for use on the cobas® 4800 System



**c4800 CMV CTLS**

KIT **LOT** ??????????

??????????

**LOT**

(-) C 2 ??????

CMV L(+)C ??????

CMV H(+)C ??????

**IVD**



cobas® 4800 system  
cobas® CMV AP v1.0 or higher  
cobas® 4800 system Application Software Version 2.2 or higher

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

08071288001-01

IF-2019-00359749-CPN-DNRM#ANMAT  
ROCHE SA Qe I  
ROCHE DIAGNOSTICA



# PROYECTO DE MANUAL DE INSTRUCCIONES

IF-2019-00359749-APN-DNPM#ANMAT.

*[Handwritten signature]*  
SECRETARIA DE ECONOMIA  
SECRETARIA DE ECONOMIA



**cobas®**

## **cobas® CMV**

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

*Para diagnóstico in vitro*

|  |                        |                                      |
|--|------------------------|--------------------------------------|
| <b>cobas® CMV</b>                                  | 120 Tests              | P/N: 07865970190                     |
| <b>cobas® CMV Control Kit</b>                      | 10 Sets                | P/N: 07865988190                     |
| <b>cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2</b> | 240 Tests<br>960 Tests | P/N: 06979513190<br>P/N: 06979521190 |
| <b>cobas® 4800 System Wash Buffer Kit</b>          | 240 Tests<br>960 Tests | P/N: 05235863190<br>P/N: 05235871190 |
| <b>cobas® 4800 System Lysis Kit 2</b>              | 240 Tests<br>960 Tests | P/N 06979530190<br>P/N 06979548190   |

IF-2019-00359749-APN-DNPM#ANMAT

SECRETARÍA DE SALUD PÚBLICA  
CENTRO NACIONAL DE DIAGNÓSTICA  
INSTITUTO NACIONAL DE LEGAL MEDICINE

## TABLA DE CONTENIDO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Uso previsto .....</b>   | <b>4</b>  |
| <b>Resumen y explicación de la prueba .....</b>                         | <b>4</b>  |
| Información de referencia.....  | 4         |
| Motivos para el uso de las pruebas NAT para CMV.....                    | 5         |
| Explicación de la prueba.....   | 5         |
| Principios del procedimiento .....                                      | 5         |
| <b>Materiales y reactivos.....</b>                                      | <b>7</b>  |
| Reactivos.....  | 7         |
| Requisitos de almacenamiento y manipulación.....                        | 12        |
| Material adicional necesario.....                                       | 12        |
| Equipos y programas necesarios pero no suministrados.....               | 13        |
| Tubos de muestra compatibles.....                                       | 13        |
| <b>Precauciones y requisitos de manipulación .....</b>                  | <b>14</b> |
| Advertencias y precauciones.....  | 14        |
| Buenas prácticas de laboratorio.....                                    | 15        |
| Manipulación de reactivos.....  | 15        |
| Contaminación.....  | 15        |
| Integridad.....   | 16        |
| Eliminación.....  | 16        |
| Limpieza de derrames.....   | 16        |
| <b>Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras .....</b>     | <b>17</b> |
| Obtención de las muestras.....  | 17        |
| Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte..... | 17        |
| <b>Instrucciones de uso .....</b>                                       | <b>18</b> |
| Realización de la prueba.....   | 18        |
| Tamaño de la serie.....   | 18        |
| Flujo de trabajo.....   | 19        |
| <b>Resultados.....</b>  | <b>21</b> |
| Control de calidad y validez de los resultados.....                     | 21        |
| Interpretación de los resultados del control.....                       | 21        |
| Interpretación de los resultados.....                                   | 22        |
| Lista de avisos.....  | 23        |
| Limitaciones del procedimiento.....                                     | 24        |
| <b>Evaluación no clínica del rendimiento.....</b>                       | <b>25</b> |
| Características clave de rendimiento.....                               | 25        |

|   |           |
|---|-----------|
| Límite de detección (LoD) .....   | 25        |
| Estándar internacional de la OMS .....  | 25        |
| Intervalo lineal .....  | 25        |
| Precisión intralaboratorio .....  | 27        |
| Verificación del genotipo .....   | 27        |
| Verificación del límite de detección para los genotipos de glicoproteína B gB-2, gB-3 y gB-4 .....  | 27        |
| Verificación del intervalo lineal para los genotipos gB-2, gB-3 y gB-4 de glicoproteína B.....  | 28        |
| Verificación de muestras de CMV resistentes a fármacos.....   | 28        |
| Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos<br>(resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir) ..... | 28        |
| Verificación del intervalo lineal para muestras de CMV resistentes a fármacos<br>(resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir) .....        | 28        |
| Especificidad .....   | 29        |
| Especificidad analítica.....  | 29        |
| Especificidad analítica: sustancias interferentes .....   | 30        |
| Correlación de métodos .....  | 30        |
| Fallo de todo el sistema.....   | 31        |
| Contaminación por arrastre .....  | 31        |
| <b>Información adicional .....</b>  | <b>32</b> |
| Características principales del ensayo .....  | 32        |
| Símbolos .....  | 33        |
| Fabricante y distribuidores .....   | 34        |
| Marcas registradas y patentes .....   | 34        |
| Copyright.....  | 34        |
| Bibliografía .....  | 35        |
| Revisión del documento .....  | 37        |

## Uso previsto

La prueba cobas<sup>®</sup> CMV es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la medición cuantitativa del ADN del citomegalovirus (CMV) en plasma humano conservado en EDTA. cobas<sup>®</sup> CMV se ha diseñado como soporte para el diagnóstico y la gestión del CMV en pacientes trasplantados de órganos sólidos y en pacientes que han recibido trasplantes de células madre hematopoyéticas. La prueba se puede utilizar con estas poblaciones para valorar la necesidad de iniciar un tratamiento antiviral. En aquellos pacientes sometidos a terapia anti-CMV, pueden utilizarse las mediciones en serie del ADN para valorar la respuesta viral al tratamiento. Los resultados de la prueba cobas<sup>®</sup> CMV deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio relevantes.

## Resumen y explicación de la prueba

### Información de referencia

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

Los métodos de laboratorio existentes para el diagnóstico de la infección diseminada y la enfermedad visceral activa características del CMV humano son el aislamiento del virus por cultivo a partir de leucocitos de sangre periférica (LSP), la histología de biopsias, métodos serológicos, la medición de la antigenemia pp65 y la detección de ADN del CMV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).<sup>8</sup> Los métodos de cultivo tienen un valor predictivo escaso, requieren un tiempo de ejecución superior a 48 horas y tienen un uso limitado en pacientes inmunocomprometidos. El ensayo de la antigenemia pp65 requiere un trabajo intensivo y, para realizarlo, es necesario que la sangre se procese en el plazo de 6 horas desde la extracción, debido al descenso de antigenemia que se produce durante el almacenamiento.<sup>9</sup> El ensayo pp65 también resulta difícil de llevar a cabo en pacientes neutropénicos. La detección directa de ADN del CMV con métodos de PCR a tiempo real, por ejemplo, ofrece potencialmente un amplio rango dinámico y una elevada precisión y sensibilidad.

Los conocimientos actuales sobre los umbrales clínicamente relevantes para el desarrollo de la enfermedad por CMV provienen de una gran variedad de estudios realizados con tecnologías, poblaciones de estudio y puntos finales diferentes.<sup>10-17</sup> Por lo general, una carga vírica superior se relaciona estrechamente con el riesgo de desarrollar la enfermedad por CMV. La relación entre la viremia y la enfermedad es sigmoidal, por lo que el riesgo de padecer la enfermedad por CMV aumenta significativamente cuando la carga viral del CMV alcanza un "umbral crítico". Por ejemplo, para un ensayo desarrollado por el laboratorio para la detección de ADN del CMV en sangre total utilizado para realizar pruebas en los pacientes trasplantados de hígado, el umbral crítico se ha establecido en  $\geq 5 \log_{10}$  copias/ml de ADN de CMV.<sup>15</sup> En pacientes con VIH/SIDA, los niveles de ADN de CMV están relacionados con el riesgo de enfermedad por CMV y la mortalidad general.<sup>18-21</sup>

Sin embargo, los métodos actuales desarrollados por los laboratorios para la cuantificación del ADN de CMV están limitados por la falta de resultados estandarizados, lo que genera un alto nivel de variabilidad entre laboratorios y ensayos.<sup>22</sup> Por ello, resulta fundamental validar la reproducibilidad de la carga viral del ADN de CMV para garantizar la coherencia de los resultados a fin de gestionar los pacientes con enfermedad por CMV. Las directrices actuales basadas en la precisión de las pruebas de PCR sugieren que los cambios en las mediciones en serie de la carga viral deberían triplicarse como mínimo ( $0,5 \log_{10}$  copias/ml) para ser considerados un cambio biológicamente importante. Dado que la variabilidad es máxima en concentraciones bajas, los cambios en la carga viral tienen que ser 5 veces mayores ( $0,7 \log_{10}$  copias/ml) cuando los valores de título están próximos al límite de cuantificación inferior del ensayo para que sean considerados de importancia.<sup>13,14</sup>

A pesar de que el umbral exacto sigue siendo motivo de debate debido a la variabilidad entre ensayos, el umbral crítico se postula como un concepto válido y se ha utilizado en estudios de historia natural para demostrar que unos valores elevados de carga viral están relacionados con un mayor riesgo de desarrollo de la enfermedad por CMV.<sup>10-17</sup> Un estudio realizado con la prueba COBAS® AMPLICOR CMV MONITOR (prueba CACM, para uso exclusivo de investigación en Estados Unidos y con aprobación CE-IVD) estableció un punto de corte para la predicción de la enfermedad comprendido entre 2.000 y 5.000 copias/ml para sujetos con trasplante de hígado seropositivos para CMV.<sup>12</sup>

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

Los métodos de laboratorio existentes para diagnosticar la infección diseminada y la enfermedad visceral activa características del CMV humano son el aislamiento del virus por cultivo a partir de leucocitos de sangre periférica (LSP), la histología de biopsias, métodos serológicos, la medición de la antigenemia pp65 y la detección de ADN del CMV mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).<sup>8</sup> La serología solamente es importante para determinar si un paciente ha estado infectado previamente por el CMV y si presenta riesgo de reactivación. Los métodos de cultivo tienen un valor predictivo escaso, requieren un tiempo de ejecución superior a 48 horas y tienen un uso limitado en pacientes inmunocomprometidos. El ensayo de la antigenemia pp65 requiere un trabajo intensivo y, para realizarlo, es necesario que la sangre se procese en el plazo de 6 horas desde la extracción, debido al descenso de antigenemia que se produce durante el almacenamiento.<sup>9</sup> El ensayo pp65 también resulta difícil de llevar a cabo en pacientes neutropénicos. La detección directa de ADN del CMV con métodos de PCR a tiempo real, por ejemplo, ofrece potencialmente un amplio rango dinámico y una elevada precisión y sensibilidad.

## Explicación de la prueba

La prueba cobas® CMV es una prueba cuantitativa realizada en el cobas® 4800 System. cobas® CMV permite la detección y cuantificación del ADN de CMV rastreado al primer estándar internacional para HCMV de la OMS en plasma de pacientes infectados conservado en EDTA. La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un estándar de cuantificación de ADN diferente del CMV (DNA-QS) que se añade a cada una de las muestras durante el procesamiento de las muestras. El DNA-QS también permite monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza tres controles externos: uno positivo de título alto, uno positivo de título bajo y uno negativo.

## Principios del procedimiento

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

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente, controles externos y moléculas del estándar de cuantificación de ADN (DNA QS) de lambda se realiza simultáneamente. En resumen, los ácidos nucleicos víricos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las 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 tampón de lavado, mientras que los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el tampón de elución a temperatura elevada.

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para el fragmento objetivo que se seleccionan de regiones altamente conservadas del gen (UL54) ADN polimerasa del CMV. La amplificación selectiva de DNA QS se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del CMV. Para el proceso de amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias objetivo y de DNA QS se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR con unos pasos de temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).<sup>8-25</sup> La enzima AmpErase, que se incluye en la mezcla para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se eliminan los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de cobas<sup>®</sup> CMV contiene una sonda de detección específica para las secuencias objetivo del CMV y una para DNA QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes que permiten la detección simultánea del fragmento objetivo del CMV y el DNA QS en dos canales de detección distintos.<sup>26,27</sup> 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 nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia generada por los marcadores emisores liberados para los fragmentos objetivo víricos y el DNA QS.



| Kit   | Componentes e ingredientes de los reactivos  | Cantidad por kit | Símbolo de seguridad y advertencia*   |
|---|--|------------------|---|
| <b>cobas® CMV Control Kit</b><br>(Kit de control <b>cobas® CMV</b> )<br>10 juegos<br>(P/N: 07865988190) | <b>CMV L(+)<sup>C</sup></b><br>(Control positivo bajo para <b>cobas® CMV</b> )<br>< 0,001% de ADN (plasmídico) sintético de CMV encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR.<br>0,1% de conservante ProClin® 300                | 10 × 0,75 ml     |  <br>Atención<br>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.<br>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.<br>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.<br>P280: Utilice guantes protectores.<br>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.<br>P362 + P364: Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.<br>P501: Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. |
|   | <b>CMV H(+)<sup>C</sup></b><br>(Control positivo alto para <b>cobas® CMV</b> )<br>< 0,001% de ADN (plasmídico) sintético de título alto de CMV encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR.<br>0,1% de conservante ProClin® 300 | 10 × 0,75 ml     |   |
|   | <b>(-)<sup>C2</sup></b><br>(Control negativo 2 para <b>cobas®</b> )<br>Plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VHC, anticuerpos frente al VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR.<br>< 0,1% de conservante ProClin® 300  | 10 × 0,75 ml     |   |

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

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

Firmado por: DOCTORA MELBA MAZZA  
 SECRETARÍA DE ESTADO  
 MINISTERIO DE SALUD  
 SECRETARÍA DE ESTADO  
 MINISTERIO DE SALUD

| Kit  | Componentes e ingredientes de los reactivos   | Cantidad por kit | Símbolo de seguridad y advertencia*  |
|--|---|------------------|--|
| <b>cobas® 4800 System</b><br>Lysis Kit 2<br>(Kit de lisis 2 para el <b>cobas® 4800 System</b> )<br>240 pruebas<br>(P/N: 06979530190) | <b>P 2</b><br>(Proteasa 2 para <b>cobas® 4800</b> )<br>Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa                                     | 10 x 1,0 ml      |  <p>Peligro</p> <p>H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación.</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>H318: Provoca lesiones oculares graves.</p> <p>H334: Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.</p> <p>H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P280: Llevar guantes/gafas/máscara de protección.</p> <p>P284 Llevar equipo de protección respiratoria.</p> <p>P304 + P340 + P312: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P342 + P311: En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> |
|  | <b>LYS 2</b><br>(Tampón de lisis 2 para <b>cobas® 4800</b> )<br>43% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitól, citrato de sodio dihidratado | 10 x 27 ml       |  |

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



## Requisitos de almacenamiento y manipulación

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

\* Almacene la caja del Control Kit en posición vertical  
No congele los reactivos.

## Material adicional necesario

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

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

## Equipos y programas necesarios pero no suministrados

| Equipos y programas necesarios, no suministrados   |
|--|
| <b>cobas® 4800 System</b><br><b>cobas x 480 instrument</b><br><b>cobas z 480 analyzer</b><br>Unidad de control |
| Software de la aplicación (core) para el <b>cobas® 4800 System</b> versión 2.2 o posterior                     |
| Software de la aplicación para <b>cobas® CMV</b> en el <b>cobas® 4800 System</b> versión 1.0.0 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

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

Los tubos de muestra compatibles se indican a continuación:

### Tubos primarios (volumen de procesamiento de 400 µl)

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

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

### Tubos secundarios (volumen de procesamiento de 400 µl)

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

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

## Precauciones y requisitos de manipulación

### Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- No se ha evaluado el uso de la prueba cobas® CMV para el cribado de la presencia de CMV en sangre o productos sanguíneos.
- Todas las muestras de 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.<sup>28,29</sup> Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® CMV y el cobas® 4800 System.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. El cobas® CMV Control Kit contiene plasma derivado de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante las pruebas para anticuerpos autorizadas y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc. En el análisis del plasma humano normal con métodos de PCR no se ha detectado ARN de VIH-1 (grupos M y O), ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO o ADN de CMV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- Evite la exposición del reactivo MGP a fuentes de campos magnéticos.
- No congele la sangre total ni las muestras almacenadas en tubos primarios.
- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Almacene la caja del cobas® CMV Control Kit en posición vertical.
- Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del cobas x 480 instrument o el cobas z 480 analyzer, consulte la Asistencia al usuario correspondiente del cobas® 4800 System (anteriormente denominada Manual del sistema). Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

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

## Buenas prácticas de laboratorio

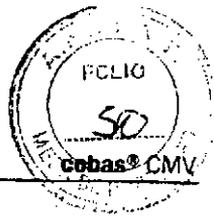
- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule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

## Manipulación de reactivos

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

## Contaminación

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



## Integridad

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

## Eliminación

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

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

## Limpieza de derrames

- El **cobas**<sup>®</sup> 4800 Lysis Buffer 2 contiene tiocianato de guanidina. Si se derrama líquido que contenga tiocianato de guanidina, límpielo con un detergente apto para laboratorio y agua. Si el líquido vertido contiene agentes potencialmente infecciosos, limpie PRIMERO el área afectada con detergente para laboratorio y agua y, a continuación, con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.
- Si el derrame se produce sobre un **cobas x 480** instrument, siga las instrucciones de limpieza que se detallan en la Asistencia al usuario del **cobas**<sup>®</sup> 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**<sup>®</sup> 4800 System.



# Instrucciones de uso

## Realización de la prueba

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

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

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

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

## Tamaño de la serie

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

En la Ilustración 1 se resume el procedimiento.

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



## Flujo de trabajo

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

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

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

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

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

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

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

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

9. Cargue los reactivos.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

14. Retire las muestras, los reactivos utilizados y la placa de extracción como se indica en la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System.

15. Una vez finalizada la serie de amplificación y detección, siga las instrucciones de la Asistencia al usuario del cobas® 4800 System para revisar y aceptar los resultados.

16. Si trabaja con un LIS, envíe los resultados al LIS.

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

## Resultados

El cobas® 4800 System determina automáticamente la concentración de ADN del CMV en las muestras y los controles. La concentración de ADN del CMV se expresa en unidades internacionales por mililitro (UI/ml).

### Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie se procesan un control negativo (-)C2 y dos controles positivos: un control positivo bajo [CMV L(+)C y un control positivo alto CMV H(+)C.
- Compruebe la validez de la serie en el cobas® 4800 Software y/o en el informe.
- El cobas® 4800 software invalida automáticamente los resultados cuando fallan los controles positivos y negativos.

### Interpretación de los resultados del control

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

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

MELE MAZZA  
 DIAGNOSTICA  
 S.p.A.

## Interpretación de los resultados

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

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

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

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

| cobas® CMV               | Notificación e interpretación de los resultados   |
|--------------------------|---|
| Target Not Detected      | ADN del CMV no detectado.<br>Los resultados se indican como "CMV no detectado".   |
| < Titer Min              | El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) del ensayo. Los resultados se indican como "CMV detected less than (Titer Min)."<br>Título mínimo = 3,45E + 01 UI/ml           |
| Título                   | El título calculado está comprendido en el intervalo lineal del ensayo: mayor o igual que el título mínimo y menor o igual que el título máximo.<br>Los resultados se indican como "(Título) de CMV detectado". |
| > Titer Max <sup>a</sup> | El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULOQ) del ensayo. Los resultados se indican como "CMV detectado, superior a (título máximo)."<br>Título máximo = 1,00E + 07 UI/ml    |

<sup>a</sup> Un resultado de muestra "> Titer Max" hace referencia a las muestras positivas para CMV detectadas con títulos superiores al límite de cuantificación superior (ULOQ). Si desea obtener resultados cuantitativos, diluya la muestra original con plasma conservado en EDTA negativo para el CMV (según el tipo de la muestra original) y repita la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

## Lista de avisos

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

**Tabla 3: Lista de avisos**

| Código del aviso | Descripción  | Acción recomendada   |
|------------------|--|--|
| R4800            | El fragmento objetivo no es válido debido a un error de cálculo.           | El fragmento objetivo no es válido debido a un error de cálculo.<br>1. Vuelva a analizar la muestra.<br>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.<br>1. Vuelva a analizar la muestra.<br>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. <sup>a</sup><br>1. Repita toda la serie con reactivos nuevos.<br>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.<br>1. Repita toda la serie con reactivos nuevos.<br>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. <sup>b</sup><br>1. Repita toda la serie con reactivos nuevos.<br>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.<br>1. Compruebe que no haya coágulos en la muestra.<br>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.<br>1. Asegúrese de que haya volumen de muestra suficiente.<br>2. Compruebe que la placa de expulsión de puntas esté bien colocada.<br>3. Vuelva a analizar la muestra. |

<sup>a</sup> Aviso para muestra que se produce cuando un control externo de la serie resulta no válido.

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

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

## Limitaciones del procedimiento

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

# Evaluación no clínica del rendimiento

## Características clave de rendimiento

### Límite de detección (LoD)

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

### Estándar internacional de la OMS

El límite de detección de la prueba cobas® CMV se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie del 1.º estándar internacional de la OMS para ADN del citomegalovirus humano en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (1.º estándar internacional de la OMS para CMVH<sup>30</sup>) obtenido de NIBSC, en plasma humano conservado en EDTA negativo al CMV. Se analizaron paneles con siete niveles de concentración más un blanco con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

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

Tabla 4: Límite de detección

| Concentración del título de entrada (ADN de CMV en UI/ml) | Número de réplicas válidas                 | Número de positivos | Tasa de positividad en % |
|---|--|---------------------|--------------------------|
| 60,0  | 126  | 126                 | 100,0                    |
| 46,0  | 126  | 126                 | 100,0                    |
| 34,5  | 124  | 124                 | 100,0                    |
| 23,0  | 126  | 121                 | 96,0                     |
| 15,0  | 126  | 109                 | 86,5                     |
| 10,0  | 126  | 96                  | 76,2                     |
| 5,0   | 126  | 63                  | 50,0                     |
| 0,0   | 72   | 0                   | 0,0                      |
| LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%      | 20,5 UI/ml<br>(IC al 95%: 16,9-23,3 UI/ml) |                     |                          |

### Intervalo lineal

La linealidad de la prueba cobas® CMV se evaluó con una serie de diluciones formadas por un panel de 10 muestras con concentraciones de ADN del genotipo gB-1 del CMV que cubren todo el intervalo lineal del ensayo (entre  $1,55E + 01$  UI/ml y  $3,11E + 07$  UI/ml). Se utilizaron dos lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV y se analizó cada miembro del panel con 12 réplicas por lote. Los resultados del estudio se presentan a modo representativo en la Ilustración 2 y la Ilustración 3.

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

Ilustración 2: Linealidad del lote 1

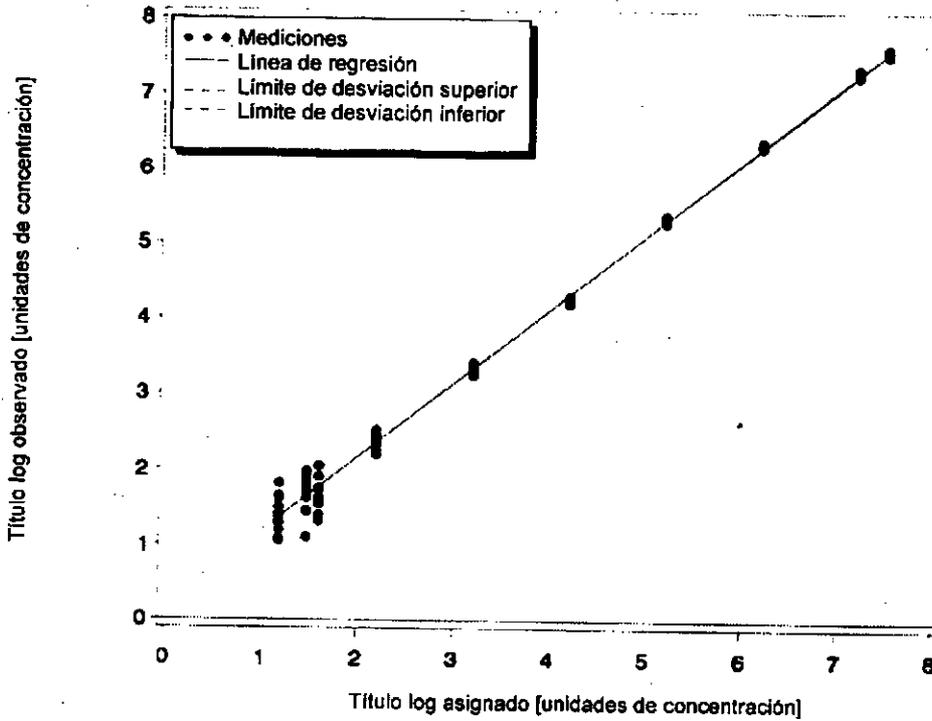
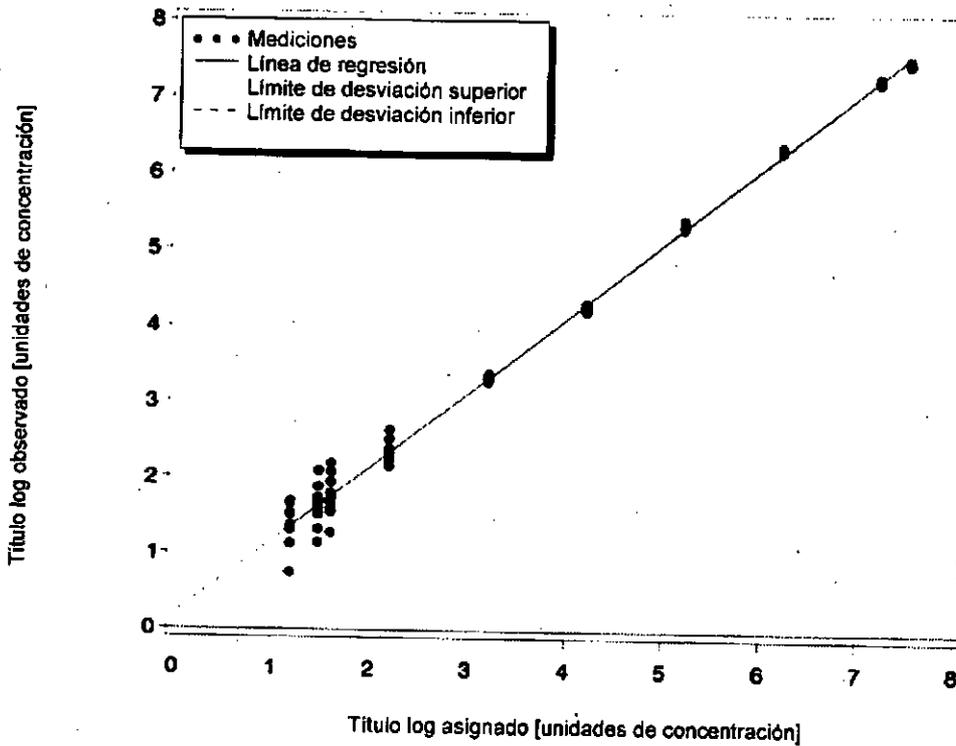


Ilustración 3: Linealidad del lote 2



## Precisión intralaboratorio

La precisión de la prueba cobas® CMV se ha determinado mediante el análisis de diluciones en serie del ADN del genotipo gB-1 del CMV. Se analizaron seis niveles de dilución en 90 réplicas para cada nivel con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® CMV en dos instrumentos diferentes y con cuatro usuarios distintos durante 15 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® CMV en el cobas® 4800 System. Por lo tanto, la precisión a la que se hace referencia en este documento engloba todas las fases del procedimiento de la prueba. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

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

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

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

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

## Verificación del genotipo

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

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

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

Se diluyeron sobrenadantes de cultivos celulares de CMV para dos genotipos distintos de la glicoproteína B (gB-2 y gB-3) ADN plasmídico de CMV para el genotipo 4 (gB-4) de la glicoproteína B en plasma conservado en EDTA negativo para el CMV. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 42 réplicas de un nivel de concentración. El análisis se realizó con un lote de reactivo de cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 6. Los resultados demuestran que la prueba cobas® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV para tres genotipos diferentes en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad  $\geq 95\%$ .

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

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

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

La serie de diluciones utilizada para la verificación del intervalo lineal (según la determinación del genotipo 1 de la glicoproteína B del CMV) de todos los genotipos de la glicoproteína B del CMV (gB2, gB3 y gB4) constaba de un panel de siete miembros con el que se cubre todo el intervalo deseado. El análisis se realizó con un lote de reactivo de la prueba cobas® CMV y se analizaron 12 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se comprobó el intervalo lineal de la prueba cobas® CMV para los tres genotipos (gB-2, gB-3 y gB-4). La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue igual o menor que 0,06 log<sub>10</sub>.

## Verificación de muestras de CMV resistentes a fármacos

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

- Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes frente a ganciclovir, valganciclovir, cidofovir o foscarnet)
- Verificación del intervalo lineal para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes frente a ganciclovir, valganciclovir, cidofovir o foscarnet)

### Verificación del límite de detección para las muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir)

Se diluyeron sobrenadantes de cultivos celulares de CMV de dos muestras de CMV resistentes a fármacos (resistentes a foscarnet o ganciclovir, valganciclovir y cidofovir) en plasma conservado en EDTA negativo para CMV. La determinación de la tasa de positividad se realizó con 42 réplicas de un nivel de concentración. El análisis se realizó con un lote de reactivo de cobas® CMV. Los resultados se muestran en la Tabla 7. Los resultados demuestran que la prueba cobas® CMV es capaz de detectar el ADN del CMV para tres genotipos diferentes en una concentración de 34,5 UI/ml con una tasa de positividad ≥ 95%.

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

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

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

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

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

## Especificidad

La especificidad de la prueba cobas® CMV se determinó mediante el análisis de muestras de plasma conservadas en EDTA negativas para el CMV obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 611 muestras individuales de plasma conservado en EDTA con tres lotes de reactivo de cobas® CMV. 611 muestras dieron negativo para ADN del CMV. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba cobas® CMV fue del 100% (límite de confianza unilateral inferior del 95%: 99,5%).

## Especificidad analítica

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

Tabla 8: Patógenos analizados para reactividad cruzada

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

## Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (33,0 g/l), bilirrubina conjugada (0,2 g/l), bilirrubina no conjugada (0,2 g/l), albúmina (60,0 g/l), hemoglobina (2,0 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras con presencia y ausencia de ADN del CMV. El análisis de las sustancias demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® CMV. Asimismo, se analizó la presencia de marcadores de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y anticuerpos antinucleares (ANA).

Además, se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 9 con una concentración tres veces superior a la Cmax tanto en presencia como en ausencia de ADN del CMV.

Se ha demostrado que ninguna de las posibles sustancias interferentes afecta al rendimiento de la prueba. La prueba cobas® CMV generó resultados negativos para todas las muestras sin fragmento objetivo del CMV y resultados positivos para todas las muestras con fragmento objetivo del CMV. Además, el título  $\log_{10}$  medio de cada una de las muestras positivas para CMV con sustancias potencialmente interferentes se situó en  $\pm 0,36 \log_{10}$  del título  $\log_{10}$  medio del control positivo respectivo añadido.

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

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

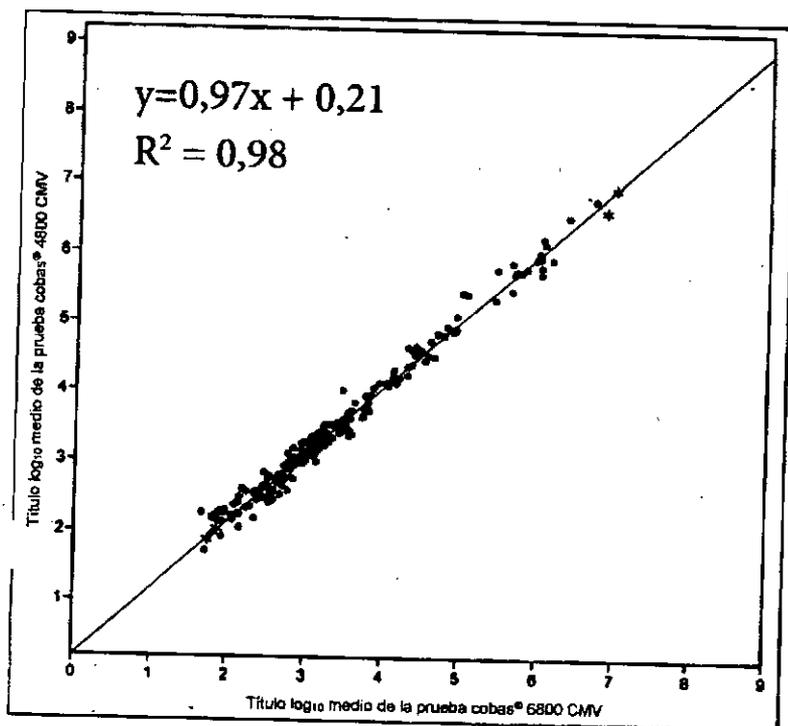
## Correlación de métodos

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

Se realizó un análisis de muestras de plasma conservado en EDTA obtenidas de pacientes infectados por CMV para comparar el rendimiento de la prueba cobas® CMV para uso en el cobas® 4800 System y la prueba cobas® CMV para uso en los cobas® 6800/8800 Systems. Un total de 197 muestras de plasma conservado en EDTA de todos los genotipos del CMV, analizadas por duplicado, resultaron válidas y se encontraban dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizó el análisis de la regresión de Deming. La desviación del título medio de las muestras analizadas con las dos pruebas fue de  $0,11 \log_{10}$  (intervalo de confianza del 95%: 0,09; 0,13).

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

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



### Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba cobas® CMV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió fragmento objetivo del CMV. Las muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente  $3 \times \text{LLOQ}$  (104 UI/ml).

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

### Contaminación por arrastre

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

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



## Información adicional

### Características principales del ensayo

|  |  |
|--|--|
| <b>Tipo de muestra</b>                                   | Plasma conservado en EDTA  |
| <b>Volumen de procesamiento de muestras</b>              | 400 µl   |
| <b>Sensibilidad analítica</b>                            | 34,5 UI/ml   |
| <b>Intervalo lineal</b>                                  | 34,5 UI/ml – 1,0E + 07 UI/ml.  |
| <b>Especificidad</b>                                     | 100%   |
| <b>Genotipos detectados</b>                              | Genotipos de glicoproteína B 1-4 de CMV  |
| <b>Muestras de CMV resistentes a fármacos detectadas</b> | Muestras de CMV resistentes a ganciclovir, valganciclovir, cidofovir y foscarnet |

## Símbolos

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

Tabla 10: Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de diagnóstico mediante PCR de Roche



Programa auxiliar



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Límite inferior del intervalo asignado



Hoja de datos del código de barras



Fabricante



Código de lote



Almacenar en la oscuridad



Riesgo biológico



Suficiente para  $<n>$  pruebas



Número de catálogo



Límite de temperatura



Consulte las instrucciones de uso



Archivo de definición de pruebas



Contenido del kit



Límite superior del intervalo asignado



Distribuido por



Fecha de caducidad



Para evaluación del rendimiento IVD únicamente



Número mundial de artículo comercial



Este lado hacia arriba



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

*(Handwritten signature)*  
 DR. ROBERTO MAZZA  
 Roche Diagnostics S.p.A.  
 Via ...

## Fabricante y distribuidores

Tabla 11: Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos

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



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

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

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

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

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

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Vercors  
38240 Meylan, France

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

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

## Marcas registradas y patentes

consulte la página <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

## Copyright

©2017 Roche Molecular Systems, Inc.





## Bibliografía

1. Griffiths PD. Cytomegalovirus. In: Zuckerman AJ, Banatvala JE, Pattison JR, editors. Principles and Practice of Clinical Virology. London: John Wiley and Sons; 2000. p. 79-116.
2. Pass RR. Cytomegalovirus. In: Knipe D, Howley P, editors. Fields Virology. Philadelphia: Lippincott, Williams and Wilkins; 2001. p. 2675-2706.
3. Reeves M, Sinclair J. Aspects of Human Cytomegalovirus Latency and Reactivation. In: Shenk T, Stinski MF, editors. Human Cytomegalovirus. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 2008. p. 2976-314.
4. Jordan MC. Latent infection and the elusive cytomegalovirus. Rev Infect Dis. 1983;5(2):205-15.
5. Drew WL. Other virus infections in AIDS. I. Cytomegalovirus. Immunol Ser. 1989;44:507-34.
6. Drew WL. Nonpulmonary manifestations of cytomegalovirus infection in immunocompromised patients. Clin Microbiol Rev 1992;5(2):204-10.
7. Moscarski ES, Courcelle CT. Cytomegaloviruses and their replication. In: Knipe D, Howley P, editors. Fields Virology. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2001. p. 2629-74.
8. Yan SS, Fedorko DP. Recent advances in laboratory diagnosis of human Cytomegalovirus infection. Clin Appl Immunol Revs. 2002;2:155-67.
9. Preiksaitis JK, Brennan DC, Fishman J, Allen U. Canadian society of transplantation consensus workshop on cytomegalovirus management in solid organ transplantation final report. Am J Transplant 2005;5(2):218-27.
10. Asberg A, Humar A, Rollag H, et al. Oral valganciclovir is noninferior to intravenous ganciclovir for the treatment of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. Am J Transplant 2007;7(9):2106-13.
11. Humar A, Kumar D, Boivin G, Caliendo AM. Cytomegalovirus (CMV) virus load kinetics to predict recurrent disease in solid-organ transplant patients with CMV disease. J Infect Dis 2002;186(6):829-33.
12. Humar A, Gregson D, Caliendo AM, et al. Clinical utility of quantitative cytomegalovirus viral load determination for predicting cytomegalovirus disease in liver transplant recipients. Transplantation 1999;68(9):1305-11.
13. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. Transplantation 2010;89(7):779-95.
14. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. Transplantation 2013;96(4):333-60.
15. Cope AV, Sabin C, Burroughs A, Rolles K, Griffiths PD, Emery VC. Interrelationships among quantity of human cytomegalovirus (HCMV) DNA in blood, donor-recipient serostatus, and administration of methylprednisolone as risk factors for HCMV disease following liver transplantation. J Infect Dis 1997;176(6):1484-90.
16. Razonable RR, Emery VC. Management of CMV infection and disease in transplant patients. 27-29 February 2004. Herpes 2004;11(3):77-86.
17. Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. J Clin Virol 2008;41(3):237-41.
18. Salmon-Céron D, Mazonon MC, Chaput S, et al. Plasma cytomegalovirus DNA, pp65 antigenaemia and a low CD4 cell count remain risk factors for cytomegalovirus disease in patients receiving highly active antiretroviral therapy. AIDS 2000;14(8):1041-9.



19. Emery VC, Sabin C, Feinberg JE, Grywacz M, Knight S, Griffiths PD. Quantitative effects of valacyclovir on the replication of cytomegalovirus (CMV) in persons with advanced human immunodeficiency virus disease: baseline CMV load dictates time to disease and survival. The AIDS Clinical Trials Group 204/Glaxo Wellcome 123-014 International CMV Prophylaxis Study Group. *J Infect Dis* 1999;180(3):695-701.
20. Bowen EF, Sabin CA, Wilson P, et al. Cytomegalovirus (CMV) viraemia detected by polymerase chain reaction identifies a group of HIV-positive patients at high risk of CMV disease. *AIDS* 1997;11(7):889-93.
21. Jabs DA, Gilpin AM, Min YI, Erice A, Kempen JH, Quinn TC. HIV and cytomegalovirus viral load and clinical outcomes in AIDS and cytomegalovirus retinitis patients: Monoclonal Antibody Cytomegalovirus Retinitis Trial. *AIDS* 2002;16(6):877-87.
22. Pang XL, Fox JD, Fenton JM, Miller GG, Caliendo AM, Preiksaitis JK. Interlaboratory comparison of cytomegalovirus viral load assays. *Am J Transplant* 2009;9(2):258-68.
23. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
24. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
25. Mol CD, Arvai AS, Slupphau G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
26. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992;10:413-7.
27. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
28. Center for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
29. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition*. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
30. Fryer JF, Heath AB, Minor PD; Collaborative Study Group. A collaborative study to establish the 1st WHO International Standard for human cytomegalovirus for nucleic acid amplification technology. *Biologicals*. 2016;44(4):242-51.



## Revisión del documento

| Información de revisión del documento |                      |
|---------------------------------------|----------------------|
| Doc Rev. 1.0<br>03/2017               | Primera publicación. |



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional  
2019 - Año de la Exportación

**Hoja Adicional de Firmas**  
**Anexo**

**Número:** IF-2019-00359749-APN-DNPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES  
Jueves 3 de Enero de 2019

**Referencia:** 1-47-3110-6069-17-2

---

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 44 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE  
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, o=AR, ou=MINISTERIO DE MODERNIZACION,  
ou=SECRETARIA DE MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT 30715117584  
Date: 2019.01.03 11:05:58 -03'00'

Mariano Pablo Manenti  
Jefe I  
Dirección Nacional de Productos Médicos  
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología  
Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA -  
GDE  
DN: cn=GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE, o=AR,  
ou=MINISTERIO DE MODERNIZACION, ou=SECRETARIA DE  
MODERNIZACION ADMINISTRATIVA, serialNumber=CUIT  
30715117584  
Date: 2019.01.03 11:06:00 -03'00'

**CERTIFICADO DE AUTORIZACIÓN E INSCRIPCIÓN  
PRODUCTOS PARA DIAGNOSTICO DE USO IN VITRO**

Expediente nº 1-47-3110-6069/17-2

La Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) certifica que de acuerdo con lo solicitado por PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnostica), se autoriza la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM), de un nuevo producto para diagnóstico de uso in vitro con los siguientes datos característicos:

**Nombre Comercial: 1) Cobas® CM; 2) Cobas® CMV Kit.**

Indicación de uso: 1) Prueba de amplificación de ácidos nucleicos in vitro para la medición cuantitativa del ADN del citomegalovirus (CMV) en plasma humano conservado en EDTA para usar en el cobas® 4800 System, diseñado como soporte para el diagnóstico y la gestión del CMV en pacientes trasplantados de órganos sólidos y en pacientes que han recibido trasplantes de células madre hematopoyéticas. La prueba se puede utilizar con estas poblaciones para valorar la necesidad de iniciar un tratamiento antiviral. En aquellos pacientes sometidos a terapia anti-CMV, pueden utilizarse las mediciones en serie del ADN para valorar la respuesta viral al tratamiento. 2) Kit de control cobas® CMV.

**Sedes y Delegaciones**

Tel. (+54-11) 4340-0800 - <http://www.anmat.gov.ar> - República Argentina

**Sede Central**  
Av. de Mayo 869, CABA

**Sede Alsina**  
Alsina 665/671, CABA

**Sede INAME**  
Av. Caseros 2161, CABA

**Sede INAL**  
Estados Unidos 25, CABA

**Sede Prod. Médicos**  
Av. Belgrano 1480, CABA

**Deleg. Mendoza**  
Remedios de Escalada de  
San Martín 1909, Mendoza  
Prov. de Mendoza

**Deleg. Córdoba**  
Obispo Trejo 635,  
Córdoba,  
Prov. de Córdoba

**Deleg. Paso de los Libres**  
Ruta Nacional 117, km.10,  
CO.TE.CAR., Paso de los  
Libres, Prov. de Corrientes

**Deleg. Posadas**  
Roque González 1137,  
Posadas, Prov. de  
Misiones

**Deleg. Santa Fé**  
Eva Perón 2456,  
Santa Fé,  
Prov. de Santa Fé

Forma de presentación: 1) Código N° 07865970190 - Envases para 120 determinaciones conteniendo: MMX R1 (10 x 1,75 ml), CMV MMX R2 (10 x 0,5 ml) y DNA QS (10 x 1,75 ml). 2) Código N° 07865988190, Envases para 10 determinaciones conteniendo: **CMV L(+)**C (Control positivo bajo) 10 x 0,75 ml, **CMV H(+)**C (Control positivo alto) 10 x 0,75 ml y **(-)C2** (Control negativo) 10 x 0,75 ml.

Período de vida útil y condición de conservación: 18 (DIECIOCHO) meses desde la fecha de elaboración, conservados de 2 a 8°C.

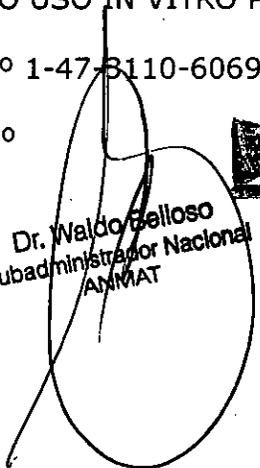
Nombre y dirección del fabricante: *Roche Molecular System, Inc.* 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA), para Roche Diagnostics GmbH, Sandholer Strasse 116 683 Mannheim (Alemania).

Condición de Venta/Categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos. USO PROFESIONAL EXCLUSIVO

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-740-549.

Expediente N° 1-47-3110-6069/17-2

Disposición N°

  
Dr. Waldo Belloso  
Subadministrador Nacional  
ANMAT

888

24 ENE 2019