

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

DISPOSICIÓN N°

BUENOSAIRES, **11 FEB. 2016**

VISTO el expediente NO 1-47-3110-1534/15-2 del Repistr de la
Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología M_rdica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma PRODUCTOS ROCHE S.[.Q. e I.
(División Diagnostica) soiicita autorización para la venta a laboratorios d análisis
clínicos del Producto para diagnóstico de uso "in vitro" denominadO[COBAS@
AmpliPrep-COBAS@ TaqMan@ HIV-1 Qualitative Test, versión 2.0 / PR EBA DE
DIAGNÓSTICO *IN VITRO* DISEÑADA PARA LA DETECCIÓN CUALITAtVA DEL
VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1), MEDIANTE LA
AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS TOTALES EN MUESTRA~ 01 PLASMA
HUMANO O SANGRE SECA, CON EL EQUIPO COBAS@ Ampliprep Y LOS
ANALIZADORES COBAS@TaqMan@OCOBAS@TaqMan@48.

Que a fojas 202 consta el informe técnico producido por el Servicio de
Productos para Diagnóstico que establece que los productos re6nen las
condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que la Dirección Nacional de Productos Médicos ha tomado la int~rvención
de su competencia.

Que se ha dado cumplimiento a los términos que establece **f** Ley N°
16.463, Resolución Ministerial NO145/98 Y Disposición ANMAT NO 267 /99.



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

DISPOSICIÓN N°

15 11

Que la presente se dicta en virtud de las facultades conferidas por el Decreto N° 1490/92 y por el Decreto N° 101/15 de fecha 16 de diciembre de 2015.

Por ello;

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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado COBAS® AmpliPrep-COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, versión 2.0 / PRUEBA DE DIAGNÓSTICO *IN VITRO* DISEÑADA PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1), MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS TOTALES EN MUESTRAS DE PLASMA HUMANO O SANGRE SECA, CON EL EQUIPO COBAS® AmpliPrep Y LOS ANALIZADORES COBAS® TaqMan® O COBAS® TaqMan® 48 , el que será elaborado por ROCHE MOLECULAR SYSTEMS, Inc. 1080 US Highway 202 South, Branchburg, NJ 08876. (USA) PARA: ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA) e importado terminado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) a expendirse en envases conteniendo: (N° de catálogo: 6693083) ENVASES POR 48 PRUEBAS, CONTENIENDO: CASSETTE DE REACTIVO DE MICROPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS1), CASSETTE DE REACTIVO DE LISIS PARA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS2),



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

DISPOSICIÓN N° 5.111

CASSETTE DE MULTIREACTIVOS PARA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS3), CASSETTE DE REACTIVO ESPECÍFICO PARA LA PRUEBA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS4), CONTROL POSITIVO DEL HIV-1 (HIV-1 [+] C, v2.0: 4 x 1,0 ml), CONTROL NEGATIVO DE COBAS® TaqMan® (CTM [-] C: 4 x 1,0 ml), CLIP DE CÓDIGO DE BARRAS PARA CONTROL POSITIVO DEL HIV-1 (HIV-1 [+] C, v2.0 CLIP: 1 x 4) Y CLIP DE CÓDIGO DE BARRAS PARA CONTROL NEGATIVO DEL HIV-1 (HIV-1 [-] C, v2.0 CLIP: 1 x 4), con una vida útil de VEINTICINCO (25) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C y que la composición se detalla a fojas 29 a 31.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 63 a 145, 153 a 160, 166 a 173 y 179 a 186. Desglosándose fojas 119 a 145 y 179 a 186 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

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

ARTÍCULO 5º.- Regístrese, gírese a la Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición,



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

DISPOSICIÓN N°

15111

junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

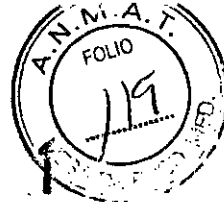
EXPEDIENTE N° 1-47-3110-1534/15-2

DISPOSICIÓN N°:

15111

Fd

Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.



15 1 1

118

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, version 2.0

17 FEB. 2016 **cobas**

PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0	HI2QCAP	48 Tests	P/N: 06693083 190
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent	PG WR	5.1 Liters	P/N: 03587797 190
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Specimen Pre-Extraction Reagent	SPEX	5 x 78 mL	P/N: 06989861 190

USO PREVISTO

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, versión 2.0 es una prueba de diagnóstico *in vitro* mediante amplificación de ácidos nucleicos totales para la detección cualitativa de ADN y ARN (o ácido nucleico total, TNA) del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) en muestras de plasma humano o sangre seca con el equipo COBAS® AmpliPrep para el procesamiento automatizado de muestras y el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 para la amplificación y la detección automatizadas.

Es una prueba diagnóstica indicada para pacientes sospechosos de presentar una infección activa del HIV-1. La detección de TNA del HIV-1 representa un indicio de una infección activa del HIV. Los bebés de madres infectadas con HIV-1 pueden presentar anticuerpos maternos del HIV-1 y la presencia de ácido nucleico del HIV-1 en el niño revela una infección activa del HIV-1. En adultos, la prueba puede utilizarse como herramienta auxiliar para el diagnóstico de la infección por HIV-1.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) es el agente etiológico del Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)¹⁻³. La infección por HIV se puede transmitir mediante contacto sexual, exposición a sangre infectada o hemoderivados o por medio de la madre infectada al feto⁴. Al cabo de tres a seis semanas de exposición al HIV, las personas infectadas, por lo general, desarrollan un síndrome breve y agudo, caracterizado por síntomas pseudogripales y asociado a niveles elevados de viremia⁵⁻⁸. En la mayoría de las personas infectadas se produce a continuación una respuesta inmunitaria específica del HIV y una disminución de la viremia plasmática, normalmente al cabo de cuatro o seis semanas del inicio de los síntomas^{9,10}. Tras la seroconversión, las personas infectadas, por lo general, entran en una fase asintomática, clínicamente estable, que puede prolongarse durante años¹¹⁻¹³. El período asintomático se caracteriza por un nivel plasmático bajo de viremia persistente¹⁴ y una disminución gradual de linfocitos CD4⁺ T, lo que puede dar lugar a inmunodeficiencia grave, múltiples infecciones oportunistas, tumores malignos y la muerte¹⁵. Aunque las concentraciones de virus en sangre periférica son relativamente bajas durante la fase asintomática de la infección, la replicación y eliminación del virus son procesos dinámicos en los que los altos índices de producción de virus y de infección de los linfocitos CD4⁺ quedan equilibrados por los índices, igualmente altos, de eliminación vírica, muerte de las células infectadas y reabastecimiento de linfocitos CD4⁺, lo que da lugar a niveles relativamente estables de viremia y linfocitos CD4⁺ plasmáticos¹⁶⁻¹⁸.

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos permiten diagnosticar infecciones por HIV durante los primeros 18 meses de vida, periodo durante el cual la sangre del bebé todavía contiene anticuerpos maternos que dificultan la interpretación de las pruebas serológicas⁴².

La detección del HIV-1 en plasma y muestras de sangre seca puede demostrar la existencia de una infección activa mediante la utilización de tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos tales como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR)²⁷⁻²⁹. La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 (CAP/CTM HIV-1 Qual Test, v2) emplea tecnología basada en PCR para obtener la máxima sensibilidad en la detección cualitativa del HIV-1 en plasma con anticoagulante EDTA y muestras de sangre seca procedentes de sangre total.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 es una prueba de diagnóstico *in vitro* mediante amplificación de ácidos nucleicos totales para la detección cualitativa de HIV-1 en muestras de plasma humano conservado en EDTA o muestras de sangre seca (DBS), en combinación con el reactivo previo a la extracción de muestras COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® (SPEX).

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se fundamenta en tres procesos básicos: (1) preparación de las muestras para aislar ácidos nucleicos del HIV-1; (2) transcripción inversa del ARN del fragmento objetivo para generar ADN complementario (ADNc) y (3) amplificación mediante PCR del ADN y del ADNc del fragmento objetivo así como detección simultánea de sondas de detección oligonucleótidas doblemente marcadas, escindidas y específicas del fragmento objetivo y del control interno (IC). El flujo de trabajo puede automatizarse con el equipo COBAS® AmpliPrep junto con el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48. Para las muestras DBS se requiere un paso previo a la extracción manual.

El apartado de información de revisión del documento se halla al final del documento.
07002475001-03ES

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.L.
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

Selección del fragmento objetivo

La selección de la secuencia del fragmento objetivo del HIV-1 depende de la identificación de regiones dentro del genoma del HIV-1 que presenten una conservación máxima de la secuencia entre las muestras de los distintos subtipos del grupo M del HIV-1 y de los grupos N y O del HIV-1. Debido a la elevada variabilidad genética del virus, la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se dirige a dos regiones del genoma del HIV de forma simultánea para su amplificación y detección.

Dos sondas oligonucleótidas doblemente marcadas específicas del fragmento objetivo y una sonda oligonucleótida doblemente marcada específica del control interno permiten la identificación independiente del amplicón del HIV-1 y del amplicón del control interno del HIV-1. Por lo tanto, resulta crucial una selección apropiada de los cebadores y de las sondas oligonucleótidas doblemente marcadas para que la prueba pueda amplificar y detectar los subtipos del grupo M del HIV-1 y el grupo O del HIV-1. La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 utiliza transcripción inversa y cebadores de amplificación mediante PCR que definen las secuencias dentro de las regiones altamente conservadas del gen *gag* del HIV-1³² y de la región LTR del HIV-1.

Preparación de las muestras

Procedimiento preanalítico para muestras de sangre seca

Prepare las muestras de sangre seca (DBS) aplicando 70 µl de sangre total humana en una tarjeta de papel de filtro. A continuación, déjela secar. Antes de preparar el material de ácido nucleico para la amplificación y detección, las muestras se extraen del cartón de papel de filtro. Esta extracción se realiza de forma manual, separando un círculo de la tarjeta de papel de filtro con la muestra de sangre seca e introduciéndolo en un tubo S COBAS® AmpliPrep. A continuación, añada reactivo previo a la extracción de muestras COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® (SPEX) e incube a una temperatura elevada con agitación. Las muestras estarán listas para la preparación de muestras automatizada en el equipo COBAS® AmpliPrep. Consulte el apartado *INSTRUCCIONES DE USO* para conocer el flujo de trabajo detallado.

Preparación automatizada de las muestras

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 utiliza la preparación automatizada de las muestras en el equipo COBAS® AmpliPrep mediante una técnica de captura genérica basada en sílice. Se lleva a cabo la lisis de las células y las partículas víricas mediante incubación a temperatura elevada con un tampón de lisis/unión caotrópico que libera los ácidos nucleicos y protege el ARN y el ADN liberados de las nucleasas presentes en la muestra. En cada tubo de muestra se introducen micropartículas magnéticas, el reactivo de lisis y una cantidad conocida de control interno para el HIV-1 (IC, moléculas de Armored RNA). A continuación, la mezcla se incuba y los ácidos nucleicos del ARN del IC del HIV-1 se unen a la superficie de las micropartículas magnéticas. Las sustancias no unidas, tales como sales, proteínas y otras impurezas celulares, se eliminan mediante el lavado de las micropartículas magnéticas. Tras la separación de las micropartículas magnéticas y la completa realización de los pasos de lavado, los ácidos nucleicos adsorbidos se eluyen a temperatura elevada con una solución acuosa. La muestra procesada, que contiene las micropartículas magnéticas junto con los ácidos nucleicos del HIV-1 y el ARN del IC del HIV-1 liberados, se añade a la mezcla de amplificación mediante el equipo COBAS® AmpliPrep y se transfiere al analizador COBAS® TaqMan® o al analizador COBAS® TaqMan® 48.

Transcripción inversa y amplificación mediante PCR

La transcripción inversa y la reacción de amplificación mediante PCR se lleva a cabo con la enzima ADN polimerasa termoestable recombinante de *Thermus specie* Z05 (Z05). En presencia de manganeso (Mn^{2+}) y bajo condiciones de tampón apropiadas, Z05 exhibe actividad tanto de transcriptasa inversa como de polimerasa de ADN^{30,31}. Esto permite que la transcripción inversa y la amplificación mediante PCR tengan lugar junto con la detección a tiempo real del amplicón.

Las muestras procesadas se añaden a la mezcla de amplificación en tubos de amplificación (tubos K), donde se producen tanto la transcripción inversa como la amplificación mediante PCR. La mezcla de reacción se calienta para permitir que los cebadores descendentes se hibriden específicamente con el ARN del fragmento objetivo del HIV-1 y el ARN del IC del HIV-1. En presencia de Mn^{2+} y un exceso de desoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs), entre los que se encuentran trifosfatos de desoxiadenosina, desoxiguanosina, desoxicitidina, desoxiuridina y desoxitimidina, la polimerasa Z05 extiende los cebadores hibridados para formar una cadena de ADN complementaria al fragmento objetivo del ARN.

Amplificación del fragmento objetivo

Las muestras procesadas se añaden a la mezcla de amplificación en tubos de amplificación (tubos K) donde se produce la amplificación mediante PCR. Tras la transcripción inversa del ARN del fragmento objetivo del HIV-1 y el ARN del IC del HIV-1, el termociclador del analizador COBAS® TaqMan® o del analizador COBAS® TaqMan® 48 calienta la mezcla de reacción para desnaturar los híbridos ARN:ADNc y el ADN del HIV-1 y exponer las secuencias del fragmento objetivo específicas del cebador. A medida que la mezcla se enfría, los cebadores se hibridan con el ADN del fragmento objetivo. En presencia de Mn^{2+} y un exceso de desoxinucleótidos trifosfatos (dNTPs), entre los que se encuentran trifosfatos de desoxiadenosina, desoxiguanosina, desoxicitidina, desoxiuridina y desoxitimidina, la polimerasa Z05 prolonga los cebadores hibridados a lo largo de la plantilla objetivo para producir un conjunto de moléculas de ADN bicatenario denominado amplicón. El analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 repiten automáticamente este proceso durante un número de ciclos predeterminado, con el fin de duplicar en cada ciclo la cantidad de ADN amplicón. El número de ciclos requerido se programa previamente en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48. La amplificación tiene lugar únicamente en las dos regiones del genoma del HIV-1 situadas entre los cebadores. No se amplifica el genoma entero del HIV-1.

Amplificación selectiva

En la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0, la amplificación selectiva del ácido nucleico del fragmento objetivo de la muestra se consigue mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina³³, pero no del ADN que contiene desoxitimidina.

El ADN natural carece de desoxiuridina que, sin embargo, está siempre presente en el amplicón debido al uso de trifosfato de desoxiuridina como uno de los dNTPs del reactivo de la mezcla maestra; por lo tanto, solo el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina permite que la enzima AmpErase pueda destruir el amplicón contaminante antes de la amplificación del ADN del fragmento objetivo. Además, la enzima AmpErase destruye cualquier producto inespecífico que se pueda formar tras la activación inicial de la mezcla maestra por el manganeso. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de la mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de la desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico, la cadena de ADN amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, por lo que el ADN ya no puede amplificarse. La enzima AmpErase permanece inactiva durante un período de tiempo prolongado una vez expuesta a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo formado durante la amplificación.

Detección de productos de la PCR en una prueba COBAS® TaqMan®

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 emplea la tecnología de PCR a tiempo real^{34,35}. El uso de sondas marcadas con doble marcador fluorescente permite detectar a tiempo real la acumulación del producto de la PCR mediante la supervisión de la intensidad de emisión de los marcadores emisores fluorescentes liberada durante el proceso de amplificación. Las sondas constan de sondas oligonucleótidas específicas para el HIV-1 y el IC del HIV-1 con un marcador emisor y un marcador silenciador. En la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0, las sondas del HIV-1 y del IC del HIV-1 están marcadas con diferentes marcadores emisores fluorescentes. Cuando las sondas están intactas, la proximidad del marcador silenciador suprime la fluorescencia del marcador emisor debido a efectos de transferencia de energía de tipo Förster. Durante la PCR, la sonda se hibrida con una secuencia del fragmento objetivo y se escinde por la actividad de las nucleasas 5' → 3' de la ADN polimerasa Z05 termoestable. Cuando se han liberado y separado el marcador emisor y el marcador silenciador, cesa el enmascaramiento (quenching) y la actividad fluorescente del marcador emisor experimenta un aumento. La amplificación del fragmento objetivo del HIV-1 y el ARN del IC del HIV-1 se miden de forma independiente en distintas longitudes de onda. Este proceso se repite durante un número de ciclos predeterminado, aumentando en cada ciclo la intensidad de emisión de los marcadores emisores individuales, lo que permite la identificación independiente del fragmento objetivo del HIV-1 y el ARN del IC del HIV-1. El ciclo de la PCR en el que la curva de crecimiento adquiere forma exponencial está relacionado con la cantidad de material de partida presente al inicio de la PCR.

REACTIVOS

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0
(P/N: 06693083 190)

H12QCAP

48 pruebas

HIV-1 QL v2.0 CS1

(Casete de reactivo de micropartículas magnéticas para HIV-1)

Micropartículas magnéticas
93% de isopropanol

1 x 48 pruebas



93% (p/p) de isopropanol

H225, H319, H336

HIV-1 QL v2.0 CS2

(Casete de reactivo de lisis para HIV-1)

Citrato de sodio dihidratado
42,5% de tiocianato de guanidina
< 14% de polidocanol
0,9% de ditiotreitol

1 x 48 pruebas



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

H302, H315, H318, H412

HIV-1 QL v2.0 CS3

Casete de multireactivos para HIV-1, que contiene:

Pase

(Solución de proteinasa)

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



≤ 7,8% (p/p) de proteinasa

H318, H334

1 x 3,8 ml

EB

(Tampón de elución)

- Tampón Tris-base
- 0,2% de metilparabén

1 x 7,0 ml

HIV-1 QL v2.0 CS4

Casete de reactivo específico para la prueba HIV-1, que contiene:

1 x 48 pruebas

HIV-1 IC

(Control interno para HIV-1)

- Tampón Tris-HCl
- EDTA
- < 0,005% de ARN Poli Ar (sintético)
- < 0,001% de constructo de Armored RNA del HIV-1 que contiene secuencias de unión a cebadores del HIV-1 y una región exclusiva de unión a sonda (ARN no infeccioso en bacteriófago MS2)
- 0,05% de azida sódica

1 x 3,6 ml

HIV-1 MMX

(Mezcla maestra para HIV-1)

- Tampón tricina
- Acetato de potasio
- Hidróxido potásico
- 20% de dimetilsulfóxido
- Glicerol
- < 0,04% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, dTTP
- < 0,003% de cebadores ascendentes y descendente correspondientes a la región *gag* y la región LTR del HIV-1
- < 0,003% de aptámero oligonucleótido
- < 0,003% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para el HIV-1 y el control interno del HIV-1
- < 0,05% de ADN polimerasa Z05 (microbiana)
- < 0,1% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana)
- 0,09% de azida sódica

1 x 2,5 ml

CAP/CTM Mn²⁺

(Solución de manganeso para CAP/CTM)

- < 0,5% de acetato de manganeso
- Ácido acético glacial
- 0,09% de azida sódica

1 x 19,8 ml

HIV-1 (+)C, v2.0

(Control positivo para HIV-1, v2.0)

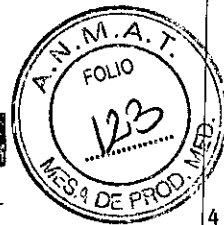
- < 0,001% de constructo de Armored RNA de HIV-1 con secuencias de HIV-1 (ARN no infeccioso en bacteriófago MS2)
- Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas para anticuerpos frente al HCV, anticuerpos frente al HIV-1/2, antígeno p24 del HIV y HBsAg; ARN de HIV-1, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos basados en la PCR
- 0,1% de conservante ProClin® 300

4 x 1,0 ml



(3:1) mezcla de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona

1511



4 x 1,0 ml

CTM (-) C

[Control negativo de COBAS® TaqMan® (plasma humano)]
Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas para anticuerpos frente al HCV, anticuerpos frente al HIV-1/2, antígeno p24 del HIV y HBsAg; ARN de HIV-1, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos basados en la PCR 0,1% de conservante ProClin® 300



(3:1) mezcla de 5-cloro-2-metil-2H-isotiazol-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona

HIV-1 (+)C, v2.0 Clip

(Clip de código de barras para control positivo del HIV-1, v2.0)

1 x 4 clips

HIV-1 (-) C Clip

(Clip de código de barras para control negativo del HIV-1, v2.0)

1 x 4 clips

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Wash Reagent

Reactivo de lavado COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
(P/N: 03587797 190)

PG WR

1 x 5,1 l

PG WR

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

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Specimen Pre-Extraction Reagent

Reactivo previo a la extracción de muestras COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
(P/N: 06989861 190)

SPEX

5 x 78 ml

SPEX

(Reactivo previo a la extracción de muestras COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®)

- 42,5% de tiocianato de guanidina
- 0,79% de citrato de sodio
- 0,01% de ácido cítrico
- 3,6% de polidocanol
- 1,8% de ditiotreitolo



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

H302, H318, H412

Nota: las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

A. PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO.

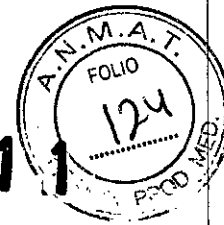
- B. Esta prueba no está diseñada para utilizarse en el cribado de donantes de sangre o plasma.
- C. Esta prueba debe utilizarse con muestras de plasma humano y sangre seca preparadas a partir de sangre total recién recogida en anticoagulante EDTA.
- D. No pipetee con la boca.
- E. No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo del laboratorio. Utilice guantes desechables, batas de laboratorio y protección ocular para manipular las muestras o los reactivos del kit. Lávese muy bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos de las pruebas.
- F. Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos cuando extraiga alícuotas de los viales de control.
- G. Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin ribonucleasa.

07002475001-03ES

5

Doc Rev. 3.0

Dr. ALDO A. CHEARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. S.L.
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



15 1 1 123

- H. No mezcle controles de distintos lotes o de distintas botellas de un mismo lote.
- I. No mezcle casetes de reactivos o controles de distintos kits.
- J. No abra los casetes COBAS® AmpliPrep ni cambie, mezcle, retire o añada botellas.
- K. Elimine los reactivos no utilizados, así como los desechos y las muestras, según las reglamentaciones nacionales, federales, estatales y locales.
- L. No utilice ningún kit con posterioridad a su fecha de caducidad.
- M. Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheets, SDS) en las oficinas locales de Roche.
- N. Las muestras y los controles deben tratarse como si fueran infecciosos, utilizando procedimientos de seguridad de laboratorio como los que se establecen en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³⁷ y en el documento M29-A3³⁸ del CLSI. Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada.

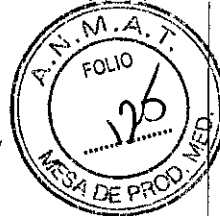
Nota: la lejía doméstica comercial contiene normalmente hipoclorito de sodio en una concentración del 5,25%. Mediante dilución en proporción 1:10 de la lejía doméstica se obtendrá una solución de hipoclorito de sodio al 0,5%.

- O. **PRECAUCIÓN:** los controles **CTM (-) C** y **HIV-1 (+)C, v2.0** contienen plasma humano derivado de sangre humana. El material de origen ha sido probado con resultado no reactivo para la presencia de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos frente al HIV-1/2 y al HCV, y antígeno p24 del HIV. En ensayos del plasma humano negativo mediante métodos basados en la PCR, no se detectó ARN del HIV-1, ARN del HCV ni ADN del HBV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmitirá agentes infecciosos. Por lo tanto, cualquier material de procedencia humana debe considerarse potencialmente infeccioso. Los controles **CTM (-) C** y **HIV-1 (+)C, v2.0** deben tratarse como si fueran infecciosos, utilizando procedimientos de seguridad de laboratorio como los que se establecen en la publicación *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*³⁷ y en el documento M29-A3³⁸ del CLSI. Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada.
- P. Los reactivos **HIV-1 IC, CAP/CTM Mn²⁺** y **HIV-1 MMX** contienen azida sódica. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Al desechar soluciones que contengan azida sódica por los fregaderos del laboratorio, deje correr grandes cantidades de agua por el desagüe para evitar la acumulación de azidas.
- Q. Utilice protección ocular, batas de laboratorio y guantes desechables para manipular cualquier reactivo. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si no se actúa adecuadamente. Si se derrama alguno de estos reactivos, dilúyalo con agua antes de limpiarlo con un paño.
- R. No permita que el reactivo **HIV-1 QL v2.0 CS2, SPEX** (utilizado en el flujo de trabajo con muestras de sangre seca) ni los residuos líquidos del instrumento COBAS® AmpliPrep, que contienen tiocianato de guanidina, entren en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases muy tóxicos.
- S. Cuando deseche las cubetas de reacción (SPU) COBAS® AmpliPrep, que contienen tiocianato de guanidina, evite el contacto con soluciones de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases muy tóxicos.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

- A. **No congele los reactivos ni los controles.**
- B. Almacene los reactivos **HIV-1 QL v2.0 CS1, HIV-1 QL v2.0 CS2, HIV-1 QL v2.0 CS3** y **HIV-1 QL v2.0 CS4** a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Si no se utilizan, estos reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez usados, los reactivos permanecen estables durante 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o hasta la fecha de caducidad, lo que se produzca primero. Los reactivos **HIV-1 QL v2.0 CS1, HIV-1 QL v2.0 CS2, HIV-1 QL v2.0 CS3** y **HIV-1 QL v2.0 CS4** pueden utilizarse para un máximo de 4 ciclos instrumentales, hasta acumular un máximo de 64 horas totales en el equipo COBAS® AmpliPrep. Entre ciclos instrumentales, los reactivos deben almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.
- C. Almacene los controles **HIV-1 (+)C, v2.0** y **CTM (-) C** a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Los controles se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abiertos, deben desecharse las partes sobrantes.
- D. Almacene los clips de código de barras [**HIV-1 (+)C, v2.0 Clip** y **HIV-1 (-) C Clip**] a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C.
- E. Almacene el reactivo **PG WR** a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C. El reactivo **PG WR** se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abierto, este reactivo permanece estable durante 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C o hasta su fecha de caducidad, lo que se produzca primero.

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.I.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO



F. Conserve el reactivo **SPEX** (utilizado en el flujo de trabajo con muestras de sangre seca) a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. **SPEX** permanece estable hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abierto, este reactivo permanece estable durante 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 30 °C o hasta su fecha de caducidad, lo que se produzca primero.

MATERIALES SUMINISTRADOS

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0
(P/N: 06693083 190)

HI2QCAP

HIV-1 QL v2.0 CS1
(Casete de reactivo de micropartículas magnéticas para HIV-1)

HIV-1 QL v2.0 CS2
(Casete de reactivo de lisis para HIV-1)

HIV-1 QL v2.0 CS3
(Casete de multireactivos para HIV-1)

HIV-1 QL v2.0 CS4
(Casete de reactivo específico para la prueba HIV-1)

HIV-1 (+)C, v2.0
(Control positivo HIV-1, v2.0)

CTM (-) C
[Control negativo COBAS® TaqMan® (plasma humano)]

HIV-1 (+)C, v2.0 Clip
(Clip de código de barras para control positivo del HIV-1, v2.0)

HIV-1 (-) C Clip
(Clip de código de barras para control negativo del HIV-1, v2.0)

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

PG WR

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

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Specimen Pre-Extraction Reagent
Reactivo previo a la extracción de muestras COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
(P/N: 06989861 190)

SPEX

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Instrumentos y software

- Equipo COBAS® AmpliPrep
- Analizador COBAS® TaqMan® o analizador COBAS® TaqMan® 48
- Opcional: Docking Station
- Programa AMPLILINK v3.3 Series
- Ordenador del programa AMPLILINK, con impresora

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.L.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

- Manuales del programa AMPLILINK v3.3 Series:
 - Manual del equipo COBAS® AmpliPrep para su uso con el analizador COBAS® TaqMan®, el analizador COBAS® TaqMan® 48 y el programa AMPLILINK v3.3 Series
 - Manual del equipo del analizador COBAS® TaqMan® (con Docking Station opcional) para su uso con el Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK v3.3 Series
 - Manual del equipo del analizador COBAS® TaqMan® 48 para su uso con el Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK v3.3 Series

Q

- Manual de aplicaciones del programa AMPLILINK versión 3.3 para su uso con el equipo COBAS® AmpliPrep, el analizador COBAS® TaqMan® y el analizador COBAS® TaqMan® 48
- Archivos de definiciones de pruebas (TDF) para la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan HIV-1 Qualitative versión 2.0 (Consulte la tarjeta de información del producto (PIC) suministrada con el kit para conocer el nombre y la versión adecuados del TDF.)

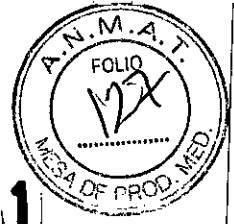
Consumibles

- Cubetas de reacción (SPU)
- Tubos para introducción de la muestra (tubos S) con clip de código de barras
- Bandejas de puntas K
- Caja de tubos K, 12 x 96

OTROS MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Bandeja de muestras (bandeja de 24 tubos SK)
- Bandeja de reactivos
- Bandeja de SPU
- Taponador de tubos K, motorizado
- Taponador de tubos K
- K-carrier
- Transportador de K-carrier
- Bandeja de K-carriers
- Pipetas con puntas exentas de RNasa con filtro para aerosol o desplazamiento positivo (capacidad de 1.000 µl)*
- Guantes desechables, sin polvo
- Agitador vórtex
- Eppendorf Thermomixer C con SmartBlock de 1,5 ml, incluyendo bandeja Eppendorf IsoRack (únicamente para la aplicación de muestras DBS) (o equipo equivalente: Eppendorf Thermomixer Comfort o Thermomixer R con bandeja Eppendorf IsoRack incluida)
- Bolsas con desecante (para el almacenamiento de muestras DBS)
- Tarjetas de papel de filtro Whatman 903® o tarjeta de recogida de muestras Munktell TFN Brand 5 o equivalente (únicamente para la aplicación de muestras DBS)

* La precisión de las pipetas debe estar dentro del 3% del volumen indicado. Para evitar la contaminación cruzada de la muestra y el amplicón, deben utilizarse puntas exentas de ribonucleasa con filtro para aerosol o desplazamiento positivo cuando así se especifique.



OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

1511

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

Nota: esta prueba se ha validado únicamente para su uso con plasma humano recogido en anticoagulante EDTA y sangre total procedente de muestras de sangre seca. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.

A. Obtención de las muestras

Nota: el etiquetado de las muestras debe reflejar el tipo de muestra para garantizar la utilización del flujo de trabajo adecuado.

Plasma conservado en EDTA

La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 está indicada para su uso con muestras de plasma. La sangre debe recogerse en tubos estériles y utilizar EDTA (tapón lila) como anticoagulante; posteriormente, debe mezclarse adecuadamente según las instrucciones del fabricante del tubo. La sangre total debe conservarse a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C durante un período no superior a 24 horas. Separe el plasma de la sangre total en un plazo de 24 horas tras su recogida mediante centrifugación a entre 800 y 1.600 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente. Transfiera el plasma a un tubo de polipropileno estéril.

Muestras de sangre seca (DBS)

Obtenga las muestras de sangre seca (DBS) mediante los procedimientos clínicos correspondientes. Se recomienda aplicar un mínimo de 70 µl de sangre capilar dentro de cada círculo delineado en la tarjeta de papel de filtro Whatman 903 o en una tarjeta de recogida de muestras Munktell Specimen TFN Brand 5 o equivalente. Cuando utilice el papel de filtro, asegúrese de que AMBAS caras del papel están saturadas más allá del círculo delineado. Deje secar la muestra de sangre seca a temperatura ambiente (18-25 °C) durante 3 horas como mínimo, protegiendo la tarjeta DBS de la luz solar directa. Para conocer más información, consulte el boletín técnico de las tarjetas de papel de filtro que utilice. Se recomienda preparar 3 discos de papel por muestra de paciente.

B. Transporte de las muestras

El transporte de sangre entera, plasma o muestras DBS debe cumplir las reglamentaciones locales, estatales, federales y nacionales para el transporte de agentes etiológicos³⁹. La sangre total debe transportarse a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C y procesarse dentro de las 24 horas siguientes a su extracción. El plasma puede transportarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o bien congelado a una temperatura entre -20 °C y -80 °C. Las muestras DBS pueden transportarse a una temperatura comprendida entre 15 y 30 °C durante un periodo de 3 meses.

C. Almacenamiento de las muestras

Plasma conservado en EDTA

Las muestras de plasma pueden almacenarse a temperatura ambiente (25-30 °C) durante 1 día o a una temperatura comprendida entre 2-8 °C durante 5 días. Las muestras de plasma se mantienen estables durante seis semanas si se congelan a una temperatura comprendida entre -20 y -80 °C. Se recomienda almacenar las muestras en alícuotas de 1.100-1.200 µl depositadas en tubos de polipropileno estériles con tapones de rosca de 2,0 ml de capacidad (por ejemplo, los tubos Sarstedt 72.694.006).

Las muestras de plasma se pueden congelar y descongelar hasta tres veces sin que se produzca pérdida significativa del fragmento objetivo del HIV-1.

Muestras de sangre seca

Puede almacenar las muestras de sangre seca en bolsas individuales con cierre con una bolsita de desecante a una temperatura comprendida entre 15 y 30 °C durante un período máximo de tres meses.

INSTRUCCIONES DE USO

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

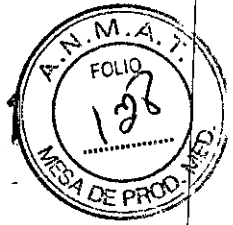
E

07002475001-03ES

9

Dr. ALDO A. CHIVARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. L.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

Doc Rev. 3.0



Tamaño de lotes y flujo de trabajo

Cada kit contiene reactivos suficientes para 48 pruebas, las cuales pueden efectuarse en lotes de 12 a 24 pruebas. En cada lote deben incluirse al menos una réplica de ambos controles [CTM (-) C y HIV-1 (+)C, v2.0] (consulte el apartado "Control de calidad"). La serie se debe iniciar en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48 durante los 120 minutos posteriores a la finalización de la preparación de las muestras y los controles.

Preparación de las muestras y los controles

Nota: *si utiliza muestras congeladas, déjelas a temperatura ambiente hasta conseguir su completa descongelación y agítelas durante 3-5 segundos antes de usarlas. Los controles se deben extraer de su lugar de almacenamiento a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C con tiempo suficiente para que alcancen el equilibrio con la temperatura ambiente antes de su uso.*

Configuración del equipo COBAS® AmpliPrep

Parte A. Mantenimiento y cebado

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

Parte B. Carga de casetes de reactivos

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

- B1. Coloque el reactivo HIV-1 QL v2.0 CS1 en una bandeja de reactivos. Coloque los reactivos HIV-1 QL v2.0 CS2, HIV-1 QL v2.0 CS3 y HIV-1 QL v2.0 CS4 en otra bandeja de reactivos distinta.
- B2. Cargue la bandeja de reactivos que contiene el reactivo HIV-1 QL v2.0 CS1 en la posición para bandejas A del equipo COBAS® AmpliPrep.
- B3. Cargue la bandeja de reactivos que contiene los reactivos HIV-1 QL v2.0 CS2, HIV-1 QL v2.0 CS3 y HIV-1 QL v2.0 CS4 en la posición para bandejas B, C, D o E del equipo COBAS® AmpliPrep. (Consulte la tabla 1 para conocer información adicional.)

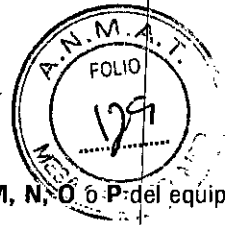
Parte C. Carga de consumibles

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

Existen múltiples configuraciones posibles de uso del equipo COBAS® AmpliPrep con el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48. Consulte la tabla 1 que se muestra a continuación como referencia. Según el flujo de trabajo utilizado, cargue el número apropiado de bandejas de casetes de reactivos, bandejas de muestras con tubos S de entrada, bandejas de SPU, bandejas de puntas K, bandejas de tubos K y K-carriers en las bandejas de K-carriers en las posiciones para bandejas correspondientes del equipo COBAS® AmpliPrep (consulte la tabla 1 para obtener información adicional).

- C1. Coloque las SPU en las bandejas de SPU y cargue las bandejas en la posición para bandejas J, K o L del equipo COBAS® AmpliPrep.

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PROPRIETOS ROCHE S.A.Q. e I.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TECNICO



- C2. Según el flujo de trabajo utilizado, cargue las bandejas llenas de tubos K en la posición para bandejas **M, N, O o P** del equipo COBAS® AmpliPrep.
- C3. Cargue las bandejas llenas de puntas K en la posición para bandejas **M, N, O o P** del equipo COBAS® AmpliPrep.
- C4. Para el flujo de trabajo 3 con el analizador COBAS® TaqMan® 48, cargue los K-carriers en las bandejas de K-carriers en la posición para bandejas **M y N** o bien **O y P** del equipo COBAS® AmpliPrep.

Tabla 1
Posibles flujos de trabajo para utilizar el equipo COBAS® AmpliPrep con el analizador COBAS® TaqMan® o con el analizador COBAS® TaqMan® 48

Flujo de trabajo		Modo de transferencia al analizador COBAS® TaqMan® o al analizador COBAS® TaqMan® 48	Bandejas, transportadores y consumibles	Posición en el equipo COBAS® AmpliPrep
1	Equipo COBAS® AmpliPrep con Docking Station y con analizador COBAS® TaqMan®	Transferencia automatizada de K-carrier	Tubos K en bandejas llenas de tubos K	M-P
			Puntas K en bandejas llenas de puntas K	M-P
			Tubos S de entrada con muestras y controles en bandejas de muestras	F-H
			SPU en bandejas de SPU	J-L
			CS1 en bandeja de casetes	A
			CS2, CS3, CS4 en bandeja de casetes	B-E
2	Equipo COBAS® AmpliPrep con analizador COBAS® TaqMan®	Transferencia manual de tubos K mediante bandejas de muestras al analizador COBAS® TaqMan®	Tubos K en bandejas llenas de tubos K	M-P
			Puntas K en bandejas llenas de puntas K	M-P
			Tubos S de entrada con muestras y controles en bandejas de muestras	F-H
			SPU en bandejas de SPU	J-L
			CS1 en bandeja de casetes	A
			CS2, CS3, CS4 en bandeja de casetes	B-E
			Una vez completado el procesamiento de las muestras: tubos K en bandejas de muestras (listas para su transferencia manual)	Igual que arriba (F-H)
3	Equipo COBAS® AmpliPrep con analizador(es) COBAS® TaqMan® 48	Transferencia manual de K-carrier mediante bandejas de K-carriers al analizador COBAS® TaqMan® 48	Tubos K en bandejas de muestras	F-H
			Puntas K en bandejas llenas de puntas K	M-P
			Tubos S de entrada con muestras y controles en bandejas de muestras	F-H
			SPU en bandejas de SPU	J-L
			CS1 en bandeja de casetes	A
			CS2, CS3, CS4 en bandeja de casetes	B-E
			K-carrier vacío con código de barras en bandeja de K-carriers	M-P
			Una vez completado el procesamiento de las muestras: tubos K en K-carrier en bandeja de K-carriers	Igual que arriba (M-P)

Parte D. Peticiones y carga de muestras

D1. Prepare las bandejas de muestras tal y como se indica a continuación: coloque un clip de etiqueta de código de barras en cada posición de la bandeja de muestras donde se vaya a colocar una muestra (en tubo S). Coloque uno de los clips de etiqueta de código de barras específicos para los controles [CTM (-) C y HIV-1 (+)C, v2.0] en cada posición de la bandeja de muestras donde se vayan a colocar los controles (tubo S). Los clips de etiqueta de código de barras de los controles deben tener el mismo número de lote de control que los viales de control incluidos en el kit. Preste atención para asignar el control correcto a cada posición con el clip con código de barras apropiado.

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. d.l.
 DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

- D2. Con el programa AMPLILINK, cree peticiones de muestra para cada muestra y control de la pestaña **Sample** de la ventana **Orders**. **Seleccione el archivo de pruebas adecuado** (archivo de definiciones de prueba EDTA o DBS) y guarde la información. (Consulte la tarjeta de información del producto (PIC) suministrada con el kit para conocer el nombre y la versión del TDF).
- D3. Asigne las peticiones de muestras y controles en las posiciones de bandeja de muestras en la pestaña **Sample Rack** de la ventana **Orders**. El número de bandeja de muestras debe corresponder a la bandeja preparada en el paso D1.
- D4. Imprima el informe **Sample Rack Order** para utilizarlo como hoja de trabajo.
- D5. Prepare las bandejas de muestras y controles en el área designada para la adición de muestras y controles, tal como sigue: Agite cada una de las muestras y los controles [CTM (-) C y HIV-1 (+)C, v2.0] de 3 a 5 segundos. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y los controles.

Nota: para muestras de plasma conservadas en EDTA, continúe por el paso D6.

Nota: para muestras de sangre seca, continúe por el paso D7.

Nota: no mezcle muestras de plasma conservado en EDTA con muestras de sangre seca en la misma bandeja de muestras.

Nota: permita que SPEX alcance la temperatura ambiente antes del uso.

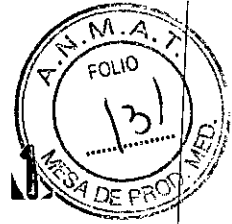
- D6. Coloque un tubo S de entrada en cada posición que contenga un clip de etiqueta de código de barras. Transfiera de 1.000 a 1.050 µl de cada muestra al tubo S de entrada con etiqueta de código de barras correspondiente con la ayuda de una micropipeta con filtro para aerosol o punta exenta de RNasa con desplazamiento positivo. **Evite la transferencia al tubo S de entrada de partículas y/o coágulos de fibrina que pudieran estar presentes en la muestra original.** Las muestras se transfieren a las posiciones de tubo asignadas y registradas en la hoja de trabajo en el paso D4. **Evite la contaminación de la parte superior de los tubos S con muestras. Omita el paso D7 y continúe por el D8.**
- D7. Coloque tubos S de entrada en todas las posiciones de la 1 a la 24 de una bandeja IsoRack del agitador térmico. Extraiga las muestras de sangre seca de la tarjeta de papel de filtro Whatman 903[®] o la tarjeta de recogida de muestras Munktell TFN Brand 5 o equivalente (con el procedimiento indicado en las instrucciones de la tarjeta) y transfírala al tubo S de entrada. **Independientemente del tipo de tarjetas para muestras DBS utilizado, es imprescindible que la muestra de sangre seca queda adherida a la pared del tubo S de entrada (para evitar coágulos en la muestra) y que esté completamente cubierta de reactivo SPEX.** Se pipetea 1.000 µl de reactivo SPEX en un tubo S de entrada que contiene la muestra de sangre seca. Para la elución de la sangre total seca, el tubo S de entrada se coloca en un sistema Eppendorf Thermomixer durante 10 minutos a 56 °C y 1.000 rpm. Transfiera los tubos S de entrada a una posición para tubo de la bandeja de muestras tal como se haya asignado en la hoja de trabajo del paso D4.
- D8. Transfiera de 1.000 a 1.050 µl de cada control [CTM (-) C y HIV-1 (+)C, v2.0] al tubo S de entrada con la etiqueta de código de barras apropiada con la ayuda de una micropipeta con filtro para aerosol o punta exenta de RNasa con desplazamiento positivo. Los controles se deben transferir a las posiciones para tubos asignadas y registradas en la hoja de trabajo en el paso D4. Los clips de etiqueta de código de barras de los controles deben tener el mismo número de lote de control que los viales de control incluidos en el kit. Asigne cada control correctamente a la posición que tenga el clip con código de barras apropiado. **Evite la contaminación de la parte superior de los tubos S con controles.**
- D9. Para los flujos de trabajo 1 y 2, cargue las bandejas de muestras llenas de tubos S de entrada en la posición para bandejas **F, G** o **H** del equipo COBAS[®] AmpliPrep.
- D10. Para el flujo de trabajo 3 con el analizador COBAS[®] TaqMan[®] 48, cargue las bandejas de muestras con tubos S de entrada y tubos K (uno por cada tubo S de entrada, cargados en la posición adecuada junto a los tubos S de entrada) en la posición para bandejas **F, G** o **H** del equipo COBAS[®] AmpliPrep.

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

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

Parte F. Finalización de la serie en el equipo COBAS[®] AmpliPrep y transferencia al analizador COBAS[®] TaqMan[®] o al analizador COBAS[®] TaqMan[®] 48 (únicamente para los flujos de trabajo 2 y 3)

- F1. Compruebe si hay algún aviso o mensaje de error.
- F2. Retire las muestras y los controles procesados del equipo COBAS[®] AmpliPrep, bien en bandejas de muestras (para el analizador COBAS[®] TaqMan[®] sin Docking Station), o bien en bandejas de K-carriers (para el analizador COBAS[®] TaqMan[®] 48), en función del flujo de trabajo. Encontrará más información al respecto en la parte G.



15.1.1

F3. Elimine los residuos del equipo COBAS® AmpliPrep.

Nota: las muestras y los controles procesados no deben exponerse a la luz tras finalizar su preparación.

Nota: no congele ni almacene muestras o controles procesados a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.

Amplificación y detección

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

La serie se debe iniciar en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48 durante los 120 minutos posteriores a la finalización de la preparación de las muestras y los controles.

Parte G. Carga de muestras procesadas

G1. En función del flujo de trabajo, lleve a cabo los pasos apropiados para transferir los tubos K al analizador COBAS® TaqMan® o al analizador COBAS® TaqMan® 48:

- Flujo de trabajo 1:* Transferencia automatizada del K-carrier a través de la Docking Station al analizador COBAS® TaqMan®. No se requiere intervención manual.
- Flujo de trabajo 2:* Transferencia manual de tubos K en bandejas de muestras al analizador COBAS® TaqMan®.
- Flujo de trabajo 3:* Transferencia manual del K-carrier en las bandejas de K-carriers al analizador COBAS® TaqMan® 48. Transferencia manual de los K-carriers al analizador COBAS® TaqMan® 48 mediante el transportador de K-carriers.

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

H1. Inicie el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 mediante una de las opciones que se ofrecen a continuación en función del flujo de trabajo utilizado:

- Flujo de trabajo 1:* No se requiere intervención.
- Flujo de trabajo 2:* Inicio automático del analizador COBAS® TaqMan® tras la introducción de las bandejas de muestras.
- Flujo de trabajo 3:* Llene el K-carrier con tubos K vacíos si hay menos de 6 tubos K en el K-carrier. El programa AMPLILINK guía el proceso de llenado. Abra la cubierta del termociclador, cargue el K-carrier en él y cierre la cubierta. Inicie la serie en el analizador COBAS® TaqMan® 48.

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

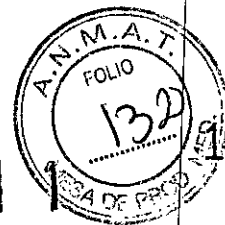
- I1. Una vez completada la serie en el analizador COBAS® TaqMan® o en el analizador COBAS® TaqMan® 48, imprima el informe de resultados. Compruebe si hay algún aviso o mensaje de error en el informe de resultados. Los resultados obtenidos para muestras con avisos y comentarios se interpretan tal como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

RESULTADOS

El analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48 determina automáticamente la presencia del HIV-1 presente en las muestras y los controles.

El programa AMPLILINK:

- Determina el valor de ciclo umbral (Ct) correspondiente al HIV-1 y al ARN del IC del HIV-1.
- Determina la presencia del HIV-1 y de ARN del IC del HIV-1 en función de los valores de Ct del HIV-1 y del ARN del IC del HIV-1.



1.5 1

Validación de lotes

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

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

El lote se considera válido cuando no aparece ningún aviso para los controles [HIV-1 (+)C, v2.0 y CTM (-) C].

El lote no es válido si aparece alguno de los avisos siguientes para los controles del HIV-1:

Control negativo

Aviso	Resultado	Interpretación
NC_INVALID	Invalid	El resultado no es válido o el resultado del control negativo no es negativo.

Control positivo para HIV-1, v2.0

Aviso	Resultado	Interpretación
PC_INVALID	Invalid	El resultado no es válido o el resultado del control positivo no es positivo.

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

Interpretación de los resultados

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

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


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

Tipo de muestra	Resultado de detección	Interpretación
Plasma conservado en EDTA	Not Detected	El valor de Ct del HIV-1 está por encima del límite del ensayo o no se ha obtenido un valor de Ct para el HIV-1. Comuníquese los resultados como "HIV-1 no detectado".
	Detected	Comuníquese los resultados como "HIV-1 detectado".
DBS	Not Detected DBS	El valor de Ct del HIV-1 está por encima del límite del ensayo o no se ha obtenido un valor de Ct para el HIV-1. Comuníquese los resultados como "HIV-1 no detectado".
	Detected DBS	Comuníquese los resultados como "HIV-1 detectado".

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

E-

07002475001-03ES


Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A. e I.
 DIVISIÓN DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO



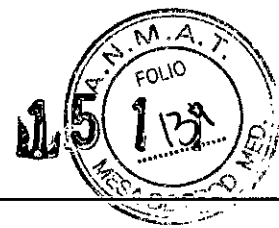
LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con plasma humano recogido en anticoagulante EDTA y muestras de sangre seca procedentes de sangre total recogida en anticoagulante EDTA. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
2. El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 no se ha evaluado con muestras que contienen HIV-2.
3. La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de obtención, transporte y almacenamiento de las muestras, así como su procesamiento, sean adecuados.
4. La presencia de la enzima AmpErase en la mezcla maestra de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 reduce el riesgo de contaminación del amplicón. No obstante, la contaminación procedente de controles y muestras clínicas positivas para HIV-1 solo puede evitarse mediante la aplicación de las prácticas de laboratorio recomendadas y la estricta adhesión a los procedimientos especificados en este boletín técnico.
5. El uso de este producto debe limitarse a personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR.
6. Este producto únicamente puede utilizarse con el equipo COBAS® AmpliPrep y el analizador COBAS® TaqMan® o el analizador COBAS® TaqMan® 48.
7. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico cubiertas por los cebadores y/o las sondas de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 pueden causar errores en la detección del virus.
8. La detección del ARN del HIV-1 depende del número de partículas víricas presentes en la muestra y se puede ver afectada por los métodos de obtención de las mismas y factores propios del paciente (como la edad, la presencia de síntomas, la fase de infección, el punto de ajuste de carga viral y fármacos antirretrovirales).
9. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que, antes de cambiar de una a otra, realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Se ha demostrado que los niveles elevados de triglicéridos (hasta 30 g/l), bilirrubina conjugada y no conjugada (hasta 0,2 g/l), albúmina sérica humana (hasta 60 g/l), hemoglobina (hasta 2 g/l) y ADN humano (hasta 2 mg/l) en las muestras de sangre seca y de plasma no interfieren en la detección de HIV-1 ni afectan a la especificidad de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0. También se ha demostrado que los anticuerpos de pacientes con anticuerpos antinucleares reactivos no interfieren en la prueba realizada con muestras de sangre seca y de plasma. Se ha observado que las muestras de plasma con lupus eritematoso sistémico (LES) y artritis reumatoide (AR) causan interferencias en la detección de HIV-1, lo que puede conducir a resultados falsos negativos en casos excepcionales. Los marcadores de las enfermedades autoinmunes anteriores también han sido probados en muestras de sangre seca, sin haberse concluido que causen interferencias. La evaluación se realizó de acuerdo con la matriz EP7-A2 del CLSI utilizando más de un lote de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0.

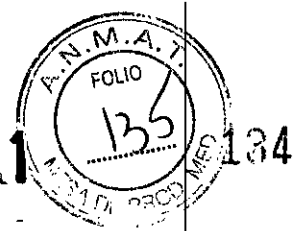
Se ha observado que el foscarnet sódico (fármaco contra CMV, inhibidor de la polimerasa viral) en concentraciones superiores al doble del Cmax indicado por el fabricante interfiere con el control interno del ensayo, pudiendo invalidar algunas pruebas. No se advirtieron casos de resultados falsos positivos o falsos negativos. Los siguientes compuestos farmacológicos analizados en concentraciones 3 veces superiores al nivel de plasma máximo (Cmax) han demostrado no interferir en la detección de HIV-1 ni afectar a la especificidad de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0:



133

Fármacos para el HIV:	
Inhibidores de la proteasa Atazanavir Saquinavir Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Nelfinavir mesylate Darunavir Tipranavir Fosamprenavir	Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos/nucleótidos Zidovudina, AZT Sulfato de abacavir, ABC Lamivudina, 3TC Tenofovir DF, TDF Emtricitabina, FTC Stavudina, d4T
Inhibidor de la integrasa Raltegravir Elvitegravir	Inhibidores de la transcriptasa inversa no nucleósidos Efavirenz Rilpivirina Etravirina Nevirapina
Inhibidor de entrada Maraviroc	Potenciador farmacocinético Cobicistat
Fármacos para el HBV y/o HCV:	
Análogo nucleótido Adefovir dipivoxil	Análogos nucleósidos Entecavir Telbivudina
Moduladores del sistema inmunológico Peginterferón alfa-2a Peginterferón alfa-2b Ribavirina	Inhibidores de la proteasa Boceprevir Telaprevir
Compuestos para el tratamiento de los virus del herpes:	
Análogos nucleósidos Acyclovir Ganciclovir Valganciclovir HCl Cidofovir	
Compuestos para el tratamiento o la prevención de infecciones oportunistas en la enfermedad del HIV:	
Antiinfecciosos Sulfametoxazol Trimetoprim	Antifúngicos Fluconazol
Antimicobacterianos Azitromicina Isoniazida Rifampina Rifabutina Etambutol Claritromicina Pirazinamida	

1511



EVALUACIÓN NO CLÍNICA DEL RENDIMIENTO

A. Límite de detección

El límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se determinó mediante el análisis del 2º estándar internacional de la OMS sobre el ARN del HIV-1, código NIBSC 97/650⁴¹, subtipo B del HIV-1, diluido en plasma humano con EDTA o sangre total de muestras de sangre seca negativas para el HIV-1. Una copia del ARN del HIV-1 equivale a $1,7 \pm 0,1$ unidades internacionales (UI). El límite de detección se determinó para tres lotes de reactivos. Para cada lote de reactivos se analizaron tres series de dilución. Se analizaron un total de aproximadamente 126 réplicas por nivel de concentración para plasma conservado en EDTA y un total de aproximadamente 189 réplicas por nivel de concentración para muestras de sangre seca. La evaluación se realizó de acuerdo con la directriz EP17-A2 del CLSI.

Los resultados combinados de los tres lotes analizados con plasma conservado en EDTA y muestras de sangre seca se muestran en la tabla 2 y en la tabla 3. Estos demuestran que la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 detectó ARN del HIV-1 en concentraciones de 20 cp/ml en plasma conservado en EDTA y 300 cp/ml en muestras de sangre seca respectivamente, y superiores, con una tasa de resultados positivos $\geq 95\%$ determinada por el análisis PROBIT.

Tabla 2
Límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 en plasma conservado en EDTA con el estándar internacional de la OMS y el análisis PROBIT

Entrada nominal (cp/ml de ARN del HIV-1)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Tasa de positividad
60	126	126	100
40	186	185	99
30	126	125	99
20	126	124	98
15	59	53	90
10	126	108	86
5	125	66	53
0	126	0	0
Tasa de resultados positivos del 95% según PROBIT	16,5 cp/ml Intervalo de confianza del 95 %: 14,3-19,8 cp/ml		

Tabla 3
Límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 en muestras de sangre seca con el estándar internacional de la OMS y el análisis PROBIT

Entrada nominal (cp/ml de ARN del HIV-1)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Tasa de positividad
500	189	189	100
400	187	185	99
300	188	183	97
150	188	166	88
75	188	108	57
0	188	0	0
Tasa de resultados positivos del 95% según PROBIT	221,8 cp/ml Intervalo de confianza del 95 %: 195,6-260,5 cp/ml		

B. Precisión

La precisión de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de una muestra de sobrenadante de cultivos celulares de HIV-1 (subtipo B del HIV-1) en plasma humano con EDTA y muestras de sangre seca negativas para el HIV-1. La asignación del título de la muestra de sobrenadante de cultivos celulares (concentración de stock) se realizó mediante un método que garantiza la trazabilidad de acuerdo con el 1^{er} estándar internacional de la OMS para el ARN del HIV-1, código NIBSC 97/656³⁶. Una copia del ARN del HIV-1 equivale a $1,7 \pm 0,1$ unidades internacionales (UI). Para las muestras de plasma conservado en EDTA se analizaron tres lotes de reactivos, divididos en 11 series. Cada serie contenía 7 niveles de dilución y 14 réplicas por nivel. Para las muestras de sangre seca se analizaron tres lotes de reactivos, divididos en 15 series. Cada serie contenía 6 niveles de dilución y 21 réplicas por nivel. Cada muestra se sometió a todo el procedimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0, incluida la preparación de la muestra, la amplificación y la detección. El estudio se llevó a cabo con tres lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0. Se evaluaron todos los datos de precisión válidos mediante el cálculo del porcentaje de la tasa de resultados positivos para cada miembro del panel por lote de reactivo para las muestras de plasma y de sangre seca. La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 demuestra un rendimiento constante en niveles de concentración de 60, 40, 30, 20, 10, 5 y 0 cp/ml para plasma conservado en EDTA y en niveles de 500, 400, 300, 150, 75 y 0 cp/ml para muestras de sangre seca en los tres lotes de reactivos analizados (tabla 4 y tabla 5).

Tabla 4
Precisión de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 (plasma conservado en EDTA)

Concentración nominal (cp/ml)	Tasa de resultados positivos (%)		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
60	100	100	100
40	100	99	100
30	98	100	100
20	95	100	100
10	88	88	81
5	52	49	57
0	0	0	0

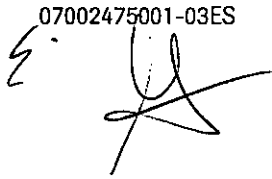
Tabla 5
Precisión de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 (muestras de sangre seca)

Concentración nominal (cp/ml)	Tasa de resultados positivos (%)		
	Lote 1	Lote 2	Lote 3
500	100	100	100
400	100	98	98
300	100	95	97
150	95	84	86
75	60	56	57
0	0	0	0

C. Inclusividad del grupo M, N y O del HIV-1

Se han propuesto ocho categorías para el grupo M del HIV-1 según la divergencia nucleotídica. Estos subtipos se especifican con letras en mayúsculas de la A a la H⁴⁰. El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 en todos los subtipos de la A a la H del grupo M, CRF01_AE, grupo O y grupo N del HIV-1 se evaluó mediante la verificación del límite de detección.

La evaluación de los 8 aislados de los subtipos del grupo M, CRF01_AE, un aislado del grupo N y un aislado del grupo O se llevó a cabo con hasta cuatro niveles de concentración diferentes en muestras de plasma conservado en EDTA o muestras de sangre seca. También se determinó la tasa de resultados positivos para cada nivel con hasta 49 réplicas. El estudio se llevó a cabo con hasta dos lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0. Los resultados de las muestras de plasma conservado en EDTA y de las muestras de sangre seca se exponen en la tabla 6 y en la tabla 7 y verifican que la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 pudo detectar HIV-1 para diez genotipos/subtipos distintos en concentraciones de $7,5E+01$ cp/ml (o inferiores) en el caso de plasma y de $1,0E+3$ cp/ml (o inferiores) en el caso de muestras de sangre seca con una tasa de resultados positivos $\geq 95\%$.



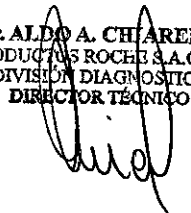


Tabla 6
Verificación del límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 (plasma conservado en EDTA) según genotipo

Subtipo	Designación del aislado	Nivel de concentración mínimo $\geq 95\%$ de tasa de positividad (cp/ml)
Subtipo A del grupo M	92UG029	1,0E+01
Subtipo A del grupo M	4237A/98	2,9E+01
Subtipo B del grupo M	92TH026	3,2E+01
Subtipo B del grupo M	8E5/LAV	7,5E+01
Subtipo C del grupo M	92BR025	3,0E+01
Subtipo C del grupo M	3777A/97	1,1E+01
Subtipo D del grupo M	92UG021	3,0E+01
Subtipo D del grupo M	92UG035	1,1E+01
Subtipo E del grupo M	92TH022	1,2E+01
Subtipo E del grupo M	92TH009	1,4E+01
Subtipo F del grupo M	93BR020	3,2E+01
Subtipo G del grupo M	ARP173/RU570	1,3E+01
Subtipo H del grupo M	HIV V1557	1,6E+01
Subtipo CRF01_AE del grupo M	1019-HIV-0027	6,0E+01
Grupo O	MVP5180	5,0E+01
Grupo N	YBF30	6,0E+01

Tabla 7
Verificación del límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 (muestras de sangre seca) según genotipo

Subtipo	Designación del aislado	Nivel de concentración mínimo $\geq 95\%$ de tasa de positividad (cp/ml)
Subtipo A del grupo M	92UG029	2,0E+02
Subtipo C del grupo M	92BR025	3,0E+02
Subtipo D del grupo M	92UG021	2,0E+02
Subtipo E del grupo M	92TH022	2,0E+02
Subtipo F del grupo M	93BR020	3,0E+02
Subtipo G del grupo M	ARP173/RU570	2,0E+02
Subtipo H del grupo M	HIV V1557	4,0E+02
Subtipo CRF01_AE del grupo M	1019-HIV-0027	1,0E+03
Grupo O	MVP5180	4,0E+02
Grupo N	YBF30	1,0E+03

D. Sensibilidad diagnóstica

La sensibilidad diagnóstica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se determinó mediante el análisis de muestras individuales de plasma conservado en EDTA (169 resultados totales) y muestras de sangre seca procedentes de adultos (172 resultados totales) positivas al HIV-1 con tres lotes de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0. Todas las muestras de plasma conservado en EDTA y muestras DBS de adultos resultaron positivas para el HIV-1. En este panel, la sensibilidad diagnóstica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 es del 100% (nivel inferior unilateral del intervalo de confianza al 95%: $\geq 98,2\%$) para muestras de plasma conservado en EDTA y muestras DBS de adultos (nivel inferior unilateral del intervalo de confianza al 95%: $\geq 98,3\%$).

La sensibilidad diagnóstica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 también se evaluó durante la seroconversión. Se analizaron los miembros de 10 paneles de seroconversión del HIV-1 disponibles comercialmente, cada uno recogido de un donante de plasma individual durante un período de seroconversión a los anticuerpos del HIV-1, con un lote de reactivos de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative, v2.0 y el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative. La prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 detectó antes el HIV-1 en 5 de los 10 paneles de seroconversión (el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative ni siquiera detectó uno de los paneles), mientras que 5 de los 10 paneles de

seroconversión se detectaron al mismo tiempo, en comparación con el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative. También se comparó la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 con un método de referencia serológico. Nueve de los diez paneles de seroconversión se detectaron antes y uno de los diez se detectó al mismo tiempo.

E. Especificidad

La especificidad de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se determinó con dos lotes de reactivos mediante el análisis de muestras de plasma conservado en EDTA y muestras de sangre seca (DBS) procedentes de donantes de sangre negativas para el HIV-1. Se obtuvieron resultados válidos de un total de 1.298 muestras individuales de plasma conservado en EDTA y 998 muestras DBS. A excepción de las dos muestras de plasma conservado en EDTA y una muestra DBS, todos los resultados fueron negativos para el HIV-1 con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0. De acuerdo con estos resultados, la especificidad de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 es del 99,8% (nivel inferior unilateral del intervalo de confianza al 95%: $\geq 99,5\%$) para muestras de plasma conservado en EDTA y del 99,9% (nivel inferior unilateral del intervalo de confianza al 95%: $\geq 99,5\%$) para muestras DBS.

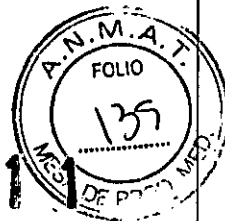
F. Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se evaluó añadiendo organismos cultivados (virus, bacterias, levadura) en una concentración inicial de $1,0E+06$ partículas/ml y virus de la hepatitis C en una concentración inicial de $1,0E+07$ partículas/ml a plasma humano conservado en EDTA negativo para el HIV-1 y en plasma conservado en EDTA positivo para el HIV-1 en una concentración de $6,0E+01$ cp/ml de HIV-1 y en plasma conservado en EDTA positivo para el HIV-1 en una concentración de $1,0E+03$ para muestras de sangre seca (Tabla 8).

Ninguno de los microorganismos mostró una reacción cruzada con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0.

Tabla 8
Muestras de especificidad analítica

<p style="text-align: center;">Virus</p> <p style="text-align: center;"><i>Adenovirus tipo 5</i> <i>Citomegalovirus</i> <i>Virus de Epstein-Barr</i> <i>Virus del herpes humano tipo 6</i> <i>Virus del herpes simple tipo 1</i> <i>Virus del herpes simple tipo 2</i> <i>Virus linfotrópico de células T humanas tipo 1</i> <i>Virus linfotrópico de células T humanas tipo 2</i> <i>Virus de la gripe A</i> <i>Virus de la hepatitis A</i> <i>Virus de la hepatitis B</i> <i>Virus de la hepatitis C</i> <i>Virus de la hepatitis G</i> <i>Virus de la hepatitis E</i> <i>Virus del papiloma humano</i> <i>Virus de la varicela zóster</i> <i>Virus del Nilo Occidental</i> <i>Virus de la encefalitis de St. Louis</i> <i>Virus de la encefalitis del Valle Murray</i> <i>Virus del dengue tipos 1, 2, 3 y 4</i> <i>Virus de la fiebre amarilla</i> <i>Virus Zika</i> <i>Virus de la encefalitis por garrapatas, cepa HYPR</i> <i>Parvovirus B19</i> <i>Virus Chikungunya</i></p>	<p style="text-align: center;">Bacterias</p> <p style="text-align: center;"><i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus haemolyticus</i> <i>Streptococcus sanguinis</i> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Escherichia coli</i></p> <hr/> <p style="text-align: center;">Levadura</p> <p style="text-align: center;"><i>Candida albicans</i></p>
---	--



15 11

138

G. Correlación de métodos

Plasma conservado en EDTA

El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se comparó con el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative mediante el análisis de 169 muestras clínicas de plasma conservado en EDTA confirmadas como positivas al HIV-1. Las muestras contenían subtipos de la A a la H del grupo M del HIV-1 y se analizaron en un laboratorio externo. Se evaluaron resultados de 169 muestras con títulos que oscilaban entre $1,0E+02$ y $5,0E+05$, incluidos los títulos cercanos al límite de detección de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0, con un porcentaje del 100% de resultados positivos entre las dos pruebas. Todas las muestras de plasma conservado en EDTA negativas analizadas (100 resultados en total) fueron válidas y obtuvieron un resultado negativo, lo que significa una concordancia de resultados negativos del 100% entre la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 y el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative.

Muestras DBS procedentes de adultos

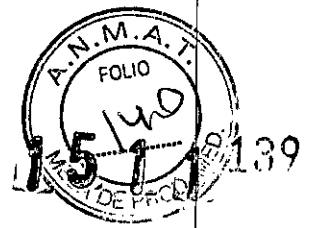
El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se comparó con el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative mediante el análisis de un total de 272 muestras clínicas: 172 muestras clínicas DBS confirmadas como positivas al HIV-1 procedentes de donantes adultos y 100 muestras DBS procedentes de donantes adultos sanos negativos para el HIV-1. Las muestras positivas para el HIV-1 contenían subtipos de la A a la H del grupo M, del grupo O y del grupo N del HIV-1 y se analizaron en un laboratorio externo. Se evaluaron los resultados de 172 muestras, siendo 167 de ellas positivas en ambas pruebas tests, lo que supone un porcentaje de concordancia de resultados positivos del 100%. Sin embargo, el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative no detectó cinco muestras confirmadas como positivas al HIV-1. Todas las muestras DBS procedentes de donantes adultos negativas analizadas (100 resultados en total) fueron válidas y obtuvieron un resultado negativo, lo que significa una concordancia de resultados negativos del 95,2% entre la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 y el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative (incluidas las cinco muestras positivas que obtuvieron un resultado negativo con el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative).

Muestras DBS procedentes de bebés

El rendimiento de la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 se comparó con el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative mediante el análisis de 99 muestras clínicas de sangre seca positivas al HIV-1 sin diluir y recogidas previamente procedentes de bebés. Las muestras contenían subtipos de la A a la H del grupo M del HIV-1 y se analizaron en un laboratorio externo. Se evaluaron los resultados de 99 muestras, con un 100% de concordancia entre las dos pruebas. Todas las muestras DBS procedentes de bebés negativas analizadas (201 resultados en total) fueron válidas y obtuvieron un resultado negativo, lo que significa una concordancia de resultados negativos del 100% entre la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative v2.0 y el ensayo Abbott RealTime HIV-1 Qualitative.



E

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. c.l.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



BIBLIOGRAFÍA

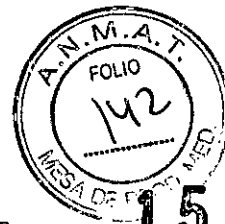
1. Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W., Montagnier, L. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**:868-871.
2. Popovic, M., Sarngadharan, M.G., Read, E., Gallo, R.C. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497-500.
3. Gallo, R.C., Salahuddin, S.Z., Popovic, M., Shearer, G.M., Kaplan, M., Haynes, B.F., Palker, T.J., Redfield, R., Oleske, J., Safai, B., White, G., Foster, P., Markham, P.D. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500-503.
4. Curran, J.W., Jaffe, H.W., Hardy, A.M., Morgan, W.M., Selik, R.M., Dondero, T.J. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610-616.
5. Gaines, H., von Sydow, M.A., von Stedingk, L.V. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995-999.
6. Tindall, B., and Cooper, D.A. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1-14.
7. Daar, E.S., Moudgil, T, Meyer, R.D., Ho, D.D. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* **324**:961-964.
8. Clark, S.J., Saag, M.S., Decker, W.D. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* **324**:954-960.
9. Albert J., Abrahamsson B., Nagy K., Aurelius E., Gaines H., Nystrom G., Fenyo E.M. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107-112.
10. Horsburgh, C.R. Jr., Ou, C.Y., Jason, J., Holmberg, S.D., Longini, I.M. Jr., Schable, C., Mayer, K.H., Lifson, A.R., Schochetman, G., Ward, J.W, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637-640.
11. Schnittman, S.M., Psallidopoulos, M.C., Lane, H.C., Thompson, L., Baseler, M., Massari, F., Fox, C.H., Salzman, N.P., Fauci, A.S. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305-308. Erratum in: *Science* 1989 245, preceding 694.
12. Schnittman, S.M., Greenhouse, J.J., Psallidopoulos, M.C., Baseler, M., Salzman, N.P., Fauci, A.S., Lane, H.C. 1990. Increasing viral burden in CD4⁺ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Annals of Internal Medicine* **113**:438-443.
13. Pantaleo, G., Graziosi, C., Fauci, A.S. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *New England Journal of Medicine* **328**:327-335.
14. Piatak, M. Jr., Saag, M.S., Yang, L.C., Clark, S.J., Kappes, J.C., Luk, K.C., Hahn, B.H., Shaw, G.M., Lifson, J.D. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749-1754.
15. Fauci, A.S., Schnittman, S.M., Poli, G., Koenig, S., Pantaleo, G. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Annals of Internal Medicine* **114**:678-693.
16. Coffin, J.M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: Implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483-489.
17. Ho, D.D., Neumann, A.U., Perelson, A.S., Chen, W., Leonard, J.M., Markowitz, M. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123-126.
18. Wei, X., Ghosh, S.K., Taylor, M.E., Johnson, V.A., Emini, E.A., Deutsch, P., Lifson, J.D., Bonhoeffer, S., Nowak, M.A., Hahn, B.H., et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117-122.
19. O'Brien, W.A., Hartigan, P.M., Martin, D., Esinhart, J., Hill, A., Benoit, S., Rubin, M., Simberkoff, M.S., Hamilton, J.D. 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *New England Journal of Medicine* **334**:426-431.



20. Welles, S.L., Jackson, J.B., Yen-Lieberman, B., Demeter, L., Japour, A.J., Smeaton, L.M., Johnson, V.A., Kuritzkes, D.R., D'Aquila, R.T., Reichelderfer, P.A., Richman, D.D., Reichman, R., Fischl, M., Dolin, R., Coombs, R.W., Kahn, J.O., McLaren, C., Todd, J., Kwok, S., Crumpacker, C.S. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *Journal of Infectious Diseases* **174**:696-703.
21. Coombs, R.W., Welles, S.L., Hooper, C., Reichelderfer, P.S., D'Aquila, R.T., Japour, A.J., Johnson, V.A., Kuritzkes, D.R., Richman, D.D., Kwok, S., Todd, J., Jackson, J.B., DeGruttola, V., Crumpacker, C.S., Kahn, J. 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *Journal of Infectious Diseases* **174**:704-712.
22. Hammer, S., Crumpacker, C., D'Aquila, R., Jackson, B., Lathey, J., Livnat, D., Reichelderfer, P. 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *Journal of Clinical Microbiology* **31**:2557-2564.
23. Schochetman, G., George, J.R., ed. AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 1994.
24. Mulder, J., McKinney, N., Christopherson, C., Sninsky, J., Greenfield, L., Kwok, S. 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: Application to acute retroviral infection. *Journal of Clinical Microbiology* **32**:292-300.
25. Dewar, R.L., Highbarger, H.C., Sarmiento, M.D., Todd, J.A., Vasudevachari, M.B., Davey, R.T. Jr., Kovacs, J.A., Salzman, N.P., Lane, H.C., Urdea, M.S. 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *Journal of Infectious Diseases* **170**:1172-1179.
26. van Gemen, B., Kievits, T., Schukink, R., van Strijp, D., Malek, L.T., Sooknanan, R., Huisman, H.G., Lens, P. 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *Journal of Virological Methods* **43**:177-187.
27. Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science* **230**:1350-1354.
28. Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239**:487-491.
29. Mullis, K.B., Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* **155**:335-350.
30. Q. Meng, C. Wong, A. Rangachari, S. Tamatsukuri, M. Sasaki, E. Fiss, L. Cheng, T. Ramankutty, D. Clarke, H. Yawata, Y. Sakakura, T. Hirose, and C. Impraim. 2001. Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. *Journal of Clinical Microbiology* **39** (8):2937-2945.
31. Smith, E.S., Li, A.K., Wang, A.M., Gelfand, D.H., Myers, T.M. 2003. Amplification of RNA: High-Temperature Reverse Transcription and DNA Amplification with a Magnesium-Activated Thermostable DNA Polymerase. In *PCR Primer: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Dieffenbach C.W. and Dveksler G.S., Eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, pp. 211-219.
32. Kwok, S., Sninsky, J.J. 1993. PCR detection of human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA sequences. In: *Diagnostic Molecular Biology: Principles and Applications*. eds. Persing, D.H., Smith, T.F., Smith, F.C., et al. ASM, Washington, D.C.
33. Longo, M.C., Berninger, M.S., Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
34. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. **10**:413-417.
35. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
36. Holmes, H., Davis, C., Heath, A., Hewlett, I. and Lelie, N. 2001. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *Journal of Virological Methods* **92**:141-150.
37. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Wayne, PA:CLSI, 2005.

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TECNICO

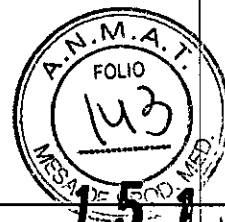


141

- 39. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 41st Edition. 2000. 704 pp.
- 40. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, Gao F, Hahn BH, Kalish ML, Kuiken C, Learn GH, Leitner T, McCutchan F, Osmanov S, Peeters M, Pieniazek D, Salminen M, Sharp PM, Wolinsky S, and Korber B: HIV-1 Nomenclature proposal: A reference guide to HIV-1 classification. In: Human Retroviruses and AIDS 1999: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences (Kuiken C, Foley B, Hahn B, Korber B, McCutchan F, Marx PA, Mellors JW, Mullins JI, Sodroski J, and Wolinsky S, eds.). Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1999, pp. 492-505.
- 41. Davis, C., Berry, N., Heath, A. and Holmes, H. 2008. An international collaborative study to establish a replacement World Health Organization International Standard for human immunodeficiency virus 1 RNA nucleic acid assays. Vox Sanguinis **95**: 218-225.
- 42. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children, 2010.

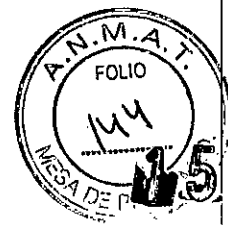
E.

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. c.L
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



142

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 2.0 08/2014	El fabricante legal se ha actualizado a Roche Diagnostics GmbH. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.
Doc Rev. 3.0 03/2015	<p>En los apartados RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA, PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO, OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS, RESULTADOS, SUSTANCIAS INTERFERENTES, Evaluación NO CLÍNICA DEL RENDIMIENTO (subapartados Inclusividad del grupo M, N y O del HIV-1 y Especificidad) se ha eliminado la referencia a "ARN" (en caso necesario).</p> <p>En el apartado Selección del fragmento objetivo se ha añadido "grupo N".</p> <p>En el apartado ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES, letra R, se ha añadido "SPEX (utilizado en el flujo de trabajo con muestras de sangre seca)".</p> <p>En el apartado REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN se ha incluido información de almacenamiento correspondiente al reactivo SPEX. En el apartado OTROS MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS se ha incluido la información de pedido correspondiente al equipo Eppendorf Thermomixer C.</p> <p>En el apartado OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS se ha incluido información sobre el etiquetado de todos los tipos de muestras, así como instrucciones para el transporte de muestras DBS y el rango de temperatura para las muestras DBS.</p> <p>En el apartado Preparación de las muestras y los controles se han clarificado las instrucciones sobre la manipulación de muestras congeladas y el almacenamiento de muestras y controles procesados.</p> <p>En el apartado INSTRUCCIONES DE USO se ha incluido información sobre la manipulación de SPEX antes de su uso.</p> <p>En el apartado SUSTANCIAS INTERFERENTES se ha corregido la falta de ortografía de Peginterferón alfa-2a.</p> <p>En el apartado LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO se ha eliminado "grupo N del HIV-1" de la limitación n.º 2.</p> <p>En el apartado Sensibilidad diagnóstica se ha clarificado la información sobre Abbott y los resultados del estudio serológico para su comparación con CAP/CTM HIV-1 Qual v2.</p> <p>Se ha añadido el símbolo del número mundial de artículo comercial (GTIN) y una descripción a la página de símbolos armonizada.</p> <p>Se ha añadido una frase para clarificar que el etiquetado seguro del producto se realiza conforme a la regulación GHS de la UE.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>



143

11

Fabricado en los Estados Unidos



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany



Distributed by

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 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

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

Marcas registradas y patentes

Consulte www.roche-diagnostics.us/patents



©2015 Roche Molecular Systems, Inc.

03/2015
Doc Rev. 3.0

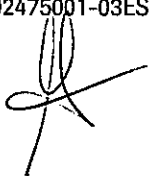
07002475001-03



















07002475001-03ES


26

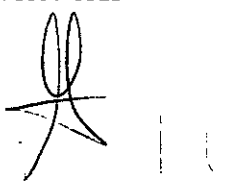
Dr. ALDO A. CHIARELLI Doc Rev. 3.0
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



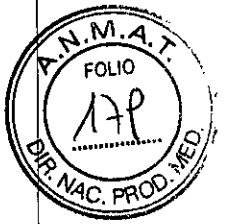
Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

- | | | | |
|---|--|---|---|
|  | Programa auxiliar |  | Distribuido por |
|  | Representante autorizado en la Comunidad Europea |  | Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|  | Código de lote |  | Fabricante |
|  | Riesgo biológico |  | Almacenar en la oscuridad |
|  | Número de catálogo |  | Límite de temperatura |
|  | Consulte las instrucciones de uso |  | Archivo de definición de pruebas |
|  | Suficiente para $< n >$ pruebas |  | Fecha de caducidad |
|  | Contenido del kit |  | Número mundial de artículo comercial |

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

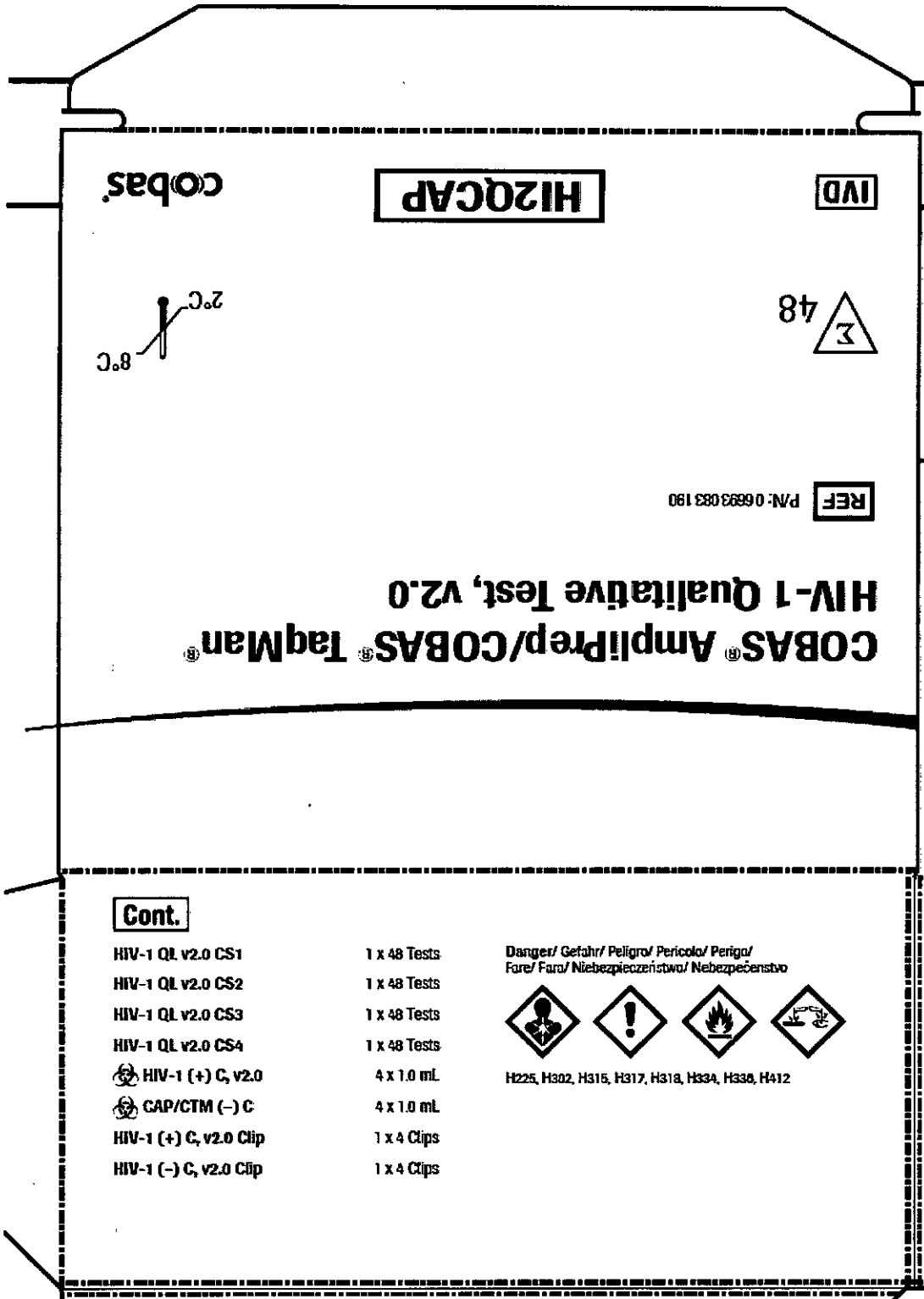


1511



PROYECTO DE RÓTULO:

COBAS AmpliPrep / COBAS TaqMan HIV-1 Qualitative Test, v2.0
(catálogo N° 6693083)



Cont.

- | | |
|------------------------|--------------|
| HIV-1 QL v2.0 CS1 | 1 x 48 Tests |
| HIV-1 QL v2.0 CS2 | 1 x 48 Tests |
| HIV-1 QL v2.0 CS3 | 1 x 48 Tests |
| HIV-1 QL v2.0 CS4 | 1 x 48 Tests |
| HIV-1 (+) C, v2.0 | 4 x 1.0 mL |
| CAP/CTM (-) C | 4 x 1.0 mL |
| HIV-1 (+) C, v2.0 Clip | 1 x 4 Clips |
| HIV-1 (-) C, v2.0 Clip | 1 x 4 Clips |

Danger/ Gefahr/ Peligro/ Pericolo/ Perigo/
Fare/ Fara/ Niebezpiecznosc/ Nebezpecenstvo

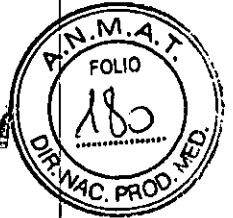


H225, H302, H315, H317, H318, H334, H336, H412

Handwritten signature/initials

Handwritten signature
DR. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.L.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TECNICO

15 1 11



HI2QCAP

COBAS, TAQMAN, AMPLIPREP and AMPERASE are trademarks of Roche.
©2014 Roche Molecular Systems, Inc.



Manufactured in the United States

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 118
68300 Mannheim, Germany



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG
Industrieschneise 7
6143 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 118
68300 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL
Avda. Generalitat, 171-173
E-40119 Sant Cugat del Valles
Barcelona, Spain

Roche Diagnostics
3071, Boulevard Armand-Frappier
1170 4A2 Level, Québec, Canada
(For Technical Assistance call
Pour toute assistance technique,
appelez le: 1-877-273-2433)

Roche Diagnostics
2, Avenue du Verseau
33700 Meyzieu, France

Distributore in Italia:
Roche Diagnostics S.p.A.
Viale G. B. Suardi 110
20152 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda
Estrada Nacional, 210-1
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostics Brasil Ltda.
Av. Engenheiro Bittencourt, 1723
Jaguari, Building 10
05321-610 São Paulo, SP, Brazil

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, v2.0

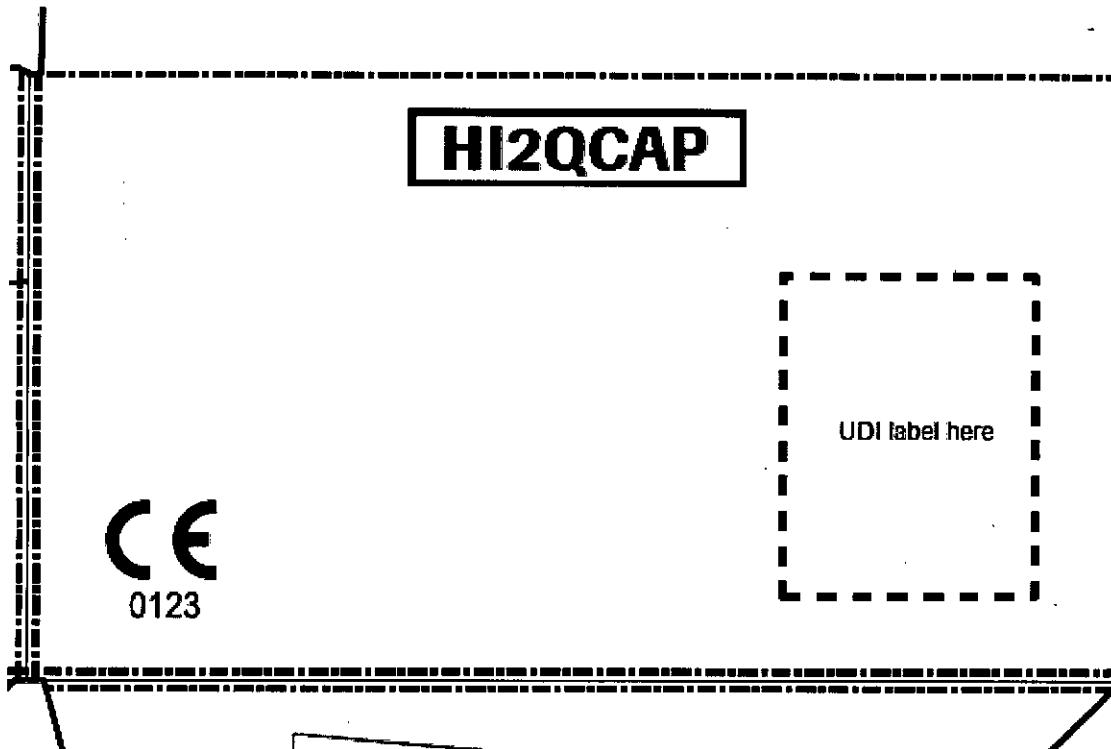
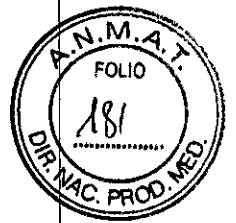


HI2QCAP

cobas®

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

15 1 1




La caja de este producto incluirá las siguientes etiquetas



GTIN 08875197004380
Global Trace Item Number

LOT Z12345

 2035-01-31
06693003198-02

(En el lugar donde dice UDI label here)

Establecimiento importador:

Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).
Av. Belgrano 2126
Don Torcuato, Pcia. de Buenos Aires
República Argentina
Director Técnico: Dr. Aldo Chiarelli - Farmacéutico

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

Certificado N°:

Asimismo, dentro de la caja se incluirá esta tarjeta:



DR. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.S e I.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



15 1

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®
HIV-1 Qualitative Test, v2.0**

HI2QCAP

KIT **LOT**

IVD

LOT

LOT

HIV-1 QL v2.0 CS1

CAP/CTM (-) C

HIV-1 QL v2.0 CS2

HIV-1 (+) C, v2.0

HIV-1 QL v2.0 CS3

HIV-1 (-) C, v2.0 Clip

HIV-1 QL v2.0 CS4

HIV-1 (+) C, v2.0 Clip



COBAS® TaqMan® 48 Analyzer

HI2QLP48 TDF v1.0
(AMPLILINK Software v3.3)

REF 06989977190

HI2QLD48 TDF v1.0
(AMPLILINK Software v3.3)

REF 06989934190

COBAS® TaqMan® Analyzer

HI2QLP96 TDF v1.0
(AMPLILINK Software v3.x)

REF 07003030190

HI2QLD96 TDF v1.0
(AMPLILINK Software v3.x)

REF 06989969190



website: <http://e-labdoc.roche.com>

Method Sheet Catalog No.: 06693083190
Doc Rev. 3.0

Please contact your local Roche affiliate if you require a printed copy free of charge or need technical support to access the package insert. / Bei Ihrer zuständigen Roche-Vertretung erhalten Sie einen kostenfreien Ausdruck oder technische Unterstützung für den Zugriff auf die Packungsbeilage. / Veuillez contacter votre société Roche locale pour obtenir un exemplaire papier gratuit ou une assistance technique pour accéder à la notice. / Contattare il rappresentante Roche locale per ottenere gratuitamente una copia stampata o richiedere istruzioni per reperire il foglio illustrativo. / Póngase en contacto con su filial local de Roche si necesita una copia impresa gratuita o ayuda del servicio técnico para acceder al boletín técnico. / Se desejar uma cópia impressa gratuita ou necessitar de assistência técnica para aceder ao folheto informativo, entre em contacto com o representante local da Roche. / Kontakt den lokale Roche-representant, hvis du ønsker en gratis skriftlig kopi eller har brug for teknisk support for at få adgang til indlægssedlen. / Kontakta din Roche-representant om du vill ha en pappersversion kostnadsfritt eller om du behöver teknisk support för att komma åt bipacksedeln. / Aby otrzymać darmową drukowaną wersję lub jeśli zaistniały problemy techniczne z dostępem do ulotki dołączonej do opakowania, należy skontaktować się z miejscowym oddziałem firmy Roche. / Ak potrebujete bezplatnú vyťažčenú kópiu alebo ak potrebujete technickú pomoc ohľadne prístupu k príbalovým letákom, obráťte sa na miestne zastúpenie spoločnosti Roche.

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

07114451001-03

[Signature]
DR. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. L.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

[Handwritten mark]

151



PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:

El contenido del Kit incluye:

Cont.

HIV-1 QL v2.0 CS1	1 x 48 Tests
HIV-1 QL v2.0 CS2	1 x 48 Tests
HIV-1 QL v2.0 CS3	1 x 48 Tests
HIV-1 QL v2.0 CS4	1 x 48 Tests
HIV-1 (+) C, v2.0	4 x 1.0 mL
CAP/CTM (-) C	4 x 1.0 mL
HIV-1 (+) C, v2.0 Clip	1 x 4 Clips
HIV-1 (-) C, v2.0 Clip	1 x 4 Clips

HIV-1 QL v2.0 CS1

HIV-1 QL v2.0 CS1

CAP/CTM HIV-1 Qual Test, v2.0

06693083190

48 Tests

IVD

Cont.

B: MGP 7.0 mL

A: _____

C: _____

Danger/ Gefahr/ Peligro/ Pericolo/ Perigo/
Fare/ Fara/ Niebezpieczeństwo/ Nebezpečnostvo

93% (w/w, Gew.-%, m/m, p/p, v/v, V/V)
 Isopropanol/ Isopropanolo/ Izopropanol

Manufactured in the United States.

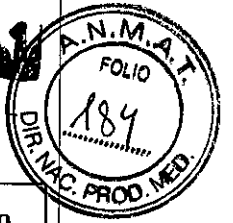
Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Straße 116
 68305 Mannheim, Germany

H225, H319, H336

07003382001-03

DR. ALDO A. CREARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A.C. e.I.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

15 L



HIV-1 QL v2.0 CS2

cobas

06693083190

HIV-1 QL v2.0 CS2

48 Tests

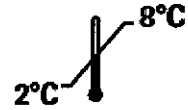
CAP/CTM HIV-1 Qual Test, v2.0

IVD

Cont.

LYS

78 mL



Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 118
68305 Mannheim, Germany

**Danger/ Gefahr/ Peligro/ Pericolo/ Perigo/
Fare/ Fara/ Niebezpieczeństwo/ Nebezpečnostvo**



42.5% (w/w, Gew.-%, m/m, p/p, v/v, V/V)
Guanidine thiocyanate/ Guanidinthiocyanat/
Thiocyanate de guanidine/ Tiocianato di guanidina/
Tiocianato de guanidina/ Guanidintiocyanat/
Tiocyanian guanidyny/ Guanidín thiocyanát

H302, H315, H318, H412

07003340001-03

HIV-1 QL v2.0 CS3

cobas

06693083190

HIV-1 QL v2.0 CS3

48 Tests

CAP/CTM HIV-1 Qual Test, v2.0

IVD

Cont.

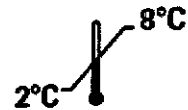
B: Pase

3.8 mL

A:

C: EB

7.0 mL



Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 118
68305 Mannheim, Germany

**Danger/ Gefahr/ Peligro/ Pericolo/ Perigo/
Fare/ Fara/ Niebezpieczeństwo/ Nebezpečnostvo**



≤ 7.8% (w/w, Gew.-%, m/m, p/p, v/v, V/V)
Proteinase/ Protéinase/ Proteinasi/ Proteinasa/
Proteinas/ Proteinaza/ Proteináza

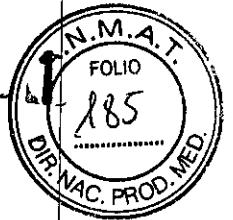
H318, H334

07003358001-03

E

Dr. ALDO A. CHEARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.C. & I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

151



HIV-1 QL v2.0 CS4

cobas®

HIV-1 QL v2.0 CS4

CAP/CTM HIV-1 Qual Test, v2.0

06693083190

48 Tests

IVD

Cont.

B: HIV-1 QS	3.6 mL
A: CAP/CTM Mn ²⁺	19.8 mL
C: HIV-1 MMX	2.5 mL

Manufactured in the United States

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim, Germany

07003374001-03

cobas®

HIV-1 (+)C, v2.0

1.0 mL

2-8°C

IVD

Manufactured in the United States

Roche Diagnostics GmbH

68305 Mannheim, Germany

07002408001

H317

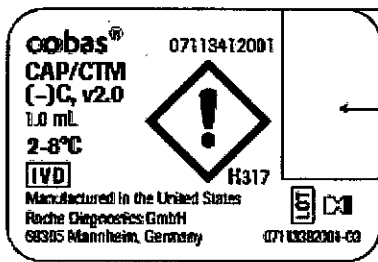
00983970001-03

5/16" x 25/32" unvarnished steel

3

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. de I.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

151

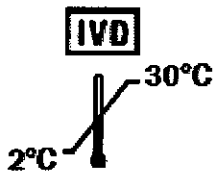


4 Pcs.

06693083190

HIV-1 (+) C, v2.0 Clip

HIV-1 – COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Tests



KIT **LOT**

CTL **LOT**

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim, Germany

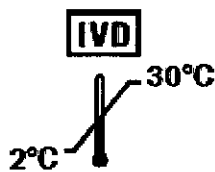
07114478001-03

4 Pcs.

06693083190

HIV-1 (-) C, v2.0 Clip

HIV-1 v2.0 – COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® Tests



KIT **LOT**

CTL **LOT**

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Straße 116
68305 Mannheim, Germany

07114460001-03

DR ALDO A. CHIARETTI
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. de I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TECNICO



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

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

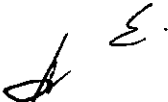
Expediente nº 1-47-3110-1534/15-2

Se autoriza a la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnostica) a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado COBAS® AmpliPrep-COBAS® TaqMan® HIV-1 Qualitative Test, versión 2.0 / PRUEBA DE DIAGNÓSTICO *IN VITRO* DISEÑADA PARA LA DETECCIÓN CUALITATIVA DEL VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA TIPO 1 (HIV-1), MEDIANTE LA AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS TOTALES EN MUESTRAS DE PLASMA HUMANO O SANGRE SECA, CON EL EQUIPO COBAS® AmpliPrep Y LOS ANALIZADORES COBAS® TaqMan® O COBAS® TaqMan® 48. En envases conteniendo: (Nº de catálogo: 6693083) ENVASES POR 48 PRUEBAS, CONTENIENDO: CASSETTE DE REACTIVO DE MICROPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS1), CASSETTE DE REACTIVO DE LISIS PARA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS2), CASSETTE DE MULTIREACTIVOS PARA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS3), CASSETTE DE REACTIVO ESPECÍFICO PARA LA PRUEBA HIV-1 (HIV-1 QL v2.0 CS4), CONTROL POSITIVO DEL HIV-1 (HIV-1 [+] C, v2.0: 4 x 1,0 ml), CONTROL NEGATIVO DE COBAS® TaqMan® (CTM [-] C: 4 x 1,0 ml), CLIP DE CÓDIGO DE BARRAS PARA CONTROL POSITIVO DEL HIV-1 (HIV-1 [+] C, v2.0 CLIP: 1 x 4) Y CLIP DE CÓDIGO DE BARRAS PARA CONTROL NEGATIVO DEL HIV-1 (HIV-1 [-] C, v2.0 CLIP: 1 x 4). Vida útil: VEINTICINCO (25) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones

establecidas en la Ley Nº 16.463 y Resolución Ministerial Nº 145/98. Lugar de elaboración: ROCHE MOLECULAR SYSTEMS, Inc. 1080 US Highway 202 South, Branchburg, NJ 08876. (USA) PARA: ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA) . En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA. Certificado nº**008365**.....

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA

Buenos Aires, **17 FEB. 2016**



Firma y sello

Dr. ROBERTO LEDE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.