



República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018 - Año del Centenario de la Reforma Universitaria

Disposición

Número:

Referencia: 1-47-3110-4002/16-5

VISTO el expediente N° 1-47-3110-4002/16-5 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por los presentes actuados la firma **PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I.** (División Diagnóstica) solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos del Producto para diagnóstico uso In Vitro denominado **cobas® HBV.**

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

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

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

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

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

Por ello;

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

DISPONE:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la inscripción en el Registro Nacional de Productores y Productos de Tecnología Médica (RPPTM) de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT) del producto médico para diagnóstico de uso In Vitro denominado **cobas® HBV.**, de acuerdo a lo solicitado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) con los datos característicos que figuran al pie de la presente.

ARTICULO 2º.- Autorízase los textos de los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones que obran en el documento N° IF-2018-00508481-APN-DNPM#ANMAT.

ARTÍCULO 3º.- En los rótulos e instrucciones de uso autorizados deberá figurar la leyenda “Autorizado por la ANMAT PM-740-558”, con exclusión de toda otra leyenda no contemplada en la normativa vigente.

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

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

DATOS IDENTIFICATORIOS CARACTERISTICOS

Nombre comercial: **cobas® HBV.**

Indicación de uso: Prueba de amplificación de ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del virus de la hepatitis B (HBV) en suero o plasma humano conservado en EDTA.

Forma de presentación: Envases por 120 determinaciones, conteniendo: 1 cassette integral de reactivos.

Período de vida útil y condición de conservación: 16 meses, conservado a 2 y 8°C.

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

Nombre y dirección del fabricante: ROCHE MOLECULAR SYSTEMS Inc. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876, (USA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA).

Expediente N° 1-47-3110-4002/16-5

PROYECTO DE MANUAL DE INSTRUCCIONES

cobas[®] HBV

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

cobas[®] HBV	120 Tests	P/N: 06979564190
cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	10 Sets	P/N: 06979572190
cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979513190 P/N: 06979521190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests 960 Tests	P/N: 05235863190 P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Specimen Diluent 2	240 Tests	P/N: 06979556190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 2	240 Tests 960 Tests	P/N: 06979530190 P/N: 06979548190

Tabla de contenido

Uso previsto

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia.....	4
Motivos para el uso de la prueba del VHB	4
Explicación de la prueba.....	5
Principios del procedimiento	5

Materiales y reactivos

Reactivos	6
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	11
Material adicional necesario	11
Equipos y programas necesarios pero no suministrados.....	12

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones.....	12
Buenas prácticas de laboratorio.....	13
Manipulación de reactivos	13
Contaminación	14
Integridad	14
Eliminación de residuos	14
Limpieza de derrames.....	14
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	15
Obtención de las muestras	15
Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte.....	15

Instrucciones de uso

Realización de la prueba	16
Volumen de procesamiento de muestras.....	16
Tamaño de la serie.....	16
Flujo de trabajo.....	17

Resultados

Control de calidad y validez de los resultados.....	19
Avisos de controles.....	19
Interpretación de los resultados	20
Limitaciones del procedimiento.....	21

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento.....	22
---	----

Información adicional

Características principales del ensayo	33
Símbolos	34
Fabricante y distribuidores	35
Marcas registradas y patentes	35
Copyright.....	35
Bibliografía	36
Revisión del documento	38

Uso previsto

cobas® HBV es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ADN del virus de la hepatitis B (VHB) en plasma humano conservado en EDTA o suero de pacientes infectados con el VHB.

Esta prueba está diseñada para su uso como ayuda en la gestión de los pacientes con una infección crónica por VHB sometidos a una terapia antivírica. La prueba puede utilizarse para cuantificar los niveles de ADN del VHB iniciales y durante el tratamiento para valorar la respuesta al tratamiento. Los resultados de la prueba cobas® HBV deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio relevantes.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

El virus de la hepatitis B (VHB) es uno de los virus causantes de la hepatitis vírica. Más de dos mil millones de personas en todo el mundo han sido infectadas por el VHB y más de 350 millones de estas son portadoras infectadas de forma crónica.¹ El VHB es una de las principales causas de enfermedades del hígado en los Estados Unidos (EE.UU.), a pesar del descenso en la incidencia de infecciones agudas asociadas con las vacunaciones y de las precauciones universales en el uso de jeringas.² Se estima que la prevalencia global de la infección por VHB en los Estados Unidos oscila entre el 0,3% y el 0,5% y se calcula que entre un 47% y un 70% de los casos son atribuibles a personas nacidas fuera de los EE.UU.² Sin embargo, los programas de cribado orientados han demostrado tasas de prevalencia superiores al 15% en determinadas poblaciones de inmigrantes de alto riesgo.³ Los pacientes con infección crónica por VHB presentan un alto riesgo de padecer complicaciones a largo plazo como consecuencia de la infección, incluyendo hepatitis crónica, cirrosis y carcinoma hepatocelular.⁴⁻⁷ Los marcadores serológicos se utilizan normalmente como indicadores diagnósticos o de pronóstico de la infección aguda o crónica por el VHB.⁸ Los centros para el control y la prevención de enfermedades de EE.UU. han ampliado las recomendaciones de cribado rutinario de sujetos de alto riesgo para incluir también poblaciones en las que la prevalencia del antígeno de superficie (HBsAg) del VHB supera el 2%, entre las que figuran personas de regiones endémicas del mundo (como Asia y África), hombres homosexuales y drogadictos que utilizan jeringuillas.²

El marcador más común de la infección por VHB es la presencia del HBsAg.⁸ A pesar de que los portadores pueden eliminar el HBsAg y desarrollar anticuerpos contra el HBsAg, persiste el riesgo de padecer complicaciones hepáticas importantes en etapas posteriores de la vida.^{9,10} El antígeno e de HB (HBeAg) se utiliza generalmente como marcador secundario para indicar que el VHB se está replicando activamente y se asocia con la hepatopatía progresiva. La imposibilidad de eliminar el HBeAg parece incrementar el riesgo de padecer hepatopatía terminal.^{9,10} Distintas cepas de mutaciones precoces del VHB pueden perder la capacidad de producir HBeAg incluso en presencia de una infección activa, lo que limita el uso de este marcador para el control de la progresión de la enfermedad.⁷

Motivos para el uso de la prueba del VHB

El ADN del VHB en suero y plasma conservado en EDTA puede cuantificarse mediante técnicas de amplificación de ácidos nucleicos como la PCR.¹¹⁻¹⁴ Varias de las principales directrices recomiendan el uso de la metodología de la PCR a tiempo real para la cuantificación del ADN del VHB, principalmente debido a una mayor sensibilidad y un intervalo lineal más amplio.^{15,16}

Explicación de la prueba

cobas® HBV es una prueba de ácidos nucleicos cuantitativa que se realiza en el cobas® 4800 System. La prueba cobas® HBV permite la detección y cuantificación de ADN del VHB en suero o plasma conservado en EDTA de pacientes infectados. Se emplean sondas que detectan y cuantifican, pero no discriminan, los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H del VHB así como la mutación precorre más predominante. La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un estándar de cuantificación de ADN de fago lambda (DNA QS) que se añade a cada una de las muestras durante la preparación de las muestras. El DNA QS también actúa como control interno para monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza tres controles externos: uno positivo de título alto, uno positivo de título bajo y uno negativo.

Principios del procedimiento

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

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

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra de paciente se lleva a cabo mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus para el fragmento objetivo que se seleccionan de regiones altamente conservadas del VHB. La amplificación selectiva de DNA QS se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del VHB. Para el proceso de amplificación mediante PCR se utiliza ADN polimerasa termoestable. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).^{14,17,18} La AmpErase, presente en el reactivo de Master Mix, inactiva los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores como plantillas de PCR antes de que se realice el primer paso de desnaturalización de la PCR. La AmpErase cataliza la eliminación de uracil del ADN, pero no presenta actividad en el ADN natural, que no contiene uracil. Los amplicones formados durante ciclos posteriores de la PCR no se inactivan porque la AmpErase se inactiva en las temperaturas de hibridación y desnaturalización de la PCR.

El reactivo de Master Mix de cobas® HBV contiene sondas de detección específicas para las secuencias del fragmento objetivo del VHB y los ácidos nucleicos del QS, respectivamente. Cada una de estas sondas de detección específicas para VHB y DNA QS se marca con uno de los dos marcadores fluorescentes que actúan como emisor. Además, cada sonda dispone de un segundo marcador que actúa como silenciador. Los dos marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, lo que permite detectar y discriminar simultáneamente el fragmento objetivo amplificado del VHB y el DNA QS.^{12,13} Cuando no se une a la secuencia objetivo, la señal fluorescente de la sonda intacta se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente.

Como los dos marcadores emisores específicos se miden en longitudes de onda definidas, es posible detectar y discriminar simultáneamente el fragmento objetivo amplificado del VHB y el DNA QS.

Materiales y reactivos

Reactivos

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

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
cobas® HBV 120 pruebas (P/N: 06979564190)	MMX R1 (cobas® Master Mix Reagent 1) Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	10 × 1,75 ml	N/A
	HBV MMX R2 (cobas® HBV Master Mix Reagent 2) Tampón Tricina, acetato de potasio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTP, < 0,01% de cebadores ascendente y descendente para VHB, < 0,01% de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para el estándar de cuantificación, < 0,01% de sondas oligonucleótidas marcadas con fluorescente específicas para VHB y el estándar de cuantificación, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D (microbiano), < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	10 × 0,5 ml	N/A
	DNA QS (cobas® HBV DNA Quantitation Standard) Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo diferente de VHB con una región de unión a cebador diferente de VHB y una región exclusiva de unión a sonda (ADN no infeccioso), 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	10 × 1,75 ml	N/A

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

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

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 (Kit de lisis 2 para el cobas® 4800 System) 240 pruebas (P/N: 06979530190)	P 2 (cobas® 4800 Protease 2) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa	10 × 1,0 ml	 <p>Peligro</p> <p>H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación.</p> <p>H315: Provoca irritación cutánea.</p> <p>H318 Provoca lesiones oculares graves.</p> <p>H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.</p> <p>H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>P261 Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P280 Llevar guantes/gafas/máscara de protección.</p> <p>P284 Llevar equipo de protección respiratoria.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</p> <p>P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</p> <p>P362 + P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.</p>
	LYS 2 (cobas® 4800 Lysis Buffer 2) 43% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	10 × 27 ml	

Kit	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
cobas® 4800 System Lysis Kit 2 (Kit de lisis 2 para el cobas® 4800 System) 960 pruebas (P/N: 06979548190)	P 2 (cobas® 4800 Protease 2) Tampón Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa	10 × 1,0 ml	 <p>Peligro</p> <p>H302+H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación.</p> <p>H315: Provoca irritación cutánea.</p> <p>H318 Provoca lesiones oculares graves.</p> <p>H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.</p> <p>H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p>
	LYS 2 (cobas® 4800 Lysis Buffer 2) 43% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitól, citrato de sodio dihidratado	10 × 84 ml	<p>P261 Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P280 Llevar guantes/gafas/máscara de protección.</p> <p>P284 Llevar equipo de protección respiratoria.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</p> <p>P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</p> <p>P362 + P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.</p>

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

Requisitos de almacenamiento y manipulación

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

No congele los reactivos.

Material adicional necesario

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

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

Equipos y programas necesarios pero no suministrados

Equipos y programas necesarios, no suministrados
cobas[®] 4800 System cobas x 480 instrument cobas z 480 analyzer Unidad de control
Programa de aplicaciones (core) para el cobas[®] 4800 System versión 2.1.0 o posterior
cobas[®] 4800 System cobas[®] HBV AP v1.0.0 o posterior

Consulte el Manual de usuario del **cobas[®] 4800 System**, versión de software 2.1 o posterior, para la prueba **cobas[®] HBV** para uso con el **cobas[®] 4800 System** (de ahora en adelante Manual de usuario del **cobas[®] 4800 System** para la prueba **cobas[®] HBV**) si desea obtener información adicional sobre los tubos primarios y secundarios compatibles con cada equipo.

Nota: póngase en contacto con su representante local de Roche para obtener una lista de pedido detallada para bandejas de muestras, bandejas para puntas obstruidas y bandejas de racks compatibles con cada equipo.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- El uso de la prueba **cobas[®] HBV** para el cribado de la presencia de VHB no se ha evaluado en sangre o productos sanguíneos.
- Todas las muestras de pacientes deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados que se describen en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{19,20} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba **cobas[®] HBV** y el **cobas[®] 4800 System**.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales.
- **cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit** contiene plasma derivado de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante una prueba para anticuerpos autorizada y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, anticuerpos anti-HBsAg y anticuerpos anti-HBc. El análisis mediante métodos PCR no ha detectado la presencia de ARN del VIH-1 ni del VIH-2, ARN del VHC ni ADN del VHB. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- Evite la exposición del reactivo MGP a fuentes de campos magnéticos.
- **No congele la sangre total ni las muestras almacenadas en tubos primarios.**

- Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas x 480** instrument o el **cobas z 480 analyzer**, consulte el Manual de usuario del **cobas® 4800 System** para la prueba **cobas® HBV**. Si se sospecha de la existencia de contaminación, efectúe una limpieza y el mantenimiento semanal que se describe en el Manual de usuario del **cobas® 4800 System** para la prueba **cobas® HBV** y el Manual del sistema del **cobas® 4800 System**.

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

Buenas prácticas de laboratorio

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

Manipulación de reactivos

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

Contaminación

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

Integridad

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

Eliminación de residuos

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

Nota: *para la eliminación de residuos líquidos, consulte el Manual del sistema correspondiente del cobas® 4800 System.*

Limpieza de derrames

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

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

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

Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas.

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

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

Obtención de las muestras

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

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

Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte

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

Instrucciones de uso

Realización de la prueba

Volumen de procesamiento de muestras

El volumen de procesamiento de muestras predeterminado para la prueba cobas® HBV es de 400 µl. Para muestras con un volumen bajo, se puede elegir un volumen de procesamiento de 200 µl. En estos casos, el cobas® 4800 System Specimen Diluent 2 debe cargarse en el sistema como un reactivo adicional. El asistente del software instará al usuario a realizar la carga si durante la creación de la petición de trabajo se ha seleccionado el tipo de muestra "Diluted serum or plasma".

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

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

Nota: consulte el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV si desea obtener información detallada sobre el funcionamiento.

Tamaño de la serie

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

En la Ilustración 1 se resume el procedimiento.

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

Flujo de trabajo

La prueba cobas® HBV se realiza a partir del flujo de trabajo completo del cobas® 4800 software. Consta de la preparación de las muestras en el cobas x 480 instrument y la posterior fase de amplificación/detección en el cobas z 480 analyzer. El análisis puede realizarse solamente con la prueba HBV, para la amplificación y la detección. La prueba HBV no puede analizarse en el modo de serie combinada con otras pruebas. Consulte el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV a fin de obtener información detallada.

1. Lleve a cabo los procedimientos de inicio y mantenimiento del sistema de acuerdo con las instrucciones indicadas en el capítulo “Mantenimiento del equipo” del Manual del sistema del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV.
2. Obtenga todos los reactivos y el material fungible necesarios. Todos los reactivos, excepto HBV MMX R2 y MMX R1, deben estar a temperatura ambiente antes de introducirlos en el cobas x 480 instrument. Los reactivos HBV MMX R2 y MMX R1 pueden obtenerse directamente del almacenamiento a 2-8 °C, puesto que alcanzarán la temperatura ambiente para cuando vayan a ser utilizados después de cargarse en el cobas x 480 instrument.

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

3. Inicie una serie nueva y seleccione el tipo de flujo de trabajo HBV. Existen tres formas de crear una petición:
 - Mediante el editor de muestras antes de cargar la bandeja de muestras en el cobas x 480 instrument (botón “Editor” a la derecha del menú principal). Las peticiones de trabajo pueden guardarse, editarse y recargarse en caso necesario.
 - Mediante las instrucciones del asistente del programa para realizar una serie nueva y la carga de las muestras en el cobas x 480 instrument cuando se le solicite. Los códigos de barras de las muestras se escanean automáticamente y deben definirse los resultados solicitados para cada muestra.
 - Mediante el sistema LIS de su centro.

Consulte el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV a fin de obtener información más detallada. Cuando seleccione los resultados solicitados, elija “HBV”.

4. Cargue las muestras y defina/seleccione la petición de trabajo o utilice el LIS, según corresponda. El volumen de muestra mínimo depende del tipo de tubo y su tamaño. Consulte el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV a fin de obtener información más detallada.
5. Siga las instrucciones del asistente del software y cargue el material fungible. No cargue ni extraiga puntas individuales en una bandeja de puntas parcialmente utilizada puesto que el programa controla el número de puntas que quedan. En el caso de no haber puntas suficientes para realizar la serie, el programa emitirá una alerta para el usuario.

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

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

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

7. Cargue los viales de reactivos de amplificación/detección (HBV MMX R2, MMX R1 y DNA QS), los viales de control [HBV/HCV/HIV-1 L(+)/C, HBV/HCV/HIV-1 H(+)/C y (-) C] y los viales de reactivos genéricos (P2 y SD2, como corresponda) directamente en la bandeja de reactivos. Para evitar las cancelaciones de series innecesarias y la contaminación, es necesario realizar un movimiento hacia abajo con los viales de reactivo a fin de impedir la formación de burbujas o películas de líquido y cambiarse los guantes después de manipular los controles positivos.
8. Si la serie de preparación de las muestras se realiza correctamente, se activan los botones "Sample Preparation results" y "Unload". Si lo desea, seleccione el botón "Sample Preparation results" para revisar los resultados y luego seleccione "Unload" para descargar los transportadores de placas. También puede seleccionar "Unload" para descargar el transportador de placas sin revisar los resultados. Consulte el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV.
9. Siga las instrucciones indicadas en el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV para sellar la microplaca, transportar la placa al cobas z 480 analyzer e iniciar la serie de amplificación y detección.
10. **El cobas® 4800 System posee un reloj interno que controla el tiempo transcurrido una vez añadidas las muestras preparadas a la Master Mix activada. La amplificación y la detección se deben iniciar tan pronto como sea posible, nunca después de los 40 minutos posteriores a la finalización de la serie del cobas x 480 instrument. En la pestaña "Workplace" aparece un cronómetro de cuenta atrás. El sistema cancela la serie si el cronómetro agota el tiempo.**
11. Cuando termine la serie de amplificación y detección, descargue la microplaca del cobas z 480 analyzer.
12. Siga las instrucciones del Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV para revisar y aceptar los resultados.

Resultados

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

Control de calidad y validez de los resultados

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

Avisos de controles

Tabla 1: Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	ID de aviso	Resultado	Interpretación
(-) C	R4803, R4804 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	ID de aviso	Resultado	Interpretación
HBV/HCV/HIV-1 L(+)C	R4803, R4804 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo bajo no está dentro del intervalo asignado.
HBV/HCV/HIV-1 H(+)C	R4803, R4804 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

Si la serie no es válida, repita las pruebas para toda la serie, incluyendo muestras y controles.

Interpretación de los resultados

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

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

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

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

cobas® HBV	Notificación e interpretación de los resultados
Target Not Detected	ADN del VHB no detectado. Los resultados se indican como "VHB no detectado".
< Titer Min	El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ) del ensayo. Los resultados se indican como "VHB detectado, inferior a (título mínimo)". Título mínimo = 1,00E+01 UI/ml (400 µl y 200 µl)
Titer	El título calculado está comprendido en el intervalo lineal del ensayo: mayor o igual que el título mínimo y menor o igual que el título máximo. Los resultados se indican como "(Título) de VHB detectado".
> Titer Max ^a	El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULOQ) del ensayo. Los resultados se indican como "VHB detectado, superior a (título máximo)". Título máximo = 1,00E+09 UI/ml (400 µl y 200 µl)

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

Limitaciones del procedimiento

1. El uso de la prueba cobas® HBV se ha evaluado solamente con el cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, el cobas® 4800 System Sample Preparation Kit 2, el cobas® 4800 System Lysis Kit 2, el cobas® 4800 System Wash Buffer Kit y el cobas® 4800 System Specimen Diluent 2.
2. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos que encontrará en este documento de instrucciones de uso (también denominado “metódica del reactivo”) y en el Manual de usuario del cobas® 4800 System para la prueba cobas® HBV.
3. Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con muestras de suero o plasma conservado en EDTA. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
4. La cuantificación de ADN del VHB depende del número de partículas víricas presentes en las muestras y se puede ver afectada por los métodos de obtención de las mismas, factores propios del paciente (como la edad o la presencia de síntomas) y/o la fase de infección.
5. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico cubiertas por la prueba cobas® HBV pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar una cuantificación a la baja del virus o incluso impedir su detección.
6. El valor predictivo de un ensayo depende de la prevalencia de la enfermedad en una población concreta.
7. La incorporación de la enzima AmpErase a la Master Mix de la prueba cobas® HBV permite realizar una amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar las buenas prácticas de laboratorio y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos y de las mezclas de amplificación.
8. El uso de este producto debe limitarse al personal con experiencia en el empleo de técnicas de PCR y la utilización del cobas® 4800 System.
9. Solamente el cobas x 480 instrument y el cobas z 480 analyzer se han validado para su uso con este producto. No debería utilizarse ningún otro equipo de preparación de muestras ni sistema de PCR con este producto.
10. Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.
11. La contaminación por arrastre puede causar resultados falsos positivos. Según un estudio no clínico, la tasa de contaminación por arrastre entre muestras de la prueba cobas® HBV es del 0,0% con un límite de confianza unilateral del 95% de 1,3%. No se ha observado contaminación por arrastre entre series.
12. La prueba cobas® HBV no se ha concebido para el cribado de la presencia de VHB en sangre o productos sanguíneos ni como una prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección de VHB.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento

Límite de detección (LoD)

Estándar internacional de la OMS

El límite de detección de la prueba cobas® HBV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar internacional de la OMS para ADN del VHB en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (segundo estándar internacional de la OMS) para el genotipo A obtenido de NIBSC, en suero o plasma conservado en EDTA negativo al VHB con volúmenes de procesamiento de muestras de 400 µl y 200 µl. Se analizaron paneles con seis niveles de concentración más una muestra negativa con tres lotes de reactivos de la prueba cobas® HBV, múltiples series analíticas, días, usuarios y equipos.

Los resultados del suero y del plasma conservado en EDTA correspondientes a los dos volúmenes de procesamiento de muestra se detallan desde la Tabla 3 hasta la Tabla 6. El estudio demuestra que la prueba cobas® HBV es capaz de detectar ADN del VHB en una concentración de 4,4 UI/ml en plasma conservado en EDTA y 2,8 UI/ml en suero con una tasa de positividad de $\geq 95\%$ mediante PROBIT para el volumen de procesamiento de muestras de 400 µl y en una concentración de 7,6 UI/ml en plasma conservado en EDTA y 5,5 UI/ml en suero con una tasa de positividad de $\geq 95\%$ mediante PROBIT para el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl.

Tabla 3: Límite de detección en plasma conservado en EDTA (400 µl)

Concentración del título de entrada (ADN de VHB, UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
25,0	126	126	100,0%
15,0	126	126	100,0%
10,0	126	126	100,0%
5,0	126	122	96,8%
2,0	125	94	75,2%
0,5	126	38	30,2%
0,0	36	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	4,4 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 3,6-5,7 UI/ml		

Tabla 4: Límite de detección en suero (400 µl)

Concentración del título de entrada (ADN de VHB, UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
25,0	125	125	100,0%
15,0	126	126	100,0%
10,0	126	126	100,0%
5,0	126	126	100,0%
2,0	126	109	86,5%
0,5	126	54	42,9%
0,0	36	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	2,8 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 2,3-3,8 UI/ml		

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

Concentración del título de entrada (ADN de VHB, UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
25,0	126	126	100,0%
15,0	126	125	99,2%
10,0	126	125	99,2%
5,0	126	109	86,5%
2,0	126	71	56,4%
0,5	126	18	14,3%
0,0	36	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	7,6 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 6,3-9,6 UI/ml		

Tabla 6: Límite de detección en suero (200 µl)

Concentración del título de entrada (ADN de VHB, UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad
25,0	126	126	100,0%
15,0	126	126	100,0%
10,0	126	126	100,0%
5,0	126	115	91,3%
2,0	126	90	71,4%
0,5	126	26	20,6%
0,0	36	0	0,0%
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	5,5 UI/ml Intervalo de confianza del 95 %: 4,5-7,0 UI/ml		

Intervalo lineal

La linealidad de la prueba cobas® HBV se determinó mediante el análisis con una serie de diluciones formadas por un panel de ≥ 14 miembros en el que el genotipo predominante del VHB (GT A) abarcaba el intervalo lineal del ensayo. Los miembros del panel con título alto se prepararon a partir de un stock de ADN de lambda de título elevado, mientras que los miembros del panel con título más bajo se prepararon a partir de una muestra clínica (MC) de título elevado. El panel de linealidad se diseñó para que existiera una superposición de títulos de aproximadamente $2 \log_{10}$ entre los dos materiales de origen.

Para el volumen de procesamiento de muestras de 400 μl , la prueba cobas® HBV es lineal para suero y plasma conservado en EDTA desde 10,0 UI/ml hasta 1,0E+09 UI/ml y muestra una desviación máxima respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal menor o igual que $\pm 0,06 \log_{10}$. En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida dentro de $\pm 0,08 \log_{10}$ para plasma conservado en EDTA y dentro de $\pm 0,12 \log_{10}$ para suero.

Para el volumen de procesamiento de muestras de 200 μl , la prueba cobas® HBV es lineal para suero y plasma conservado en EDTA desde 10,0 UI/ml hasta 1,0E+09 UI/ml y muestra una desviación máxima respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal menor o igual que $\pm 0,05 \log_{10}$. En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida dentro de $\pm 0,08 \log_{10}$ para plasma conservado en EDTA y dentro de $\pm 0,16 \log_{10}$ para suero.

Consulte la Ilustración 2 a la Ilustración 5 para conocer los resultados representativos.

Ilustración 2: Linealidad en plasma conservado en EDTA (400 μl)

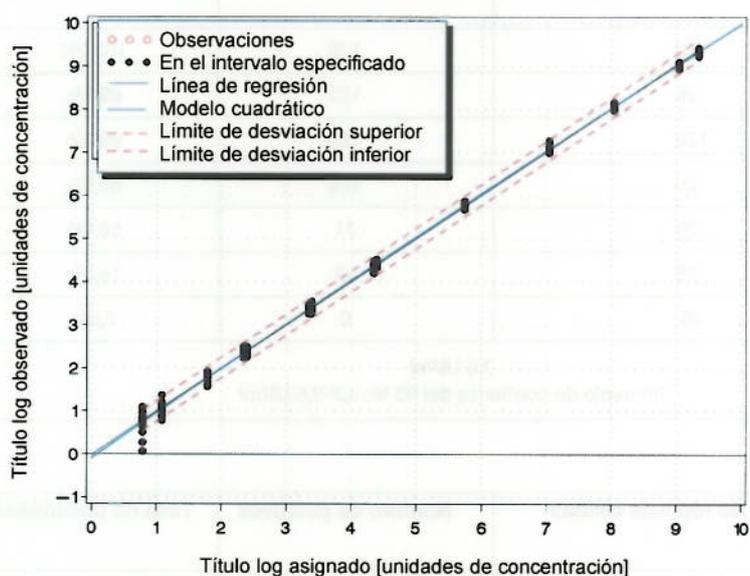


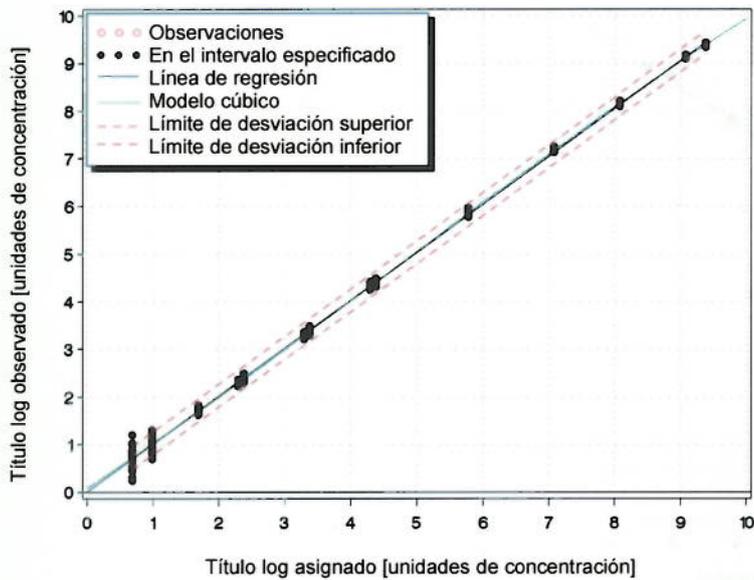
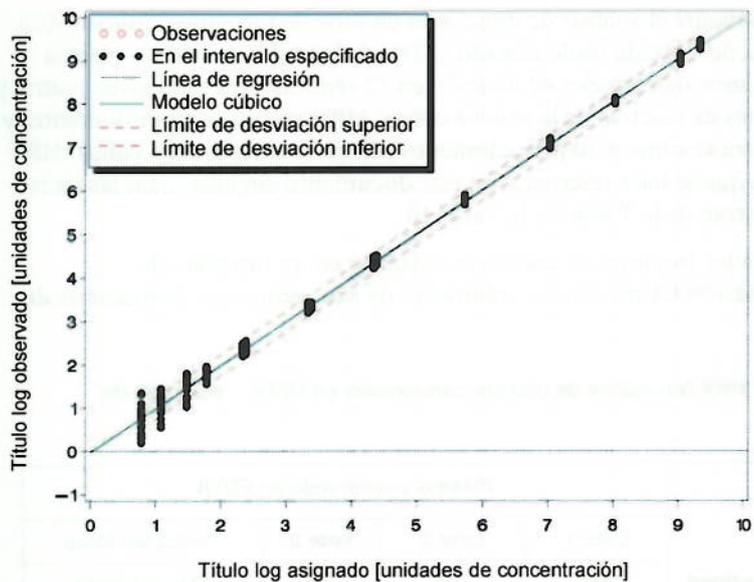
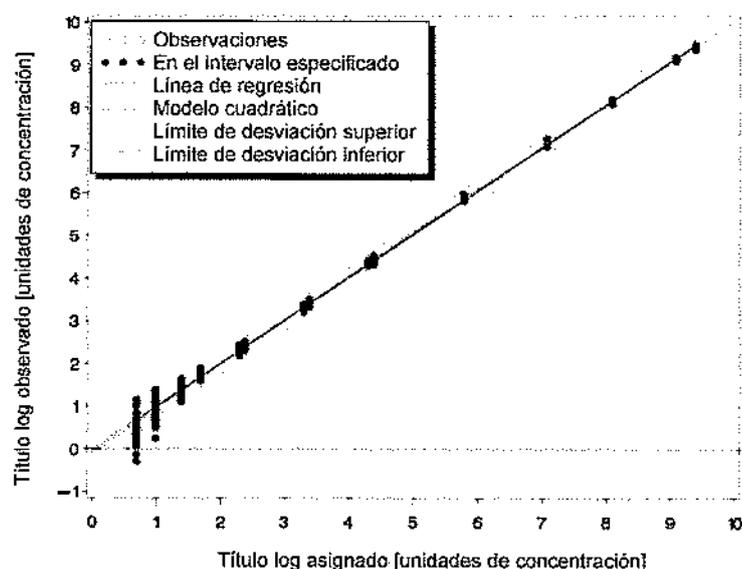
Ilustración 3: Linealidad en suero (400 µl)**Ilustración 4: Linealidad en plasma conservado en EDTA (200 µl)**

Ilustración 5: Linealidad en suero (200 µl)



Precisión intralaboratorio

La precisión de la prueba cobas® HBV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de muestras clínicas (MC) de VHB (genotipo A) y de un stock de ADN de lambda de VHB de título elevado (ADN de lambda) en suero y plasma conservado en EDTA negativos para el VHB. Se analizaron siete niveles de dilución en 72 réplicas para cada nivel, matriz y volumen de procesamiento de muestras con los tres lotes de reactivo de la prueba cobas® HBV en tres equipos diferentes y con tres usuarios distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® HBV en el cobas® 4800 System. Por lo tanto, la precisión a la que se hace referencia en este documento engloba todas las fases del procedimiento de la prueba. Los resultados se muestran de la Tabla 7 a la Tabla 10.

La prueba cobas® HBV presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre 2,5E+01 UI/ml y 1,0E+09 UI/ml con los volúmenes de procesamiento de muestras de 200 µl y 400 µl.

Tabla 7: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (muestras de plasma conservado en EDTA – volumen de procesamiento de muestras de 400 µl)*

Concentración nominal (UI/ml)	Concentración asignada (UI/ml)	Material de origen	Plasma conservado en EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
			SD	SD	SD	SD agrupada
1,0E+09	1,10E+09	ADN de lambda	0,07	0,08	0,05	0,07
1,0E+07	1,10E+07	ADN de lambda	0,05	0,05	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	ADN de lambda	0,06	0,04	0,05	0,05
2,0E+04	2,44E+04	MC	0,06	0,05	0,05	0,05
2,0E+03	2,44E+03	MC	0,08	0,06	0,06	0,07
2,0E+02	2,44E+02	MC	0,06	0,07	0,06	0,06
2,5E+01	3,05E+01	MC	0,14	0,13	0,09	0,12

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

Tabla 8: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (muestras de suero – volumen de procesamiento de muestras de 400 µl)*

Concentración nominal (UI/ml)	Concentración asignada (UI/ml)	Material de origen	Suero			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
			SD	SD	SD	SD agrupada
1,0E+09	1,19E+09	ADN de lambda	0,04	0,04	0,03	0,04
1,0E+07	1,19E+07	ADN de lambda	0,05	0,05	0,04	0,05
5,0E+05	5,93E+05	ADN de lambda	0,03	0,04	0,03	0,03
2,0E+04	1,95E+04	MC	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	MC	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	MC	0,05	0,04	0,03	0,04
2,5E+01	2,44E+01	MC	0,16	0,08	0,14	0,13

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

Tabla 9: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (plasma conservado en EDTA – volumen de procesamiento de muestras de 200 µl)*

Concentración nominal (UI/ml)	Concentración asignada (UI/ml)	Material de origen	Plasma conservado en EDTA			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
			SD	SD	SD	SD agrupada
1,0E+09	1,10E+09	ADN de lambda	0,04	0,06	0,04	0,05
1,0E+07	1,10E+07	ADN de lambda	0,04	0,07	0,05	0,05
5,0E+05	5,49E+05	ADN de lambda	0,03	0,04	0,04	0,04
2,0E+04	2,44E+04	MC	0,04	0,05	0,06	0,05
2,0E+03	2,44E+03	MC	0,05	0,07	0,05	0,06
2,0E+02	2,44E+02	MC	0,05	0,07	0,04	0,06
2,5E+01	3,05E+01	MC	0,30	0,14	0,22	0,23

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

Tabla 10: Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (muestras de suero – volumen de procesamiento de muestras de 200 µl)*

Concentración nominal (UI/ml)	Concentración asignada (UI/ml)	Material de origen	Suero			
			Lote 1	Lote 2	Lote 3	Todos los lotes
			SD	SD	SD	SD agrupada
1,0E+09	1,19E+09	ADN de lambda	0,02	0,02	0,02	0,02
1,0E+07	1,19E+07	ADN de lambda	0,03	0,04	0,04	0,04
5,0E+05	5,93E+05	ADN de lambda	0,02	0,03	0,04	0,03
2,0E+04	1,95E+04	MC	0,03	0,02	0,03	0,03
2,0E+03	1,95E+03	MC	0,04	0,03	0,03	0,03
2,0E+02	1,95E+02	MC	0,06	0,15	0,05	0,10
2,5E+01	2,44E+01	MC	0,14	0,18	0,15	0,16

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

Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba cobas® HBV para los genotipos del VHB se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección para los genotipos B-H y la mutación precore predominante
- Verificación de la linealidad para los genotipos B-H y la mutación precore
- Asignación de título realizada mediante cobas® HBV

Verificación del límite de detección para los genotipos B-H y la mutación precore

Se diluyeron muestras clínicas de ocho genotipos distintos (B, C, D, E, F, G, H, mutación precore G1896A) de ADN del VHB con suero y plasma conservado en EDTA utilizando la concentración LoD de plasma conservado en EDTA del genotipo predominante (genotipo A del VHB) según el análisis de LoD de la tasa de positividad del 95% (5,0 UI/ml). El análisis de la tasa de positividad se realizó con 42 réplicas de cada genotipo y matriz de muestras. Los resultados verifican que la prueba cobas® HBV es capaz de detectar el VHB para los genotipos B, C, D, E, F, G, H y la mutación precore (MP) del VHB en una concentración de 5 UI/ml con un intervalo de confianza unilateral superior del 95% mayor que la tasa de positividad esperada del 95%.

Tabla 11: Verificación del LoD para los genotipos B-H y la mutación precore del VHB en 400 µl de plasma conservado en EDTA

Genotipo	Tasa de positividad	Intervalo de confianza unilateral superior del 95%
B	97,6%	99,9%
C	95,2%	99,2%
D	100,0%	100,0%
E	100,0%	100,0%
F	100,0%	100,0%
G	100,0%	100,0%
H	90,5%	96,7%
MP	100,0%	100,0%

Tabla 12: Verificación del LoD para los genotipos B-H y la mutación precore del VHB en 400 µl de suero

Genotipo	Tasa de positividad	Intervalo de confianza unilateral superior del 95%
B	100,0%	100,0%
C	100,0%	100,0%
D	100,0%	100,0%
E	100,0%	100,0%
F	100,0%	100,0%
G	100,0%	100,0%
H	97,6%	99,9%
MP	100,0%	100,0%

Verificación del intervalo lineal para los genotipos B-H y la mutación precore

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de los genotipos de la prueba cobas[®] HBV consta de un panel de nueve miembros con el que se cubre el intervalo lineal esperado. Los miembros del panel con título alto se prepararon a partir de un stock de ADN de lambda de título elevado, mientras que los miembros del panel con título más bajo se prepararon a partir de una muestra clínica (MC) de título elevado. El panel de linealidad se diseñó para que existiera una superposición de títulos mínima de $2 \log_{10}$ entre los dos materiales de origen. El intervalo lineal de la prueba cobas[®] HBV abarcaba desde el LLoQ (10,0 UI/ml para un volumen de procesamiento de muestras de 400 µl) hasta el ULoQ (1,0E+09 UI/ml) e incluía al menos dos puntos de decisión médica. Se analizaron 12 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

Se verificó el intervalo lineal de la prueba cobas[®] HBV para los ocho genotipos (B, C, D, E, F, G, H y la mutación precore). La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue igual o menor que $\pm 0,08 \log_{10}$.

Especificidad

La especificidad de la prueba cobas[®] HBV se determinó mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA negativas para el VHB obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 615 muestras individuales de plasma conservado en EDTA y 613 muestras individuales de suero (1.228 resultados totales) con tres lotes de reactivos de la prueba cobas[®] HBV. Se obtuvieron resultados negativos para ADN del VHB en 615 muestras de plasma conservado en EDTA y 613 muestras de suero. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba cobas[®] HBV fue del 100,0% para plasma y suero (límite de confianza unilateral del 95% de 99,5%).

Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba cobas[®] HBV se evaluó mediante la dilución de un panel de patógenos (Tabla 13) en plasma conservado en EDTA positivo para ADN del VHB y negativo para ADN del VHB. Los patógenos se añadieron al plasma conservado en EDTA negativo al virus y se analizaron con y sin ADN del VHB. La prueba cobas[®] HBV generó resultados negativos para todas las muestras de patógenos sin fragmento objetivo del VHB y resultados positivos para todas las muestras de patógenos con fragmento objetivo del VHB. Además, el título \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas para el VHB con organismos de posible reacción cruzada se situó en $\pm 0,12 \log_{10}$ del título \log_{10} medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 13: Patógenos analizados para reactividad cruzada

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

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (27,9-30,1 g/l), bilirrubina conjugada (0,18-0,22 g/l), bilirrubina no conjugada (0,19-0,2 g/l), albúmina (57,8-60,6 g/l), hemoglobina (1,8-2,3 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras en presencia y ausencia de ADN del VHB. El análisis de las sustancias demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® HBV. Asimismo, se confirmó que la presencia de marcadores de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), factor reumatoide (FR) y anticuerpos antinucleares (ANA) no causaba interferencias.

Además, se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 14 con una concentración tres veces superior a la C_{max} tanto en presencia como en ausencia de ADN del VHB.

Se ha demostrado que ninguna de las posibles sustancias interferentes afecta al rendimiento de la prueba. La prueba cobas® HBV generó resultados negativos para todas las muestras sin fragmento objetivo del VHB y resultados positivos para todas las muestras con fragmento objetivo del VHB. Además, el título log₁₀ medio de cada una de las muestras positivas para el VHB con sustancias potencialmente interferentes se situó en $\pm 0,07 \log_{10}$ del título log₁₀ medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 14: Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia mediante cuantificación del ADN del VHB con la prueba cobas® HBV

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

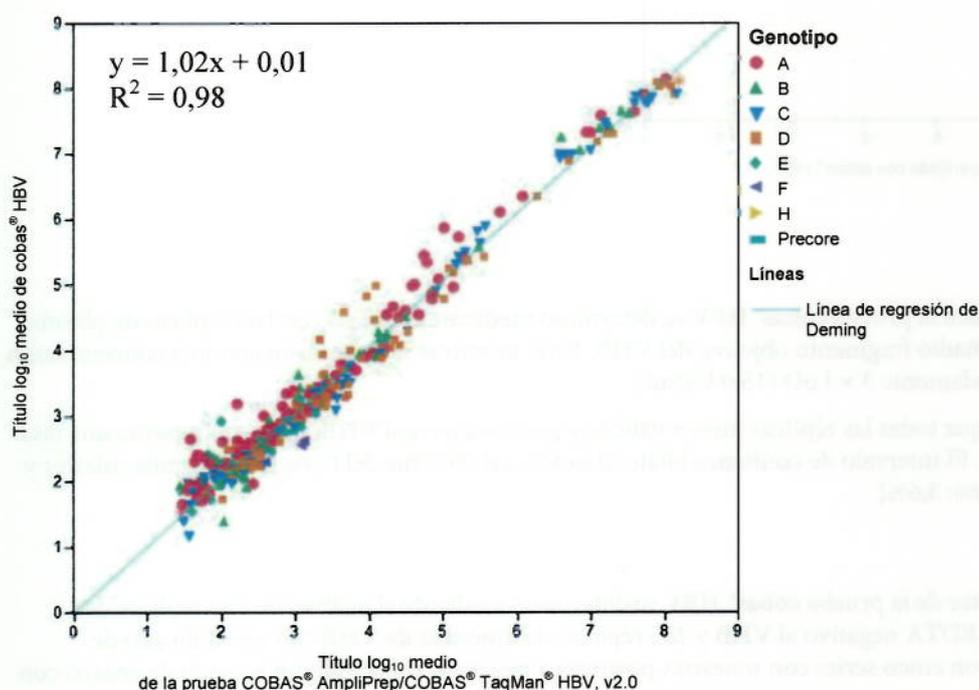
Correlación de métodos

Evaluación del rendimiento de la prueba cobas® HBV en comparación con la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Quantitative, v2.0

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® HBV y la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV Quantitative, v2.0 (TaqMan® HBV v2.0) mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA procedentes de pacientes infectados con el VHB. Un total de 215 muestras de plasma conservado en EDTA y 170 muestras de suero de todos los genotipos del VHB (excepto el genotipo G), analizadas por duplicado, resultaron válidas y se encontraban dentro del intervalo de cuantificación de ambas pruebas. Se realizó el análisis de la regresión de Deming. La desviación del título medio de las muestras analizadas con las dos pruebas fue de $0,06 \log_{10}$ (intervalo de confianza del 95%: 0,04; 0,09).

En la Ilustración 6 se muestran los resultados de la regresión de Deming. El color representa el genotipo.

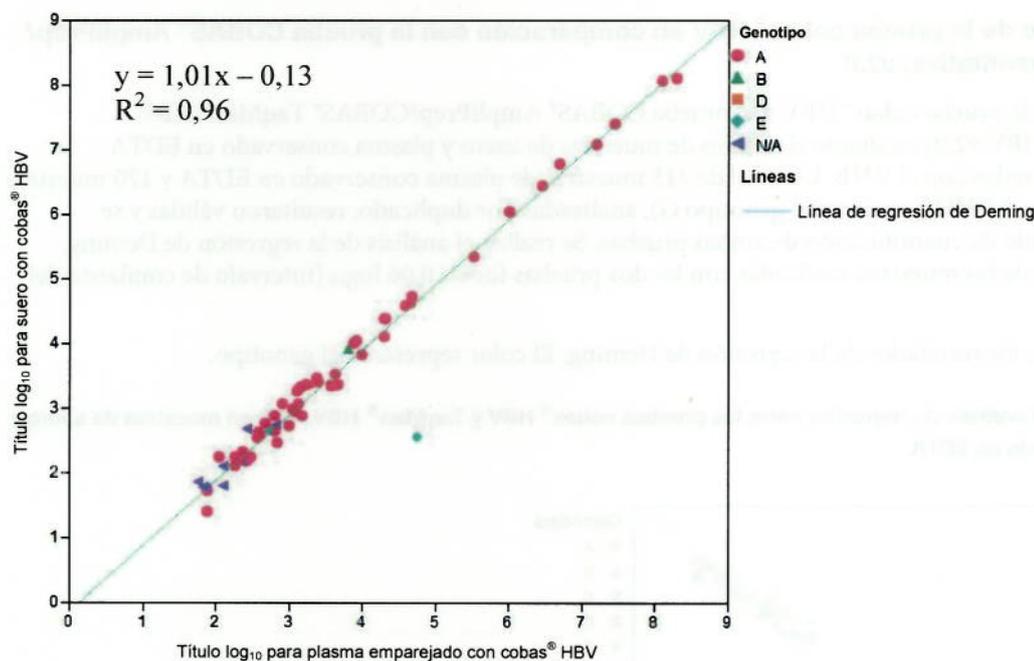
Ilustración 6: Comparación del análisis de regresión entre las pruebas cobas® HBV y TaqMan® HBV, v2.0 en muestras de suero y plasma conservado en EDTA



Equivalencia de matrices: plasma conservado en EDTA frente a suero

Se analizaron 119 muestras de plasma conservado en EDTA y suero emparejadas para determinar la equivalencia de matrices. De ellas, 59 muestras emparejadas resultaron positivas para el VHB. Las muestras positivas para el VHB cubrían los genotipos A, B, D y E en todo el intervalo lineal.

La desviación del título medio medida para las muestras de plasma conservado en EDTA y de suero emparejadas fue de $-0,10 \log_{10}$ (intervalo de confianza del 95%: $-0,18$; $-0,01$) (Ilustración 7).

Ilustración 7: Rendimiento de la equivalencia de matrices entre muestras de plasma conservado en EDTA y suero

Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba **cobas®** HBV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió fragmento objetivo del VHB. Estas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$ (15,0 UI/ml).

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

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba **cobas®** HBV se determinó mediante el análisis de 230 réplicas de muestras de plasma conservado en EDTA negativo al VHB y 235 réplicas de muestras de VHB con un título alto de $1,4\text{E}+09$ UI/ml. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

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

Información adicional

Características principales del ensayo

Tipo de muestra	Plasma conservado en EDTA, suero	
Cantidad mínima de muestra necesaria	Consulte el Manual de usuario del cobas ® 4800 System para la prueba cobas ® HBV.	
Volumen de procesamiento de muestras	400 µl o 200 µl	
Sensibilidad analítica	Plasma conservado en EDTA: 4,4 UI/ml (400 µl) 7,6 UI/ml (200 µl)	Suero: 2,8 UI/ml (400 µl) 5,5 UI/ml (200 µl)
Intervalo lineal	400 µl: 10,0 UI/ml – 1,0E+09 UI/ml 200 µl: 10,0 UI/ml – 1,0E+09 UI/ml	
Especificidad	100,0% (Intervalo de confianza unilateral del 95%: 99,5%)	
Genotipos detectados	Genotipos A-H del VHB, mutación precore 1896A	

Símbolos

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

Tabla 15: Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de diagnóstico mediante PCR de Roche

	Programa auxiliar		Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Límite inferior del intervalo asignado
	Hoja de datos del código de barras		Fabricante
	Código de lote		Almacenar en la oscuridad
	Riesgo biológico		Suficiente para $\langle n \rangle$ pruebas
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso		Archivo de definición de pruebas
	Contenido del kit		Límite superior del intervalo asignado
	Distribuido por		Fecha de caducidad
	Para evaluación del rendimiento IVD únicamente		Número mundial de artículo comercial



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

Servicio técnico para clientes de EE. UU.: 1-800-526-1247

Fabricante y distribuidores

Tabla 16: Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos
Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany



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

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

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

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

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

Roche Diagnostics
2, Avenue du Vercors
38240 Meylan, France

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

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

Marcas registradas y patentes

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

Copyright

©2015 Roche Molecular Systems, Inc.



Bibliografía

1. Custer B, Sullivan SD, Hazlet TK, Iloeje U, Veenstra DL, Kowdley KV. Global epidemiology of hepatitis B virus. *J Clin Gastroenterol.* 2004; 38:S158-S168.
2. Weinbaum CM, Williams I, Mast EE, et al. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *MMWR Recomm Rep.* 2008;57:1-20.
3. Hu KQ. Hepatitis B virus (HBV) infection in Asian and Pacific Islander Americans (APIAs): how can we do better for this special population? *Am J Gastroenterol.* 2008;103:1824-1833.
4. Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med.* 2008;359:1486-1500.
5. Liaw YF. Natural history of chronic hepatitis B infection and long-term outcomes under treatment. *Liver Int.* 2009;29Suppl 1:100-107.
6. Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol.* 2008;48:335-352.
7. Buy DY, Lai CL, Yuen MF. Natural history of hepatitis-related hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2008;14:1652-1656.
8. Kao JH. Diagnosis of hepatitis B virus infection through serologic and virologic markers. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2008;2:553-562.
9. Yuen MF, Wong DK, Fung J, et al. HBsAg Seroclearance in chronic hepatitis B in Asian patients: replicative level and risk of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2008;135:1192-1199.
10. Tong MJ, Hsien C, Song JJ, et al. Factors associated with progression to hepatocellular carcinoma and to death from liver complications in patients with HBsAg-positive cirrhosis. *Dig Dis Sci.* 2009;54:1337-1346.
11. Belonia EA, Costa J, Gareen IF, et al. National Institutes of Health. Consensus Development Conference Statement: management of hepatitis B. *Ann Intern Med.* 2009; 150:104-110.
12. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
13. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Bio/Technology.* 1992;10:413-417.
14. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Research.* 1996; 6: 986-994.
15. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, et al.; WHO Collaborative Study Group. An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang.* 2001;80:63-71.
16. Pawlotsky JM, Dusheiko G, Hatzakis A, et al. Virologic monitoring of hepatitis B virus therapy in clinical trials and practice: recommendations for a standardized approach. *Gastroenterology.* 2008;134:405-415.
17. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature.* 1995;373:487-493.
18. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell.* 1995;80:869-878.

19. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 10/2015	Primera publicación.

PROYECTO DE ROTULOS

PROYECTO DE ROTULO

Rótulos externos: Ver pdf del estuche elaborado en origen. El vencimiento del producto se coloca en la información UDI en el área señalada.



GTIN 00875197005585
Global Trade Item Number

LOT Z12345

 2035-01-31

06979564190-01

Sobre-rótulo externo colocado localmente

Directora Técnica: Vanesa Diambra - Farmacéutica

Autorizado por la A.N.M.A.T. CERT XXXX

Establecimiento importador:

Productos Roche S.A.Q. e I. (División Diagnóstica).

Av. Belgrano 2126 - Don Torcuato, Pcia. de Buenos Aires

República Argentina

Uso profesional exclusivo

Rótulos internos





República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
2018

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número:

Referencia: 1-47-3110-4002-16-5

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 46 pagina/s.



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 1-47-3110-4002/16-5

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

Nombre comercial: **cobas® HBV.**

Indicación de uso: Prueba de amplificación de ácidos nucleicos para la detección y cuantificación del virus de la hepatitis B (HBV) en suero o plasma humano conservado en EDTA.

Forma de presentación: Envases por 120 determinaciones, conteniendo 1 cassette integral de reactivos.

Período de vida útil y condición de conservación: 16 meses, conservado a 2 y 8°C.

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

Nombre y dirección del fabricante: ROCHE MOLECULAR SYSTEMS Inc. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876, (USA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA).

Se extiende el presente Certificado de Autorización e Inscripción del PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO PM-740-558.

Disposición Nº 001408

15 FEB 2018

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