



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

DISPOSICIÓN N°

7 8 6 6

BUENOS AIRES **21 JUL 2016**

VISTO, el expediente n° 1-47-3110-2663/15-4 del Registro de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica y,

CONSIDERANDO:

Que por las presentes actuaciones la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q.e I. (DIVISIÓN DIAGNÓSTICA) solicita autorización para la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) COBAS® HCV / PRUEBA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLÉICOS *IN VITRO* PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ARN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (HCV), GENOTIPOS 1 A 6, EN PLASMA CONSERVADO EN EDTA O SUERO DE PACIENTES INFECTADOS CON HCV, EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS; 2) COBAS® HBV/HCV/HIV-1 CONTROL KIT/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS.

Que a fojas 415 consta el informe de evaluación técnica de la documentación, realizada por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización, asimismo se deberá comunicar por nota al Servicio de Productos para Diagnóstico la primer importación del producto de referencia con el objetivo de efectuar la evaluación del primer lote en el país.

Handwritten signature/initials



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

DISPOSICIÓN N° 7 8 6 6

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

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

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

Por ello;

EL ADMINISTRADOR NACIONAL DE LA ADMINISTRACION NACIONAL DE
MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MÉDICA

DISPONE:

ARTICULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos de los Productos para diagnóstico de uso "in Vitro" denominados 1) COBAS® HCV / PRUEBA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLÉICOS *IN VITRO* PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ARN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (HCV), GENOTIPOS 1 A 6, EN PLASMA CONSERVADO EN EDTA O SUERO DE PACIENTES INFECTADOS CON HCV, EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS; 2) COBAS® HBV/HCV/HIV-1 CONTROL KIT/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS que será elaborado por ROCHE DIAGNOSTICS INTERNATIONAL Ltd. Forrenstrasse 2, 6343 Rotkreuz. (SUIZA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA) e importado por PRODUCTOS ROCHE S.A.Q.e I. (DIVISIÓN DIAGNÓSTICA) a expendirse en envases conteniendo 1) (N° de catálogo: 06997732190) CASSETTE INTEGRAL DE REACTIVOS PARA 96



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

DISPOSICIÓN N°

7 8 6 6

DETERMINACIONES; 2) (N° de catálogo: 06997767190) ENVASES CONTENIENDO: CONTROL POSITIVO BAJO (HBV/HCV/HIV-1 L [+]) C: 8 x 0.65 ml) Y CONTROL POSITIVO ALTO (HBV/HCV/HIV-1 H [+]) C: 8 x 0.65 ml); cuya composición se detalla a fojas 29 y 30 con un período de vida útil de 1) y 2) 7 (SIETE) meses desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 72 a 85, 87 a 208 y 336 a 343, desglosándose las fojas 82 a 85, 87 a 126 y 336 a 337 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTICULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

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

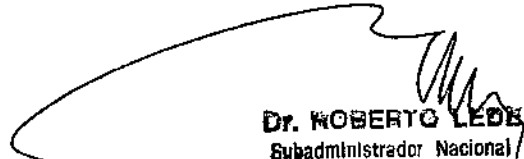
ARTICULO 5º.- Regístrese; gírese a Dirección de Gestión de Información Técnica a sus efectos, por el Departamento de Mesa de Entradas notifíquese al interesado y hágasele entrega de la copia autenticada de la presente Disposición junto con la copia de los proyectos de rótulos, manual de instrucciones y el Certificado correspondiente. Cumplido, archívese.-

Expediente n°: 1-47-3110-2663/15-4.

DISPOSICIÓN N°:

7 8 6 6

av.

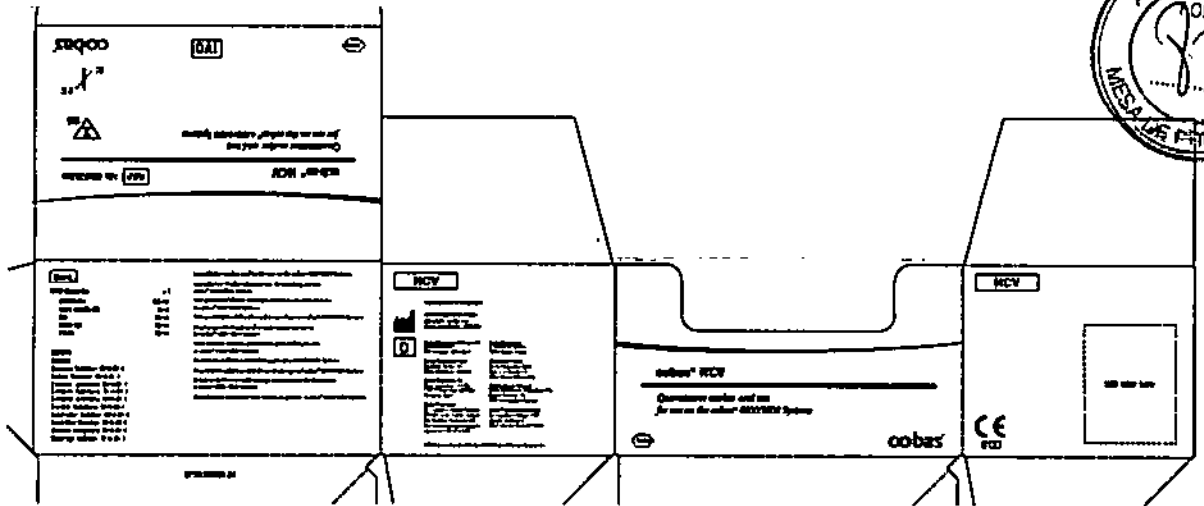

Dr. ROBERTO LEDESMA
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.

7 8 6 6
21 JUL 2016

081

PROYECTO DE RÓTULO:

cobas HCV (catálogo N° 6997732)



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°:

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

7 8 6 6

082



UDI label here

HCV

CE 0123

cobas

cobas® HCV

Quantitative nucleic acid test
for use on the cobas® 6500/8500 Systems

HCV

Indications for Use:
 - Quantitative detection of HCV RNA in serum, plasma, or whole blood.
 - Quantitative detection of HCV RNA in urine.
 - Quantitative detection of HCV RNA in saliva.
 - Quantitative detection of HCV RNA in tears.
 - Quantitative detection of HCV RNA in sweat.
 - Quantitative detection of HCV RNA in nasal secretions.
 - Quantitative detection of HCV RNA in vaginal secretions.
 - Quantitative detection of HCV RNA in rectal secretions.



cobas® HCV
Quantitative nucleic acid test
for use on the cobas® 6500/8500 Systems

REF HVC 008273190
IVD
cobas

Quantitative nucleic acid test for use on the cobas® 6500/8500 Systems

Quantitative detection of HCV RNA in serum, plasma, or whole blood.
Quantitative detection of HCV RNA in urine.
Quantitative detection of HCV RNA in saliva.
Quantitative detection of HCV RNA in tears.
Quantitative detection of HCV RNA in sweat.
Quantitative detection of HCV RNA in nasal secretions.
Quantitative detection of HCV RNA in vaginal secretions.
Quantitative detection of HCV RNA in rectal secretions.

For general use with the cobas® 6500/8500 Systems
For quantitative detection of HCV RNA in serum, plasma, or whole blood.
For quantitative detection of HCV RNA in urine.
For quantitative detection of HCV RNA in saliva.
For quantitative detection of HCV RNA in tears.
For quantitative detection of HCV RNA in sweat.
For quantitative detection of HCV RNA in nasal secretions.
For quantitative detection of HCV RNA in vaginal secretions.
For quantitative detection of HCV RNA in rectal secretions.

For use on the cobas® 6500/8500 Systems
For quantitative detection of HCV RNA in serum, plasma, or whole blood.
For quantitative detection of HCV RNA in urine.
For quantitative detection of HCV RNA in saliva.
For quantitative detection of HCV RNA in tears.
For quantitative detection of HCV RNA in sweat.
For quantitative detection of HCV RNA in nasal secretions.
For quantitative detection of HCV RNA in vaginal secretions.
For quantitative detection of HCV RNA in rectal secretions.

For use on the cobas® 6500/8500 Systems
For quantitative detection of HCV RNA in serum, plasma, or whole blood.
For quantitative detection of HCV RNA in urine.
For quantitative detection of HCV RNA in saliva.
For quantitative detection of HCV RNA in tears.
For quantitative detection of HCV RNA in sweat.
For quantitative detection of HCV RNA in nasal secretions.
For quantitative detection of HCV RNA in vaginal secretions.
For quantitative detection of HCV RNA in rectal secretions.

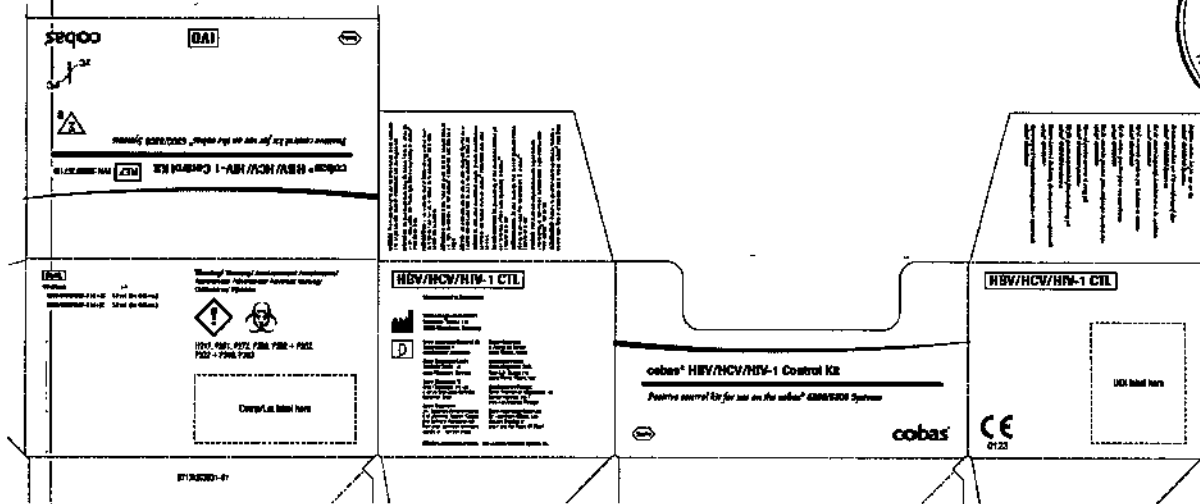
Drawing: CAM12010

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

7 8 6 6

PROYECTO DE RÓTULO:

cobas HBV / HCV / HIV-1 Control Kit (catálogo N° 6997767)



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°:

E.

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

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

3

cobas

IVD



Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit REF: 050078190 P/N: 050078190

Este kit de control positivo se utiliza para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800. El kit de control positivo contiene tres tipos de controles positivos: HBV, HCV e HIV-1. El kit de control positivo debe utilizarse en los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800 para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico. El kit de control positivo debe utilizarse en los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800 para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico. El kit de control positivo debe utilizarse en los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800 para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico.

Este kit de control positivo se utiliza para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800. El kit de control positivo contiene tres tipos de controles positivos: HBV, HCV e HIV-1. El kit de control positivo debe utilizarse en los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800 para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico. El kit de control positivo debe utilizarse en los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800 para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico. El kit de control positivo debe utilizarse en los sistemas de diagnóstico cobas® 6800/8800 para validar el funcionamiento de los sistemas de diagnóstico.

Cont.

HBV/HCV/HIV-1 CTL (10 x 1.5 mL) (10 x 1.5 mL) (10 x 1.5 mL)

Warnings/Warnings/Precauciones/Avvertenze/Advertencia/Avvertenci/Varnings/Ostravarneni/Vjstra



MS17, P261, P272, P280, P302 + P352, P333 + P331, P363

Comp/Lot label here

HBV/HCV/HIV-1 CTL

Manufacture or Reconstitution

Each Dispensing Unit Contains Single Use 1000 Microcentrifuge Tubes

Each Dispensing Unit Contains Single Use 1000 Microcentrifuge Tubes

Each Dispensing Unit Contains Single Use 1000 Microcentrifuge Tubes

Each Dispensing Unit Contains Single Use 1000 Microcentrifuge Tubes

Each Dispensing Unit Contains Single Use 1000 Microcentrifuge Tubes

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems

cobas

CE 0123

HBV/HCV/HIV-1 CTL

UDI label here

0717A282001-01

7866

Drawing: CAM12010

Dr. ALDO A. CHARELLI
FRENTECITOS ROCHES S.A.Q. e.L.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TECNICO




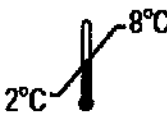
084

7 8 6 6




Cobas HCV (catálogo N° 6997732) – rotulo interno

cobas[®] HCV 06997732190

  07173920001-01

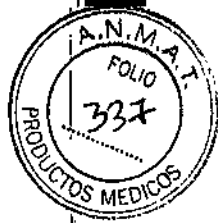
IVD **LOT**

Manufactured in Switzerland
Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim, Germany 

16 mm x 12.7 mm
unvarnished
area

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

7 8 6 6



Cobas HBV / HCV / HIV-1 Control Kit (catálogo N° 6997767) – rotulo interno

HBV/HCV/HIV-1 CTL 06997767190

Σ_2 2°C 8°C

IVD

07173881001-01

LOT

Manufactured in Switzerland
Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim, Germany

16 mm x 12.7 mm
unvarnished
area

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

7 8 6 6

086

cobas



cobas[®] HCV

**Prueba cuantitativa de ácidos nucleicos
para uso en los cobas[®] 6800/8800 Systems**

Para diagnóstico in vitro

cobas[®] HCV

P/N: 06997732190

cobas[®] HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

P/N: 06997767190

cobas[®] NHP Negative Control Kit

P/N: 07002220190

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

7 8 6 6

cobas® HCV



Tabla de contenido

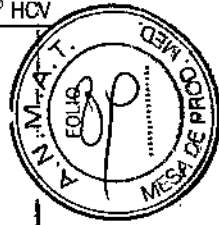
Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba	4
Reactivos y materiales	7
Reactivos y controles de cobas® HCV.....	7
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras.....	10
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	11
Material adicional necesario	12
Instrumentos y software necesarios.....	12
Precauciones y requisitos de manipulación	13
Advertencias y precauciones.....	13
Manipulación de reactivos	14
Buenas prácticas de laboratorio.....	14
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	14
Muestras	15
Instrucciones de uso	16
Notas sobre el procedimiento.....	16
Ejecución de la prueba cobas® HCV	16
Resultados	17
Control de calidad y validez de los resultados.....	17
Interpretación de los resultados	18
Limitaciones del procedimiento.....	19
Evaluación no clínica del rendimiento	20
Características clave de rendimiento	20
Límite de detección (LoD).....	20
Intervalo lineal	22
Precisión intralaboratorio.....	25

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

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

cobas® HCV



Verificación del genotipo.....	27
Especificidad.....	30
Especificidad analítica.....	30
Especificidad analítica: sustancias interferentes	31
Correlación de métodos.....	33
Equivalencia de matrices: plasma conservado en EDTA frente a suero.....	34
Fallo de todo el sistema.....	34
Contaminación por arrastre.....	34
Información adicional	35
Características principales de la prueba	35
Fabricante y distribuidores	37
Marcas registradas y patentes	37
Copyright.....	37
Bibliografía	38
Revisión del documento	40

E

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

Uso previsto

cobas® HCV es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del ARN de la hepatitis C (VHC), genotipos 1 a 6, en plasma conservado en EDTA o suero de pacientes infectados con el VHC.

La prueba está diseñada para su uso en el tratamiento de pacientes con VHC crónica en combinación con marcadores de infección clínicos y de laboratorio. La prueba puede utilizarse para predecir la probabilidad de una respuesta virológica sostenida (RVS) de forma temprana durante el curso de un tratamiento antiviral y para evaluar la respuesta viral a un tratamiento antiviral (terapia guiada para la respuesta) a través de la determinación de cambios en los niveles de ARN de VHC en suero o plasma conservado en EDTA. Los resultados deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio relevantes.

Resumen y explicación de la prueba

Información de referencia

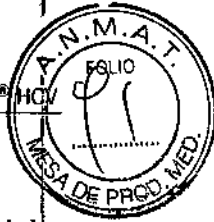
El virus de la hepatitis C (VHC) está considerado como el principal agente etiológico responsable del 90% al 95% de los casos de hepatitis postransfusional.¹⁻⁴ El VHC es un virus ARN monocatenario de sentido positivo con un genoma de aproximadamente 9.500 nucleótidos que codifican 3.000 aminoácidos. Como virus transportado en sangre, el VHC es transmisible a través de la sangre y los productos hemoderivados. La adopción más o menos generalizada de medidas de detección sistemática del HCV en sangre ha reducido de forma considerable el riesgo de hepatitis asociado a las transfusiones. La incidencia más alta de infección por VHC se asocia al abuso de drogas por vía intravenosa y en menor medida a otras exposiciones percutáneas.⁴

La determinación cuantitativa de ARN del VHC para la medición de cargas víricas de referencia y la monitorización del tratamiento está bien establecida para demostrar la eficacia de la respuesta antiviral al tratamiento combinado de interferón pegilado y ribavirina (pegIFN/RBV).⁵⁻⁹ Las directrices para la gestión y el tratamiento del VHC^{10,11} recomiendan realizar pruebas de determinación cuantitativa del ARN del VHC antes del inicio del tratamiento antiviral, a intervalos de tiempo específicos durante el tratamiento (terapia guiada para la respuesta, TGR) y al cabo de 12 semanas o más tras la finalización del tratamiento.

El objetivo del tratamiento es la ausencia de ARN del VHC detectable mediante una prueba sensible realizada 12 semanas después de finalizar el tratamiento, lo que indica que se ha logrado una respuesta virológica sostenida (RVS).¹⁰

La determinación de la cinética viral durante el tratamiento se ha utilizado para personalizar aún más la duración del mismo gracias a los antivirales de acción directa (AAD) aprobados más recientemente, los inhibidores de la proteasa telaprevir y boceprevir.¹²⁻¹⁵





Motivos para el uso de la prueba del VHC

Ante la dinámica y extensa senda de fármacos descubiertos para futuros tratamiento del VHC, la monitorización de la carga viral continúa siendo la principal prueba de laboratorio para confirmar que se ha conseguido la RVS con AAD tales como los inhibidores de la proteasa de segunda generación, los inhibidores nucleósidos de la polimerasa del VHC y otros mecanismos de acción antiviral.¹⁶⁻¹⁹

En resumen, cobas® HCV para uso con cobas® 6800/8800 Systems es una prueba cuantitativa para la determinación de ARN del VHC y cinética viral para uso en laboratorios que realizan ensayos clínicos y en la práctica clínica habitual para el tratamiento de pacientes con VHC.

Explicación de la prueba

La prueba cobas® HCV es una prueba cuantitativa realizada en el cobas® 6800 System y en el cobas® 8800 System. La prueba cobas® HCV permite la detección y cuantificación de ARN del VHC en suero o plasma conservado en EDTA de pacientes infectados. Se emplean sondas dobles que detectan y cuantifican, pero no discriminan, los genotipos 1-6. La cuantificación de la carga viral se realiza mediante un estándar de cuantificación de Armored RNA diferente del VHC (RNA-QS) que se añade a cada una de las muestras durante la preparación. El RNA-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® HCV 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. Los cobas® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión de datos automática se realiza mediante el software cobas® 6800/8800, que asigna los resultados de la prueba a todas las pruebas como fragmento objetivo no detectado, < LLoQ (límite de cuantificación inferior), > ULoQ (límite de cuantificación superior) o ARN de VHC detectado, un valor del intervalo lineal $LLoQ < x < ULoQ$. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema, exportarse o imprimirse como informe.

La extracción de ácidos nucleicos de las muestras de paciente, controles externos y moléculas de Armored RNA-QS añadido 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 restos celulares y potenciales inhibidores de la PCR, se eliminan en los siguientes pasos con el reactivo de lavado y los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer 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 VHC. La amplificación selectiva de RNA-QS se realiza mediante cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos de la secuencia que se seleccionan de modo que no presenten homología alguna con el genoma del VHC. Para los procesos de transcripción inversa y amplificación mediante PCR se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. La amplificación de las secuencias objetivo y de RNA-QS se realiza simultáneamente mediante un perfil universal de amplificación mediante PCR con unos pasos de



temperatura y número de ciclos predefinidos. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).²⁰⁻²² La enzima AmpErase, que se incluye en la mezcla para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se eliminan los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo Master Mix de **cobas**® HCV contiene sondas dobles de detección específicas para las secuencias objetivo del VHC y una para el RNA-QS. Las sondas están marcadas con marcadores emisores fluorescentes que permiten la detección simultánea del fragmento objetivo del VHC y el RNA-QS en dos canales objetivo distintos.^{23,24} Cuando no se une a la secuencia objetivo, la señal fluorescente de la sonda intacta se elimina mediante un marcador silenciador. Durante el paso de amplificación mediante PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la sonda por la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisor y silenciador y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante cuantificación de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores para los fragmentos objetivo víricos y el RNA-QS.

E

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS COBAS S.A. Q. S. DE C. S. R. L.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TECNICO



Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® HCV

Todos los reactivos y controles sin abrir deben almacenarse como se recomienda en la Tabla 1 a Tabla 4.

Tabla 1 cobas® HCV

cobas® HCV Almacenar a 2-8 °C Casete para 96 pruebas (P/N 06997732190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit 96 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Puede provocar una reacción alérgica. Contiene: Subtilisina, 9014-01-1	13 ml
Estándar de cuantificación del ARN (RNA-QS)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de Armored RNA diferente del VHC que contiene regiones de secuenciación específicas del cebador y la sonda (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,1% de azida sódica	13 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	13 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	5,5 ml
Reactivo 2 de Master Mix para VHC (HCV MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, 0,05% de dATP, dCTP, 0,06% de dGTP, 0,14% de dUTP, < 0,01% de cebadores que van en un sentido y en sentido contrario para VHC, < 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 VHC y el estándar de cuantificación del VHC, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D, < 0,1% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	6 ml

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

Dr. ALDO A. CHAVEZ
PRODUCTOS ROCHER S.A.S. S.L.
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

7 8 6 6

093

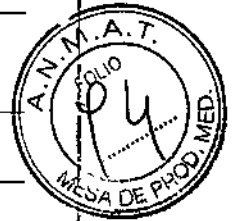
cobas® HCV





Tabla 2 cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

Almacenar a 2-8 °C

(P/N: 06997767190)



Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
Control positivo bajo para VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 L(+))C)	<p>< 0,001% de ARN de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2 armada, < 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 VHC y el VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR.</p> <p>0,1% de conservante ProClin® 300</p>	5,2 ml (8 x 0,65 ml)	  <p>Advertencia</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL, lavar con agua y jabón abundantes.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.</p> <p>P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.</p>
Control positivo alto para VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	<p>< 0,001% de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo M de título alto 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 VHC y el VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR.</p> <p>0,1% de conservante ProClin® 300</p>	5,2 ml (8 x 0,65 ml)	  <p>Advertencia</p> <p>H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>P261: Evitar respirar el polvo/el humo/ el gas/la niebla/los vapores/el aerosol.</p> <p>P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo.</p> <p>P280: Utilice guantes protectores.</p> <p>P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL, lavar con agua y jabón abundantes.</p> <p>P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.</p> <p>P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.</p>

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

8

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROHM & CO S.p.A.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TECNICO

7 8 6 6

094



cobas® HCV

Tabla 3 cobas® NHP Negative Control Kit

cobas® NHP Negative Control Kit

Almacenar a 2-8 °C

(P/N 07002220190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
Control negativo para plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VHC, anticuerpos frente al VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO y ADN de CMV no detectables mediante métodos de PCR. < 0,1% de conservante ProClin® 300	16 ml (16 x 1 ml)	  Advertencia 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. P302 + P352: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL, lavar con agua y jabón abundantes. P333 + P313: En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. P363: Lavar las prendas contaminadas antes de volver a usarlas.



07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

9

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



Reactivos cobas omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos cobas omni para la preparación de muestras*

Reactivos	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
cobas omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, buffer Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Buffer Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	4 x 875 ml	No aplicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	42,56% (p/p) de tiocianato de guanidina, 5% (p/v) de polidocanol, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	4 x 875 ml	<p>Peligro</p> <p>H302: Nocivo por ingestión.</p> <p>H318: Provoca lesiones oculares graves.</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>P301 + P312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.</p> <p>P264: Lavarse la piel concienzudamente tras la manipulación.</p> <p>P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización.</p> <p>P273: Evítese su liberación al medio ambiente.</p> <p>P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>P305 + P351 + P338: 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.</p> <p>P310: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico.</p> <p>P330: Enjuagarse la boca.</p>
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1% de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

* Estos reactivos no están incluidos en el kit de la prueba cobas® HCV. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 7).

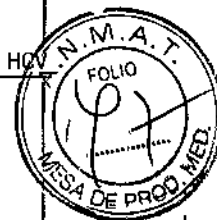
07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

10
Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. e. I.
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

7866

cobas® HCV



Requisitos de almacenamiento y manipulación

Los reactivos deben almacenarse y manipularse según las indicaciones de la Tabla 5 y la Tabla 6.

Cuando los reactivos no están cargados en los cobas® 6800/8800 Systems, almacénelos a la temperatura correspondiente especificada en la Tabla 5.

Tabla 5 Almacenamiento de reactivos (cuando el reactivo no está cargado en el sistema)

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® HCV	2-8°C
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	2-8°C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8°C
cobas omni Lysis Reagent	2-8°C
cobas omni MGP Reagent	2-8°C
cobas omni Specimen Diluent	2-8°C
cobas omni Wash Reagent	15-30°C

Los reactivos cargados en los cobas® 6800/8800 Systems se almacenan a la temperatura correspondiente adecuada y el sistema controla su fecha de caducidad. Los cobas® 6800/8800 Systems solamente permiten utilizar los reactivos cuando se cumplen todas las condiciones indicadas en la Tabla 6. El sistema evita automáticamente el uso de reactivos caducados. La Tabla 6 ayuda al usuario a entender las condiciones de manipulación de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems.

Tabla 6 Condiciones de caducidad de los reactivos de los cobas® 6800/8800 Systems

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Serie en las que se puede utilizar el kit	Período de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® HCV	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 10 series	Máx. 8 horas
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 8 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable

* El tiempo se calcula desde la primera vez que se carga el reactivo en los cobas® 6800/8800 Systems.

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

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

7866

097



Material adicional necesario

Tabla 7 Material y material fungible para uso con los **cobas® 6800/8800 Systems**

Material	P/N
cobas omni Processing Plate	05534917001
cobas omni Amplification Plate	05534941001
cobas omni Pipette Tips	05534925001
cobas omni Liquid Waste Container	07094388001
cobas omni Lysis Reagent	06997538190
cobas omni MGP Reagent	06997546190
cobas omni Specimen Diluent	06997511190
cobas omni Wash Reagent	06997503190
Bolsa para residuos sólidos	07435967001
Recipiente de residuos sólidos	07094361001

Instrumentos y software necesarios

Es necesario instalar el software **cobas® 6800/8800** y el paquete de análisis **cobas® HCV** en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

Tabla 8 Instrumentos

Equipo	P/N
cobas® 6800 System (opción móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas® 6800 System (fijo)	05524245001 y 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001

Consulte el Manual de usuario de los **cobas® 6800/8800 Systems** para obtener información adicional sobre los tubos primarios y secundarios compatibles con cada instrumento.

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

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

12

Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. de L.
 DIV. UNIÓN DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO



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 de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- No se ha evaluado el uso de la prueba cobas® HCV para el cribado de la presencia de VHC 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.^{25,26} Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® HCV y los cobas® 6800/8800 Systems.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- El cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit y el cobas® NHP Negative Control Kit contienen plasma procedente de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante las pruebas para anticuerpos autorizadas y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc. En el análisis del plasma humano normal con métodos de PCR no se ha detectado ARN de VIH-1 (grupos M y O), ARN de VIH-2, ARN de VHC, ADN de VHB, ARN de VHE, ARN de VNO o ADN de CMV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- **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.
- No utilice 200 µl de volumen de introducción de muestra si se espera que la carga viral sea < 100 UI/ml.



Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas omni** Lysis Reagent 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.
- Los kits de la prueba **cobas**[®] HCV, el **cobas omni** MGP Reagent y el **cobas omni** Specimen Diluent 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 omni** Lysis Reagent, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y de los kits **cobas**[®] HCV y los reactivos **cobas omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- 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%.
- Si se produce algún derrame sobre el **cobas**[®] 6800/8800 instrument, siga las instrucciones descritas en el Manual de usuario de los **cobas**[®] 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Nota: manipule todas las muestras y los controles 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 luego centrifúguelas para depositar todo el volumen de la muestra en la parte inferior del tubo.

7866

cobas®

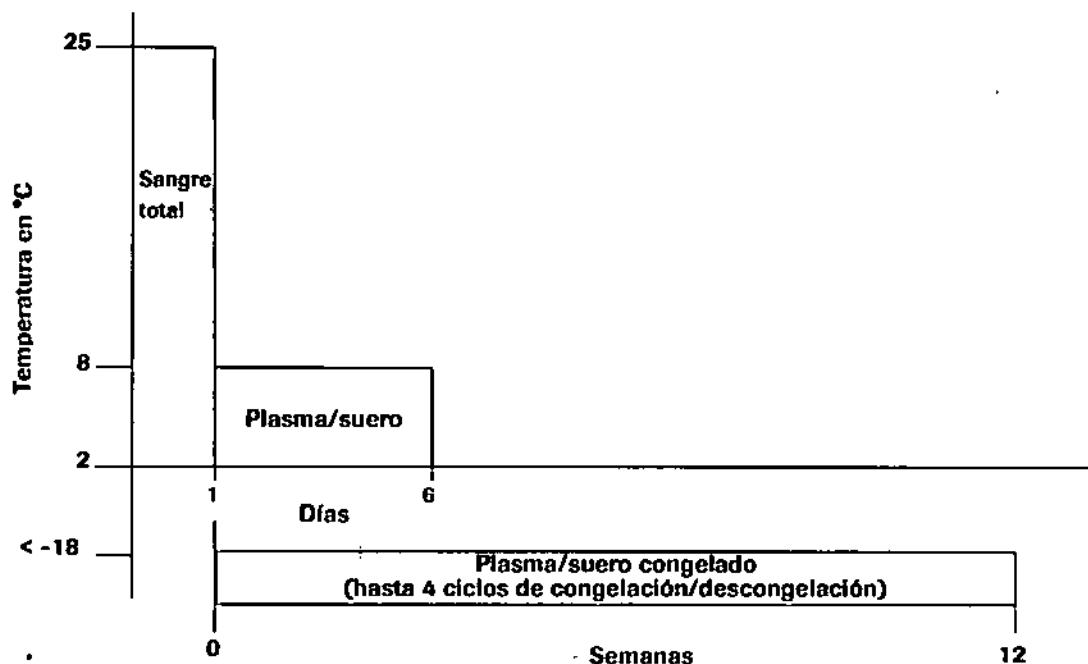


Muestras

La sangre debería recogerse en tubos de preparación 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. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos de recogida de muestras. Consulte la Ilustración 1.

- La sangre total recogida en tubos de preparación 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. La centrifugación debe realizarse conforme a las instrucciones del fabricante.
- Después de la separación, las muestras de plasma conservadas en EDTA pueden almacenarse durante un máximo de 6 días a una temperatura comprendida entre 2 °C y 8 °C o un máximo de 12 semanas a ≤ -18 °C. Para un almacenamiento a más largo plazo se recomiendan temperaturas ≤ -60 °C.
- Las muestras de plasma/suero se mantienen estables hasta un máximo de cuatro ciclos de congelación/descongelación si se congelan a ≤ -18 °C.
- Si es posible, procure una cantidad de sangre total suficiente para permitir el uso del volumen de procesamiento preferido para suero o plasma conservado en EDTA de 500 μ l (para un requisito de volumen de muestra mínimo total de 650 μ l).

Ilustración 1 Condiciones del almacenamiento de muestras



- 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.

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

15

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROYAL S.A. Q. de L.
DIVISIÓN DIAGNÓSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



Instrucciones de uso

Notas sobre el procedimiento

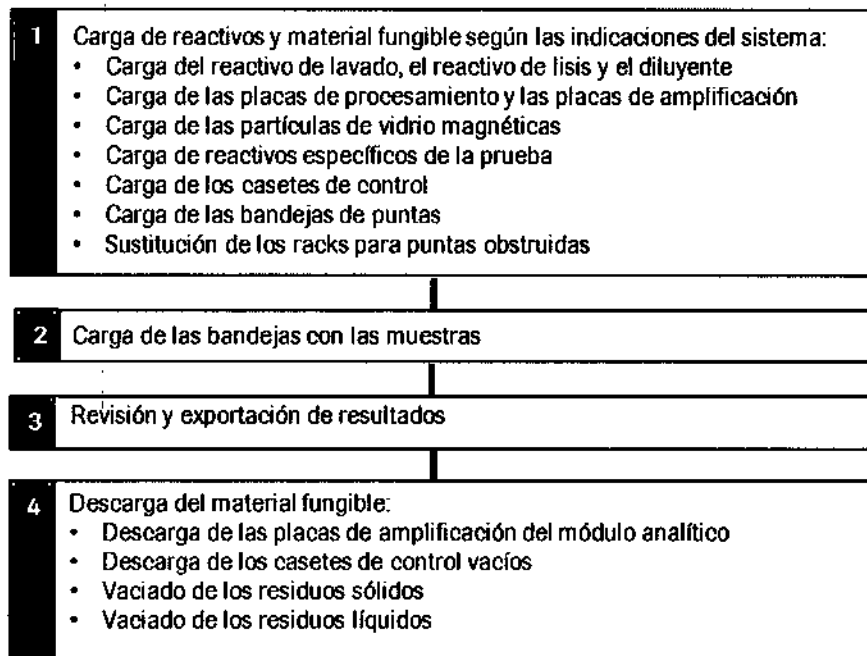
- No utilice los reactivos de la prueba cobas® HCV, el cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, el cobas® NHP Negative Control Kit o los reactivos cobas® **omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Es de un solo uso.
- Consulte el Manual de usuario de los cobas® 6800/8800 Systems para obtener información sobre el correcto mantenimiento de los instrumentos.

Ejecución de la prueba cobas® HCV

La prueba cobas® HCV puede ejecutarse con dos volúmenes de muestra obligatorios: 350 µl (para el flujo de trabajo de muestras de 200 µl) y 650 µl (para el flujo de trabajo de muestras de 500 µl). El procedimiento de la prueba se describe con detalle en el Manual de usuario de los cobas® 6800/8800 Systems. En la Ilustración 2 se resume el procedimiento.

- **Nota: no utilice el flujo de trabajo de muestras de 200 µl si se espera que la carga viral sea ≤ 100 UI/ml. Debe procurarse un volumen de sangre suficiente para permitir el uso del volumen de procesamiento preferido para suero o plasma conservado en EDTA de 500 µl (para un requisito de volumen de muestra mínimo total de 650 µl).**

Ilustración 2 Procedimiento de la prueba cobas® HCV





Resultados

Los **cobas**® 6800/8800 Systems determinan automáticamente la concentración de ARN del VHC en muestras y controles. La concentración de ARN del VHC 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 (HCV L(+))C y un control positivo alto (HCV H(+))C.
- Compruebe la validez de la serie en el software **cobas**® 6800/8800 y/o en el informe.
- La serie se considera válida siempre y cuando no haya avisos para ninguno de los tres controles, es decir, el control negativo y los dos controles positivos: HCV L(+))C, HCV H(+))C. El resultado del control negativo se muestra como (-) C, mientras que los controles positivos bajo y alto se presentan como HxV L(+))C y HxV H(+))C.

El software **cobas**® 6800/8800 invalida automáticamente los resultados cuando los controles positivos y negativos fallan.

Avisos de controles

Tabla 9 Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	Aviso	Resultado	Interpretación
(-) C	Q02 (Serie de control errónea)	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado del control negativo no es negativo.
Control positivo	Aviso	Resultado	Interpretación
HxV L(+))C	Q02 (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.
HxV H(+))C	Q02 (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.

En el software **cobas**® 6800/8800, HxV L(+))C hace referencia al control positivo bajo **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 y HxV H(+))C, al control positivo alto **cobas**® HBV/HCV/HIV-1.



Interpretación de los resultados

En las series válidas, compruebe cada muestra para detectar avisos en el software **cobas**® 6800/8800 y/o en el informe. La interpretación de resultados se debe realizar del siguiente modo:

- Una serie válida puede incluir resultados de muestras tanto válidos como inválidos.

Tabla 10 Resultados de fragmento objetivo para la interpretación de los resultados de fragmento objetivo individuales

Resultados	Interpretación
Target Not Detected	No se ha detectado ARN del VHC. Los resultados se indican como "VHC no detectado".
< Titer Min	El título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLoQ) del ensayo. Los resultados se indican como "VHC detectado, inferior a (título mínimo)". Título mínimo = 15 UI/ml (500 µl) Título mínimo = 40 UI/ml (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 VHC detectado".
> Titer Max ^a	El título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (ULoQ) del ensayo. Los resultados se indican como "VHC detectado, superior a (título máximo)." Título máximo = 1,00E+08 UI/ml (500 µl y 200 µl)

a Un resultado de muestra "> Titer Max" hace referencia a las muestras positivas para VHC 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 VHC (según el tipo de la muestra original) y repita la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

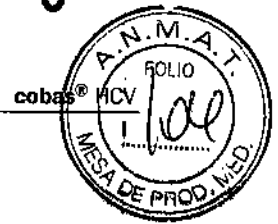
Σ



Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® HCV se ha evaluado para ser utilizada únicamente con el **cobas**® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, el **cobas**® NHP Negative Control Kit, el **cobas** **omni** MGP Reagent, el **cobas** **omni** Lysis Reagent, el **cobas** **omni** Specimen Diluent y el **cobas** **omni** Wash Reagent en los **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- 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.
- La cuantificación de ARN del VHC 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.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico cubiertas por la prueba **cobas**® HCV pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar una cuantificación a la baja del virus o incluso impedir su detección.
- 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.
- La prueba **cobas**® HCV no se ha concebido para el cribado de la presencia de VHC en sangre o productos sanguíneos ni como una prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección de VHC.

E.



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**[®] HCV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie del estándar internacional de la OMS para ARN del virus de la hepatitis C en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (cuarto estándar internacional de la OMS) para el genotipo 1a obtenido de NIBSC, en suero y plasma conservado en EDTA humano negativo al VHC con volúmenes de procesamiento de muestras de 500 μ l y 200 μ l. El requisito de volumen de muestra mínimo era del 650 μ l y de 350 μ l respectivamente para el procesamiento en los **cobas**[®] 6800/8800 Systems. Se analizaron paneles con seis niveles de concentración más uno negativo para el volumen de procesamiento de muestras de 500 μ l y con siete niveles de concentración para el volumen de procesamiento de muestras de 200 μ l con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas**[®] HCV, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

Los resultados del suero y del plasma conservado en EDTA correspondientes a los dos volúmenes de procesamiento se detallan desde la Tabla 11 hasta la Tabla 14, respectivamente. El estudio demuestra que la prueba **cobas**[®] HCV es capaz de detectar ARN del VHC en una concentración de 8,46 UI/ml con un intervalo de confianza del 95% de 7,50-9,79 UI/ml para el volumen de procesamiento de muestras de 500 μ l en el caso de plasma conservado en EDTA y en una concentración de 9,61 UI/ml con un intervalo de confianza del 95% de 8,70-10,95 UI/ml para el volumen de procesamiento de muestras de 500 μ l en el caso de suero. Asimismo, este estudio también demuestra que la prueba **cobas**[®] HCV es capaz de detectar ARN del VHC en una concentración de 24,93 UI/ml con un intervalo de confianza del 95% de 22,51-28,35 UI/ml para el volumen de procesamiento de muestras de 200 μ l en el caso de plasma conservado en EDTA y en una concentración de 33,25 UI/ml con un intervalo de confianza del 95% de 29,94-37,94 UI/ml para el volumen de procesamiento de muestras de 200 μ l en el caso de suero. La diferencia entre plasma conservado en EDTA y suero con los volúmenes de procesamiento de muestras de 500 μ l y 200 μ l no fue estadísticamente significativa.

Tabla 11 Límite de detección en plasma conservado en EDTA (500 μ l)

Concentración del título de entrada (ARN del VHC en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
30	189	189	100,00
20	188	186	98,94
15	189	187	98,94
10	189	183	96,83
8	188	182	96,81
5	188	155	82,45
0	189	1*	0,53
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	8,46 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 7,50-9,79 UI/ml		

*Muestras confirmadas como negativas por métodos analíticos alternativos.

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

20

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

7 8 6 6

106

cobas® HCV



Tabla 12 Límite de detección en suero (500 µl)

Concentración del título de entrada (ARN del VHC en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
30	188	187	99,47
20	189	189	100,00
15	189	187	98,94
10	189	184	97,35
8	189	171	90,48
5	189	141	74,60
0	189	0	0,00
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	9,61 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 8,70-10,95 UI/ml		

Tabla 13 Límite de detección en plasma conservado en EDTA (200 µl)

Concentración del título de entrada (ARN del VHC en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
80	189	189	100,00
60	189	189	100,00
50	188	187	99,47
40	189	185	97,88
25	189	179	94,71
20	189	177	93,65
12	188	136	72,34
0	189	1*	0,53
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	24,93 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 22,51-28,35 UI/ml		

*Muestras confirmadas como negativas por métodos analíticos alternativos.

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

21

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



Tabla 14 Límite de detección en suero (200 µl)

Concentración del título de entrada (ARN del VHC en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
80	189	189	100,00
60	189	188	99,47
50	189	186	98,41
40	189	184	97,35
25	189	167	88,36
20	189	156	82,54
12	189	125	66,14
0	189	0	0,00
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	33,25 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 29,94-37,94 UI/ml		

Intervalo lineal

El estudio de linealidad de la prueba cobas® HCV se llevó a cabo con una serie de diluciones formadas por un panel de 16 muestras con el que se cubría el intervalo lineal esperado para el genotipo predominante (GT 1). Los miembros del panel con título alto se prepararon a partir de un stock de Armored RNA (arRNA) de título elevado mientras que los miembros del panel con título más bajo se prepararon a partir de una muestra clínica (MC). El panel de linealidad se diseñó para que existiera una superposición de títulos de aproximadamente $2 \log_{10}$ entre los dos materiales de origen.

El intervalo lineal esperado de la prueba cobas® HCV se extiende desde el LLoQ (15 UI/ml para el volumen de procesamiento de 500 µl y 40 UI/ml para el volumen de procesamiento de 200 µl) hasta el ULoQ ($1,00E+08$ UI/ml en ambos volúmenes de procesamiento). El diseño del panel de linealidad permitía abarcar desde una concentración inferior al LLoQ (p. ej., 7,5 UI/ml) hasta una concentración superior al ULoQ (p. ej., $2,0E+08$ UI/ml), así como incluir puntos de decisiones médicas. Asimismo, el panel de linealidad estaba diseñado para admitir parcialmente pasos de $1,0 \log_{10}$ a lo largo del intervalo lineal. Para cada miembro del panel, se indicó la concentración nominal en UI/ml y el origen del ARN de VHC.

Para el volumen de procesamiento de 500 µl, la prueba cobas® HCV es lineal para suero y plasma conservado en EDTA desde 15 UI/ml hasta $1,00E+08$ UI/ml y presenta una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a $\pm 0,24 \log_{10}$. A lo largo del intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida en $\pm 0,24 \log_{10}$.

Para el volumen de procesamiento de 200 µl, la prueba cobas® HCV es lineal para suero y plasma conservado en EDTA desde 40 UI/ml hasta $1,00E+08$ UI/ml y presenta una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a $\pm 0,24 \log_{10}$ a lo largo del intervalo lineal; la exactitud de la prueba estuvo comprendida en $\pm 0,24 \log_{10}$ en plasma y $\pm 0,27 \log_{10}$ en suero.

Consulte las ilustraciones de la Ilustración 3 a la Ilustración 6 para conocer los resultados representativos.



Ilustración 3 Linealidad en plasma conservado en EDTA (500 µl)

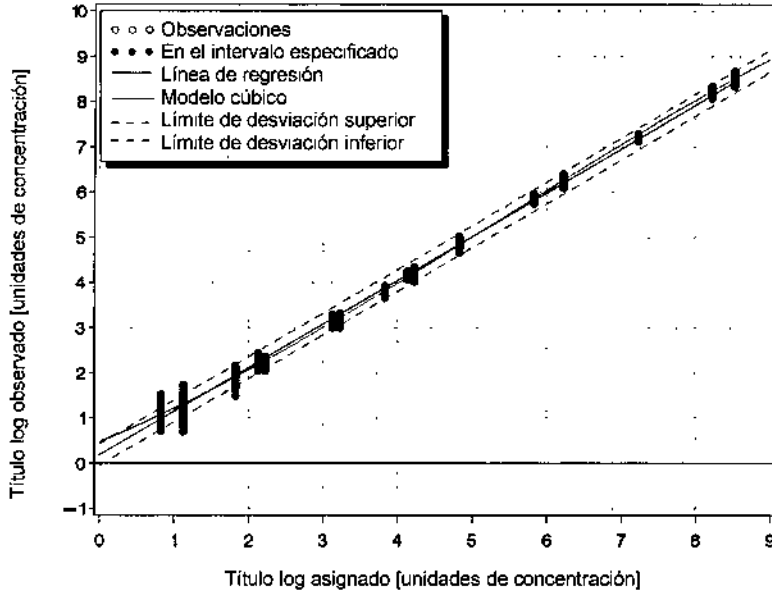
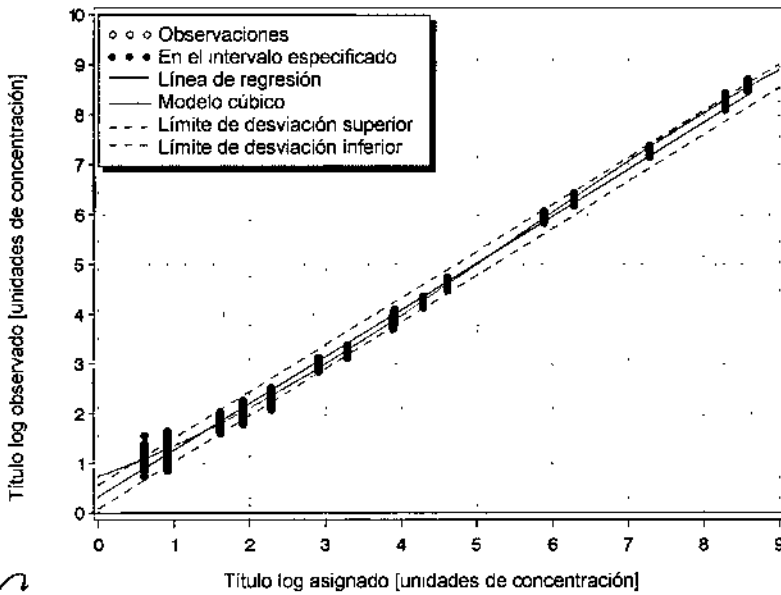


Ilustración 4 Linealidad en suero (500 µl)



C

Ilustración 5 Linealidad en plasma conservado en EDTA (200 µl)

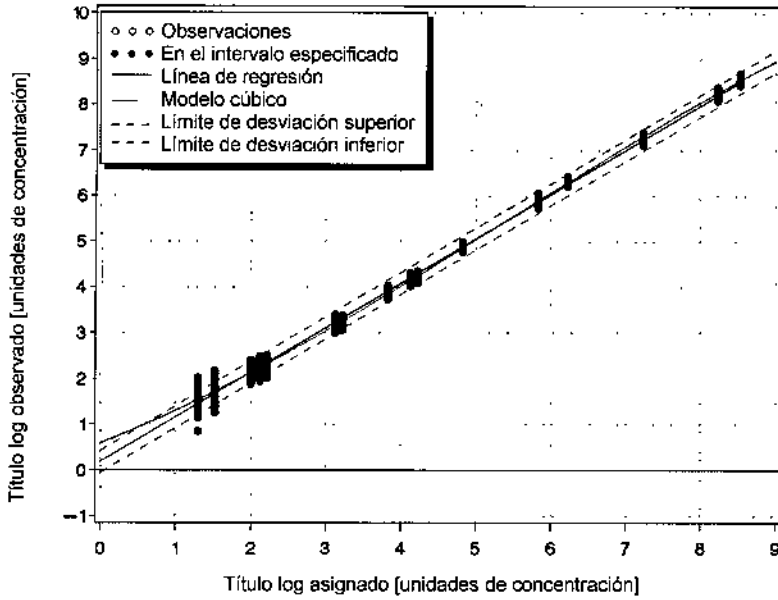
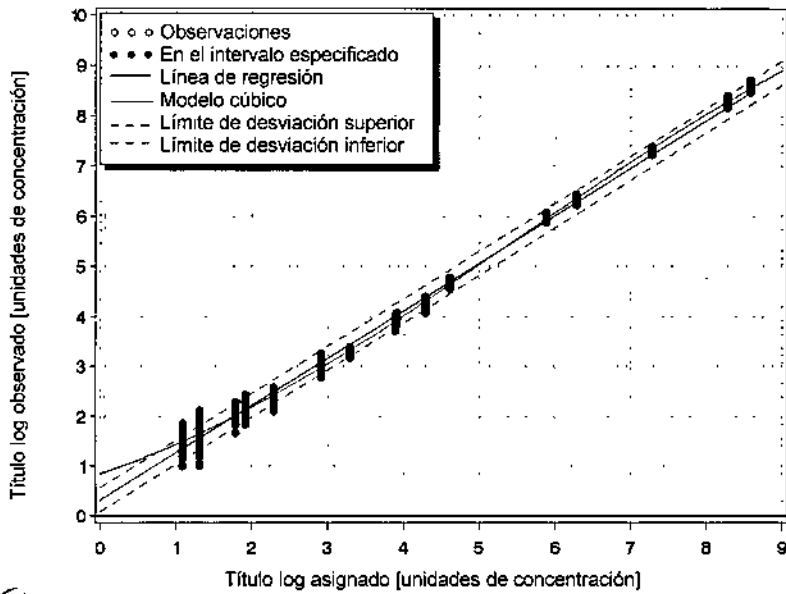


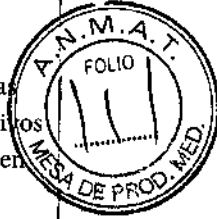
Ilustración 6 Linealidad en suero (200 µl)



E

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]



Precisión intralaboratorio

La precisión de la prueba cobas® HCV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de muestras clínicas (MC) de VHC (genotipo 1) o de Armored RNA (arRNA) de VHC en suero o plasma conservado en EDTA negativos para el VHC. Se analizaron 13 niveles de dilución en plasma y 12 niveles en suero en dos réplicas para cada nivel en dos series analíticas durante 12 días, con un total de 48 réplicas por concentración. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba cobas® HCV en los cobas® 6800/8800 Systems totalmente automatizados. Por lo tanto, la precisión a la que se hace referencia en este documento engloba todas las fases del procedimiento de la prueba. El estudio se realizó con tres lotes de reactivos de la prueba cobas® HCV. Los resultados se muestran de la Tabla 15 a la Tabla 18.

La prueba cobas® HCV presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivos analizados en un intervalo de concentración de 1,00E+01 UI/ml a 1,0E+07 UI/ml con el volumen de procesamiento de muestras de 500 µl y de 2,50E+01 UI/ml a 1,0E+07 UI/ml con el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl.

Tabla 15 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HCV (muestras de plasma conservado en EDTA - volumen de procesamiento de 500 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
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,05	0,05	0,06	0,05
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,03	0,04	0,05	0,04
5,00E+04	6,69E+04	MC	0,08	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,04	0,05
1,00E+04	1,34E+04	MC	0,03	0,06	0,05	0,05
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+03	1,34E+03	MC	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,05	0,07	0,05	0,06
1,00E+02	1,34E+02	MC	0,06	0,09	0,05	0,07
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,06	0,06	0,08
5,00E+01	6,69E+01	MC	0,09	0,17	0,10	0,13
1,00E+01	1,34E+01	MC	0,26	0,21	0,13	0,21

* 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.

7866

111



cobas®

Tabla 16 Precisión intralaboratorio de la prueba **cobas®** HCV (muestras de suero - volumen de procesamiento de 500 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
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,03	0,07	0,04	0,05
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,03	0,07	0,03	0,05
5,00E+04	4,05E+04	MC	0,07	0,06	0,04	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,06	0,06	0,04	0,05
1,00E+04	8,11E+03	MC	0,05	0,06	0,04	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,08	0,04	0,06
1,00E+03	8,11E+02	MC	0,05	0,06	0,08	0,05
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,06	0,05	0,05	0,05
1,00E+02	8,11E+01	MC	0,10	0,18	0,10	0,13
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,07	0,08	0,09	0,08
5,00E+01	4,05E+01	MC	0,09	0,14	0,18	0,14

* 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 17 Precisión intralaboratorio de la prueba **cobas®** HCV (muestras de plasma conservado en EDTA - volumen de procesamiento 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
1,00E+07	1,67E+07	arRNA	0,04	0,06	0,05	0,05
1,00E+06	1,67E+06	arRNA	0,04	0,03	0,05	0,04
4,00E+05	6,69E+05	arRNA	0,04	0,06	0,03	0,04
5,00E+04	6,69E+04	MC	0,05	0,06	0,05	0,06
1,00E+04	1,67E+04	arRNA	0,05	0,05	0,05	0,05
1,00E+04	1,34E+04	MC	0,07	0,06	0,05	0,06
4,00E+03	6,69E+03	arRNA	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	1,34E+03	MC	0,08	0,08	0,06	0,07
1,00E+03	1,67E+03	arRNA	0,04	0,07	0,05	0,05
1,00E+02	1,34E+02	MC	0,11	0,15	0,13	0,13
1,00E+02	1,67E+02	arRNA	0,10	0,10	0,13	0,11
7,50E+01	1,00E+02	MC	0,15	0,12	0,11	0,13
2,50E+01	3,34E+01	MC	0,19	0,20	0,22	0,21

* 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.

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

26

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



Tabla 18 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HCV (muestras de suero – volumen de procesamiento 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
1,00E+07	1,92E+07	arRNA	0,02	0,06	0,03	0,04
1,00E+06	1,92E+06	arRNA	0,03	0,06	0,04	0,04
4,00E+05	7,69E+05	arRNA	0,04	0,09	0,04	0,06
5,00E+04	4,05E+04	MC	0,05	0,06	0,06	0,06
1,00E+04	1,92E+04	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,06
1,00E+04	8,11E+03	MC	0,04	0,05	0,05	0,05
4,00E+03	7,69E+03	arRNA	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+03	8,11E+02	MC	0,10	0,09	0,08	0,09
1,00E+03	1,92E+03	arRNA	0,05	0,07	0,04	0,05
1,00E+02	8,11E+01	MC	0,17	0,30	0,17	0,22
1,00E+02	1,92E+02	arRNA	0,13	0,13	0,09	0,12
7,50E+01	6,08E+01	MC	0,11	0,16	0,12	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.

Verificación del genotipo

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

- Determinación del límite de detección para los genotipos del 1b al 6 analizados con el volumen de procesamiento de muestras de 500 µl
- Verificación del límite de detección para los genotipos del 1b al 6 analizados con el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl
- Verificación de la linealidad para los genotipos del 2 al 6

Límite de detección para los genotipos del 1b al 6

El límite de detección de la prueba cobas® HCV para los genotipos del 1b al 6 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de cada genotipo, en suero y plasma conservado en EDTA humanos y negativos para el VHC con el volumen de procesamiento de 500 µl. Se analizaron paneles con seis niveles de concentración más uno negativo con tres lotes de reactivos de la prueba cobas® HCV, con múltiples series analíticas, días, operadores e instrumentos.

Los resultados del suero y del plasma conservado en EDTA correspondientes al volumen de procesamiento de 500 µl se detallan en la Tabla 19 y Tabla 20, respectivamente. El estudio demuestra que la prueba cobas® HCV es capaz de detectar todos los genotipos del VHC analizados con un LoD similar al del genotipo 1a del VHC.

7 8 6 6

cobas® HCV

**Tabla 19** Límite de detección de los genotipos de ARN del VHC en plasma conservado en EDTA (500 µl)

Genotipo	LoD del 95% mediante PROBIT	Intervalo de confianza del 95%
GT 1b	11,32 UI/ml	9,72-14,52 UI/ml
GT 2	9,10 UI/ml	7,83-11,80 UI/ml
GT 3	8,68 UI/ml	7,30-11,51 UI/ml
GT 4	12,78 UI/ml	10,69-17,20 UI/ml
GT 5	11,63 UI/ml	9,66-15,98 UI/ml
GT 6	12,58 UI/ml	9,78-20,10 UI/ml

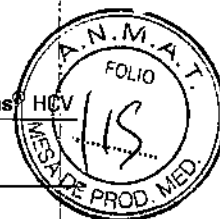
Tabla 20 Límite de detección de los genotipos de ARN del VHC en suero (500 µl)

Genotipo	LoD del 95% mediante PROBIT	Intervalo de confianza del 95%
GT 1b	15,24 UI/ml	12,40-21,58 UI/ml
GT 2	12,51 UI/ml	10,25-17,63 UI/ml
GT 3	7,21 UI/ml	6,10-9,50 UI/ml
GT 4	11,62 UI/ml	9,92-15,02 UI/ml
GT 5	13,06 UI/ml	10,64-18,68 UI/ml
GT 6	11,15 UI/ml	9,54-14,40 UI/ml

Verificación del límite de detección para los genotipos del 1b al 6

Se diluyeron muestras clínicas de ARN del VHC para seis genotipos distintos (1b, 2, 3, 4, 5, 6) en tres niveles de concentración diferentes en suero y plasma conservado en EDTA. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 63 réplicas para cada nivel. El análisis se realizó con tres lotes de reactivos de la prueba **cobas® HCV**. En la Tabla 21 y en la Tabla 22 se muestran los resultados obtenidos con el suero y el plasma conservado en EDTA con un volumen de 200 µl. Estos resultados verifican que la prueba **cobas® HCV** puede detectar ARN del VHC para los seis genotipos distintos en concentraciones de 33 UI/ml con una tasa de positividad del $\geq 90,5\%$ y un intervalo de confianza unilateral superior del 95% de $\geq 95,8\%$.

7886

cobas[®] HCV**Tabla 21** Verificación del límite de detección de los genotipos de ARN del VHC en plasma conservado en EDTA (200 µl)

Genotipo	17,5 UI/ml			33 UI/ml			50 UI/ml		
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)
1b	63	50	79,4	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	51	81,0	63	62	98,4	63	62	98,4
3	63	56	89,0	63	58	92,1	63	63	100,0
4	63	54	85,7	63	57	90,5	63	63	100,0
5	63	57	90,5	63	61	96,8	63	63	100,0
6	63	47	74,6	63	57	90,5	63	62	98,4

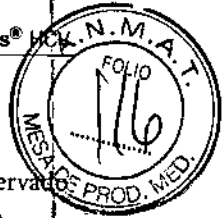
Tabla 22 Verificación del límite de detección de los genotipos de ARN del VHC en suero (200 µl)

Genotipo	17,5 UI/ml			33 UI/ml			50 UI/ml		
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)
1b	63	52	82,5	63	61	96,8	63	63	100,0
2	63	46	73,0	63	62	98,4	63	59	93,7
3	63	58	92,1	63	63	100,0	63	63	100,0
4	63	49	77,8	63	59	93,7	63	63	100,0
5	63	46	73,0	63	59	93,7	63	62	98,4
6	63	44	69,8	63	61	96,8	63	61	96,8

Linealidad para los genotipos del 2 al 6

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de los genotipos de la prueba **cobas[®] HCV** 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 arRNA 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. El intervalo lineal de la prueba **cobas[®] HCV** se extendía desde el LLoQ (15 UI/ml para un volumen de procesamiento de muestras de 500 µl, 40 UI/ml para un volumen de procesamiento de 200 µl) hasta el ULoQ (1,00E+08 UI/ml para ambos volúmenes de procesamiento) e incluía al menos un punto de decisión médica. El análisis se realizó con tres lotes de reactivos de **cobas[®] HCV**; se analizaron 15 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA.

La linealidad del intervalo lineal de la prueba **cobas[®] HCV** se verificó para los cinco genotipos (2, 3, 4, 5 y 6). La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue igual o menor que $0,24 \log_{10}$.



Especificidad

La especificidad de la prueba cobas® HCV se determinó mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA negativas para el VHC obtenidas de donantes individuales. Se analizaron 300 muestras individuales de plasma conservado en EDTA y 300 muestras individuales de suero (600 resultados totales) con dos lotes de reactivos de la prueba cobas® HCV. Todas las muestras dieron negativo para ARN del VHC. En el panel de la prueba, la especificidad de cobas® HCV fue del 100% (límite de confianza del 95%: $\geq 99,5\%$).

Especificidad analítica

La especificidad analítica de la prueba cobas® HCV se evaluó mediante la dilución de un panel de microorganismos en plasma conservado en EDTA positivo para ARN del VHC y negativo para ARN del VHC. Los microorganismos se añadieron al plasma humano conservado en EDTA normal negativo al virus y se analizaron con y sin ARN del VHC. La prueba cobas® HCV generó resultados negativos para todas las muestras de microorganismos sin fragmento objetivo del VHC y resultados positivos para todas las muestras de microorganismos con fragmento objetivo del VHC. Además, el título \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas para el VHC con organismos de posible reacción cruzada se situó en $\pm 0,3 \log_{10}$ del título \log_{10} medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 23 Microorganismos analizados para reactividad cruzada

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

7 8 6 6

cobas® HCV



Especificidad analítica: sustancias interferentes

Se analizaron niveles elevados de triglicéridos (34,5 g/l), bilirrubina conjugada (0,25 g/l), bilirrubina no conjugada (0,25 g/l), albúmina (58,7 g/l), hemoglobina (2,9 g/l) y ADN humano (2 mg/l) en muestras en presencia y ausencia de ARN del VHC. El análisis de las sustancias interferentes endógenas demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® HCV.

Asimismo, se analizó la presencia de enfermedades autoinmunes como lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR) y anticuerpos antinucleares (ANA).

Con respecto a la sensibilidad, en el caso de dos donantes de LES, uno de FR y cuatro de ANA, las muestras individuales mostraron interferencias con la prueba cobas® HCV. Una investigación de la causa raíz demostró que la prueba superaba la interferencia procedente de las muestras de donantes de LES y FR afectadas cuando se analizaba en presencia de 75 UI/ml de ARN del VHC.

Las cuatro muestras de donantes de ANA que presentaban interferencias con la prueba cobas® HCV cuando se analizaron con 50 UI/ml de ARN del VHC seguían produciendo interferencias cuando se analizaron con 75 UI/ml de ARN del VHC. Para valorar si la interferencia observada era específica de los ANA, o específica del donante, se analizaron 15 donantes de ANA adicionales en presencia de 50 UI/ml y de 75 UI/ml de ARN del VHC. Ninguno de los donantes adicionales presentó interferencia alguna con la prueba cobas® HCV, para ambas concentraciones analizadas, con respecto a la sensibilidad/cuantificación.

También se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 24 con una concentración tres veces superior a la C_{max} . Se demostró que ninguno de los compuestos farmacológicos analizados interferían con la especificidad y la cuantificación del ARN del VHC mediante la prueba cobas® HCV.

Se ha demostrado que ninguna de las posibles sustancias interferentes afecta al rendimiento de la prueba. La prueba cobas® HCV generó resultados negativos para todas las muestras sin fragmento objetivo del VHC y resultados positivos para todas las muestras con fragmento objetivo del VHC. Además, el título \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas para el VHC con sustancias potencialmente interferentes se situó en $\pm 0,3 \log_{10}$ del título \log_{10} medio del control positivo respectivo añadido.

E

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

31

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

7 8 6 6

117

cobas® HCV

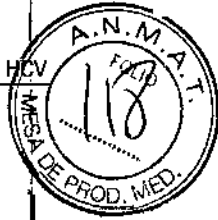


Tabla 24 Compuestos farmacológicos analizados para la interferencia mediante cuantificación del ARN del VHC con la prueba cobas® HCV

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

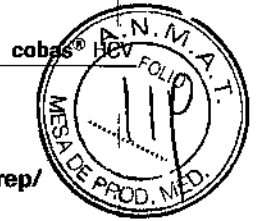
E

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

32

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



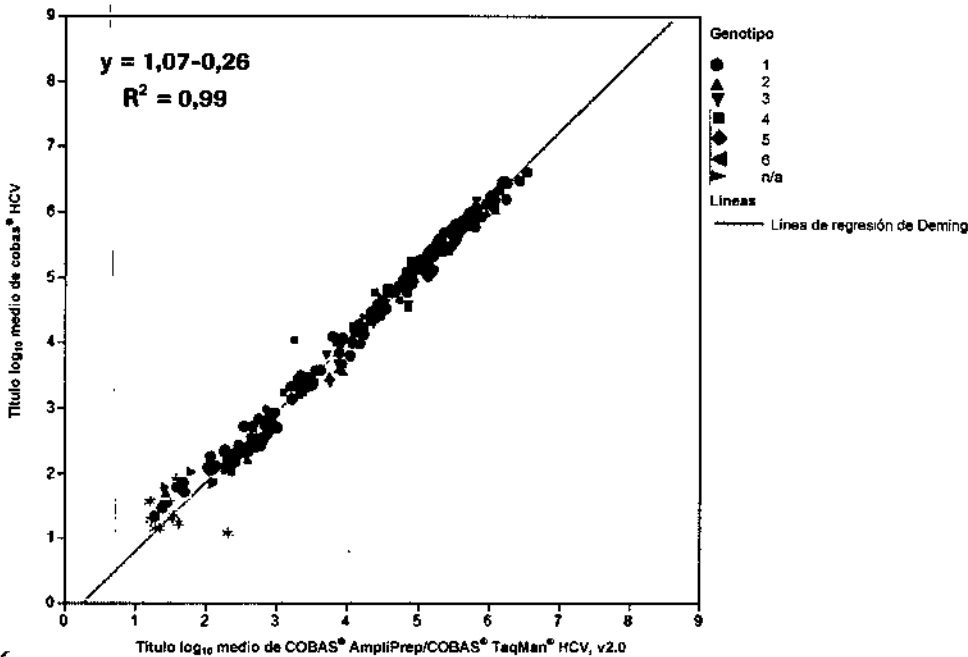
Correlación de métodos

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

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® HCV y la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV Quantitative, v2.0 (TaqMan® HCV v2.0) mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA procedentes de pacientes infectados con el VHC. Un total de 149 muestras de plasma conservado en EDTA y 124 muestras de suero de todos los genotipos del VHC, 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 0,02 log₁₀ (intervalo de confianza del 95%: 0,00; 0,04).

En la Ilustración 7 se muestran los resultados de la regresión de Deming. El símbolo * en Ilustración 7 indica una única determinación.

Ilustración 7 Comparación del análisis de regresión entre las pruebas cobas® HCV y TaqMan® HCV, v2.0 en muestras de suero y plasma conservado en EDTA



E

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]

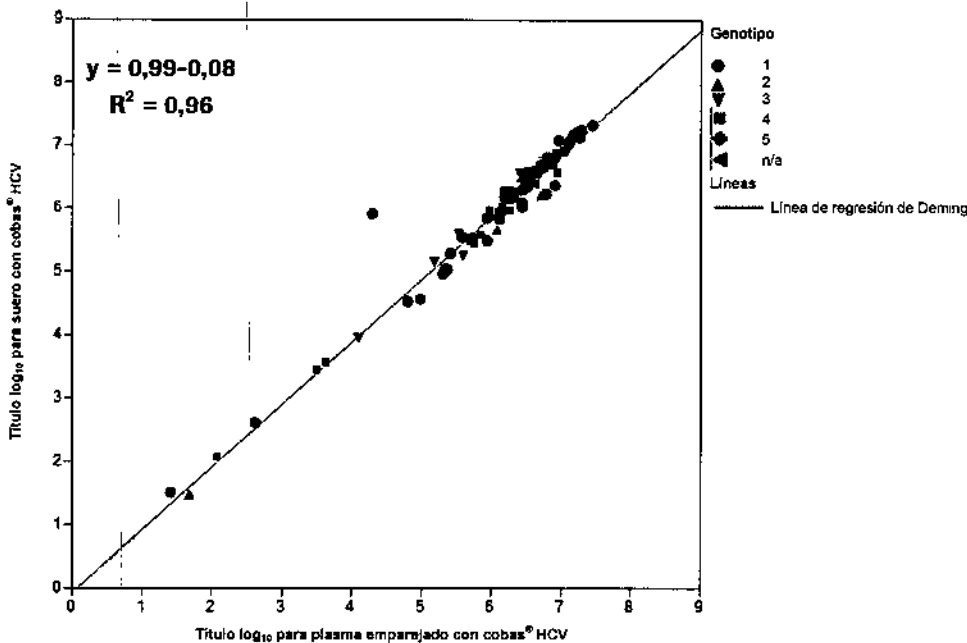


Equivalencia de matrices: plasma conservado en EDTA frente a suero

Se analizaron 190 muestras de plasma conservado en EDTA y suero emparejadas para determinar la equivalencia de matrices. De ellas, 73 muestras emparejadas resultaron positivas para el VHC. Las muestras positivas para el VHC cubrían los genotipos del 1 al 4 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 $-0,13 \log_{10}$ (intervalo de confianza del 95%: $-0,19$; $-0,07$) (Ilustración 8).

Ilustración 8 Rendimiento de la equivalencia de matrices entre plasma conservado en EDTA y suero



Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba cobas® HCV se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA y 100 réplicas de suero a las que se añadió fragmento objetivo del VHC. Estas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente $3 \times \text{LoD}$.

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron válidas y positivas para el VHC, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0% para el límite inferior y del 3,62% para el límite superior para cada matriz [0%; 3,62%].

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba cobas® HCV se determinó mediante el análisis de 240 réplicas de una muestra de plasma humano normal conservado en EDTA negativa a virus (VIH, VHC y VHB) y de 225 réplicas de una muestra de VHC con un título alto de $4,0\text{E}+07$ UI/ml. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

239 de las 240 réplicas de las muestras negativas resultaron válidas y se detectaron como negativas, por lo que la tasa de contaminación por arrastre fue del 0,42%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0,01% para el límite inferior y del 2,3% para el límite superior [0%; 2,3%].

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

34

7 8 6 6



cobas HCV

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma conservado en EDTA, suero
Cantidad mínima de muestra necesaria	650 µl o 350 µl
Volumen de procesamiento de muestras	500 µl o 200 µl
Sensibilidad analítica	15 UI/ml (500 µl) 40 UI/ml (200 µl)
Intervalo lineal	500 µl: 15 UI/ml-1,0E+08 UI/ml 200 µl: 40 UI/ml-1,0E+08 UI/ml
Especificidad	100% (Intervalo de confianza unilaterial del 95%: 99,5%)
Genotipos detectados	Genotipos 1-6 del VHC





















E

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



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

Tabla 25 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico 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 <n> pruebas
	Número de catálogo		Límite de temperatura
	Consulte las instrucciones de uso		Archivo de definición de pruebas
	Contenido del kit		Límite superior del intervalo asignado
	Distribuido por		Fecha de caducidad
	Para evaluación del rendimiento IVD únicamente		
	El presente producto cumple con los requerimientos previstos por la Directiva Europea 98/79/CE de productos sanitarios para el diagnóstico <i>in vitro</i> .		

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



Fabricante y distribuidores

Tabla 26 Fabricante y distribuidores



Fabricado en Suiza

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
Jaguari, 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

©2014 Roche Molecular Systems, Inc.



0123





Bibliografía

1. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome [Science 1989;244:359-362]. *J Hepatol.* 2002;36:582-585.
2. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, McQuillan GM, Kuhnert WL, Alter MJ. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.* 2006;144:705-714.
3. Rustgi VK. The epidemiology of hepatitis C infection in the United States. *J Gastroenterol.* 2007;42:513-521.
4. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2001;345:41-52.
5. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339(21):1485-92.
6. Davis GL, Esteban-Mur R, Rustgi V, Hoefs J, Gordon SC, Trepo C, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. International Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med.* 1998;339:1493-1499.
7. Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet.* 2001;358):958-965.
8. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2002;347(13):975-982.
9. Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, et al. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med.* 2004;140:346-355.
10. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; . American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology.* 2009;49:1335-1374.
11. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for the Study of Liver Diseases. An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011;54:1433-1444.
12. Poordad F, McCone J Jr., Bacon BR, et al. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1195-1206.
13. Jacobson IM, McHutchison JG, Dusheiko G, et al. Telaprevir for previously untreated chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2405-2416.
14. Bacon BR, Gordon SC, Lawitz E, et al. Boceprevir for previously treated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med.* 2011;364:1207-1217.
15. Zeuzem S, Andreone P, Pol S, et al. Telaprevir for retreatment of HCV infection. *N Engl J Med.* 2011;364:2417-2428.
16. Lawitz E, Mangia A, Wyles D, et al. Sofosbuvir for previously untreated chronic hepatitis C infection. *N Engl J Med.* 2013;368:1878-1887.



17. Jacobson IM, Gordon SC, Kowdley KV, et al. Sofosbuvir for hepatitis C genotype 2 or 3 in patients without treatment options. *N Engl J Med.* 2013;368:1867-1877.
18. Liang TJ, Ghany MG. Current and future therapies for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med.* 2013;368:1907-1917.
19. Rutter K, Hofer H, Beinhardt S, et al. Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct-acting anti-viral. *Aliment Pharmacol Ther.* 2013;38:118-123.
20. 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.
21. 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.
22. 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.
23. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
24. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
25. 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.
26. 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.

Dr. ALDO A. CHIFFARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. de L.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

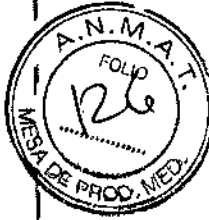
7 8 6 6

125

cobas® HCV

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 10/2014	Primera publicación.



E

07175400001-01ES

Doc Rev. 1.0

40

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



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

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

Expediente nº:1-47-3110-2663/15-4

Se autoriza a la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q.e I. (DIVISIÓN DIAGNÓSTICA) a importar y comercializar los Productos para Diagnóstico de uso "in vitro" denominados 1) COBAS® HCV / PRUEBA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLÉICOS *IN VITRO* PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ARN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C (HCV), GENOTIPOS 1 A 6, EN PLASMA CONSERVADO EN EDTA O SUERO DE PACIENTES INFECTADOS CON HCV, EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS; 2) COBAS® HBV/HCV/HIV-1 CONTROL KIT/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS, en envases conteniendo 1) (Nº de catálogo: 06997732190) CASSETTE INTEGRAL DE REACTIVOS PARA 96 DETERMINACIONES; 2) (Nº de catálogo: 06997767190) ENVASES CONTENIENDO: CONTROL POSITIVO BAJO (HBV/HCV/HIV-1 L [+] C: 8 x 0.65 ml) Y CONTROL POSITIVO ALTO (HBV/HCV/HIV-1 H [+] C: 8 x 0.65 ml). Se le asigna la categoría: Venta a laboratorios de Análisis clínicos por hallarse comprendido en las condiciones establecidas en la Ley 16.463, y Resolución M.S. y A.S. Nº 145/98. Lugar de elaboración: ROCHE DIAGNOSTICS INTERNATIONAL Ltd. Forrenstrasse 2, 6343 Rotkreuz. (SUIZA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA). Periodo de vida útil: 1) y 2) 7 (SIETE) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. En las etiquetas de los

E
d

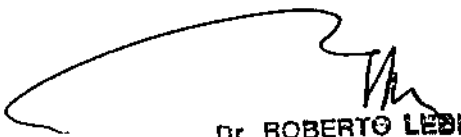
1

envases, anuncios y Manual de instrucciones deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO DE USO "IN VITRO" USO PROFESIONAL EXCLUSIVO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA.

Certificado nº: **008462**

ADMINISTRACION NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires, **21 JUL 2016**



Dr. ROBERTO LEDEZMA
Subadministrador Nacional
Firma y Sello.