



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

DISPOSICIÓN N° 4959

BUENOS AIRES, 03 MAYO 2016

VISTO el expediente N° 1-47-3110-2798/15-1 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 de uso "in vitro" denominado COBAS® HBV (N° de catálogo:7000979)/ PRUEBA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL ADN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) EN PLASMA HUMANO CONSERVADO EN EDTA O SUERO DE PACIENTES INFECTADOS CON VHB, EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS.

Que a fojas 323 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico de que establecen que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización asimismo se deberá comunicar por nota al Servicio de Productos para Diagnóstico de uso In Vitro – Dirección Nacional de Productos Médicos la primer importación del producto de referencia con el objetivo que la ANMAT proceda a su verificación y fiscalización para la liberación del primer lote en el país, quedando su comercialización sujeta a los resultados de las mismas.



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

DISPOSICIÓN N°

4959

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

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

Por ello;

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

D I S P O N E:

ARTÍCULO 1º.- Autorízase la venta a laboratorios de análisis clínicos del producto de diagnóstico para uso in Vitro denominado COBAS® HBV (N° de catálogo:7000979)/ PRUEBA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL ADN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) EN PLASMA HUMANO CONSERVADO EN EDTA O SUERO DE PACIENTES INFECTADOS CON VHB, EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS, el que será elaborado por ROCHE MOLECULAR SYSTEMS, INC. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH, Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA) e importado terminado por la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) a expendirse en envases conteniendo: CASSETTE INTEGRAL DE REACTIVOS PARA 96 DETERMINACIONES,



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

DISPOSICIÓN N°

4959

con una vida útil de DIEZ (10) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C y que la composición se detalla a fojas 28 a 29.

ARTICULO 2º.- Acéptense los proyectos de rótulos y Manual de Instrucciones a fojas 63 a 187. Desglosándose fojas 69 a 109 debiendo constar en los mismos que la fecha de vencimiento es la declarada por el elaborador impreso en los rótulos de cada partida.

ARTÍCULO 3º.- Extiéndase el Certificado correspondiente.

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

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

EXPEDIENTE N° 1-47-3110-2798/15-1

DISPOSICIÓN N°:

4959

Fd


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

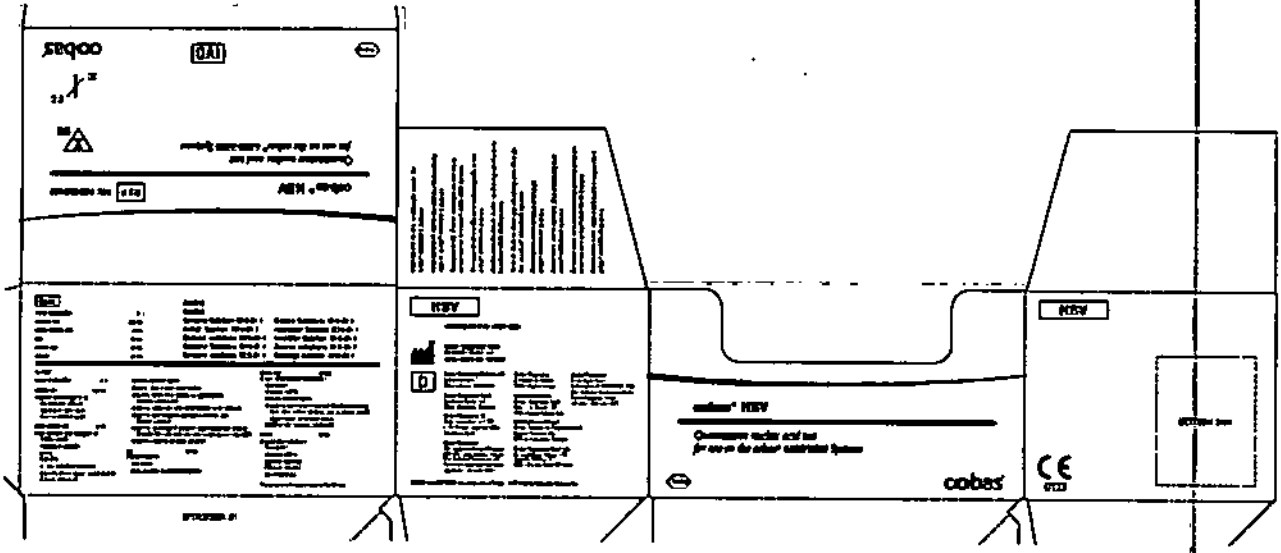


068

4959

PROYECTO DE RÓTULO:

cobas HBV (catálogo N° 7000979)



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 DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

COBAS

REF **MN 020058100**

cobas® HBV

REF

Quantitative nucleic acid test
for use on the cobas® 6800/8800 Systems

IVD

CE

Instructions for use (IFU) are on the back of the test pack.

Quantitative Nucleic Acid Test (qNAT) for the detection and quantification of hepatitis B virus (HBV) DNA in serum, plasma, and whole blood.

The quantitative results are expressed in International Units (IU) per mL of sample. The results are linear from 1.5 × 10⁵ IU/mL to 1.5 × 10² IU/mL.

The test is suitable for use on the cobas® 6800/8800 Systems.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

Cont.	Quantity	Reference	Manufacturer
1000 µl	1.7	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
500 µl	0.85	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
250 µl	0.425	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
125 µl	0.2125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
62.5 µl	0.10625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
31.25 µl	0.053125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
15.625 µl	0.0265625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
7.8125 µl	0.01328125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
3.90625 µl	0.006640625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
1.953125 µl	0.0033203125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.9765625 µl	0.00166015625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.48828125 µl	0.000830078125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.244140625 µl	0.0004150390625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.1220703125 µl	0.00020751953125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.06103515625 µl	0.000103759765625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.030517578125 µl	0.0000518798828125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.0152587890625 µl	0.00002593994140625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.00762939453125 µl	0.000012969970703125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.003814697265625 µl	0.0000064849853515625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.0019073486328125 µl	0.00000324249267578125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.00095367431640625 µl	0.000001621246337890625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.000476837158203125 µl	0.0000008106231689453125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.0002384185791015625 µl	0.00000040531158447265625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
0.00011920928955078125 µl	0.000000202655792236328125	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4
5.9605e-05 µl	0.0000001013278961181640625	ELPIS-10	Chiron Behring, 9714-01-4

HBV

Manufacturer: In Vitro Clinical Diagnostics

D

COBAS

Quantitative Nucleic Acid Test (qNAT) for the detection and quantification of hepatitis B virus (HBV) DNA in serum, plasma, and whole blood.

The quantitative results are expressed in International Units (IU) per mL of sample. The results are linear from 1.5 × 10⁵ IU/mL to 1.5 × 10² IU/mL.

The test is suitable for use on the cobas® 6800/8800 Systems.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

The test is performed on the cobas® 6800/8800 Systems using the cobas® HBV reagent kit.

HBV

COBAS

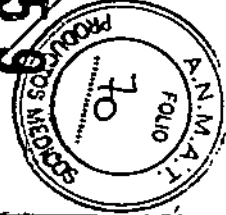
cobas® HBV

Quantitative nucleic acid test
for use on the cobas® 6800/8800 Systems

CE 0123

UDI label here

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCOS ROCHES S.A. Q. 1
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TECNICO





070

4959

PROYECTO DE INSTRUCCIONES DE USO

Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.O. s.L.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



495

071

cobas®

cobas® HBV

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

Para diagnóstico in vitro

cobas® HBV

P/N: 07000979190

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.Q. e.L.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

4959



072

cobas® HBV

Tabla de contenido

- Uso previsto 4**
- Resumen y explicación de la prueba 4**
- Reactivos y materiales 7**
 - Reactivos y controles de cobas® HBV 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® HBV 16
- Resultados 17**
 - Control de calidad y validez de los resultados 17
 - Interpretación de los resultados 18
 - Limitaciones del procedimiento 18
- Evaluación no clínica del rendimiento 19**
 - Características clave de rendimiento 19
 - Límite de detección (LoD) 19
 - Intervalo lineal 21
 - Precisión intralaboratorio 23

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

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



073

4959

cobas® HBV

Determinación y verificación del genotipo	26
Especificidad.....	29
Especificidad analítica	29
Especificidad analítica: sustancias interferentes	29
Correlación de métodos.....	31
Equivalencia de matrices: plasma conservado en EDTA frente a suero.....	32
Fallo de todo el sistema	32
Contaminación por arrastre.....	33
Información adicional	33
Características principales de la prueba	33
Fabricante y distribuidores	35
Marcas registradas y patentes	35
Copyright.....	35
Bibliografía	36
Revisión del documento	38

Σ

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



4959

074

cobas® HBV

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 VHB (virus de la hepatitis B) 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), 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 Son varias las directrices básicas que 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}

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

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

4959



cobas® HBV

Explicación de la prueba

La prueba cobas® HBV es una prueba cuantitativa realizada en el cobas® 6800 System y en el cobas® 8800 System. La prueba cobas® HBV permite detectar y cuantificar el ADN del VHB en suero o plasma conservado en EDTA de pacientes infectados en laboratorios que realizan ensayos clínicos y en la práctica clínica habitual para el tratamiento de pacientes con VHB. La detección y la cuantificación se realizan mediante una única sonda, que no discrimina entre los genotipos A-H. La carga viral se cuantifica mediante un estándar de cuantificación de ADN diferente del VHB (DNA-QS) y que se añade a cada una de las muestras durante la preparación de las muestras. El DNA-QS también permite monitorizar todo el proceso de preparación de las muestras y amplificación mediante PCR. Además, la prueba utiliza tres controles externos: uno positivo de título alto, uno positivo de título bajo y uno negativo.


Principios del procedimiento

La prueba cobas® 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. 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 ADN de VHB 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 ADN de lambda añadido (DNA-QS) se realiza simultáneamente.

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 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 se utiliza una enzima 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).¹⁷⁻¹⁹ La enzima AmpErase, que se incluye en la mezcla para PCR 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.



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





4939

076

cobas® HBV

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 del fragmento 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.

T

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

Dr. AJDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A. Q. o. E.
 DIVISIÓN DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® HBV

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

Tabla 1 cobas® HBV





cobas® HBV Almacenar a 2-8 °C Casete para 96 pruebas (P/N 07000979190)		
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% 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 de ADN (DNA-QS)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de ADN 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	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 VHB (HBV MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, < 18% de sulfóxido de dimetilo, glicerol, < 0,1% de Tween 20, EDTA, < 0,12% de dATP, dCTP, dGTP, dUTPs, < 0,01% de cebadores 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 del VHB, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de ADN polimerasa Z05D, < 0,10% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	6 ml

4959

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

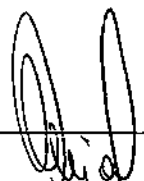
cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit

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)	< 0,001% de Armored ARN de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001% de ADN (plasmídico) 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. 0,1% de conservante ProClin® 300	5,2 ml (8 x 0,65 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.
Control positivo alto para VHB/VHC/VIH-1 (HBV/HCV/HIV-1 H(+))C)	< 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 (plasmídico) 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. 0,1% de conservante ProClin® 300	5,2 ml (8 x 0,65 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.

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0


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



4959

cobas® HBV

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)	<div style="display: flex; justify-content: space-around;">   </div> <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>

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0


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



4959



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 ditiotreitól, citrato de sodio dihidratado	4 x 875 ml	<p> Peligro H302: Nocivo por ingestión. H318: Provoca lesiones oculares graves. H412: Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032: En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P301 + P312: EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar. P264: Lavarse la piel concienzudamente tras la manipulación. P270: No comer, beber ni fumar durante su utilización. P273: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. 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. P310: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. 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*** HBV. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 7).

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

10

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

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® HBV	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 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	Periodo de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® HBV	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.

4959

cobas® HBV

Material adicional necesario

Tabla 7 Materiales 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

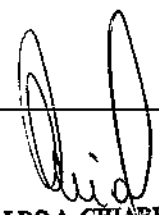
Es necesario instalar el software cobas® 6800/8800 y el paquete de análisis cobas® HBV en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

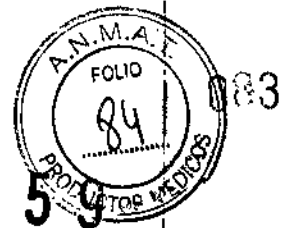
Tabla 8 Instrumentos

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.


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



4959

cobas® HBV

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® HBV para uso como prueba de cribado para la presencia de VHB en sangre y hemoderivados o como una prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de una infección por VHB.
- Todas las muestras de paciente deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados tal como se describe en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.^{19,20} Solamente el personal competente en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® HBV y los cobas® 6800/8800 Systems deberían llevar a cabo este procedimiento.
- 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.

4959



cobas® HBV

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.
- El kit de la prueba **cobas**® HBV, 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**® HBV 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.

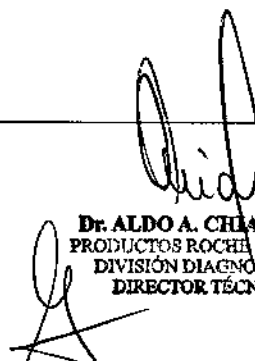
La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

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.

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

14

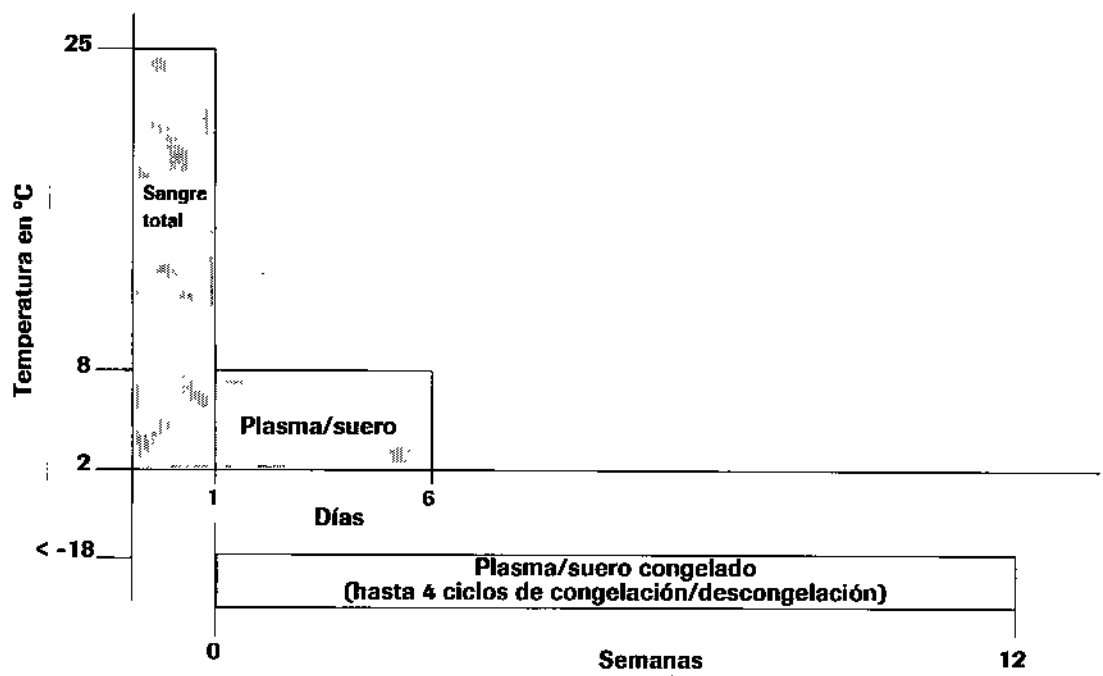


Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHA S.A.Q. e I.
DIVISION DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO

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/suero pueden almacenarse durante un máximo de 6 días a una temperatura comprendida entre 2 °C y 8 °C o durante un máximo de 12 semanas a ≤ -18 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo de hasta 6 meses 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.

Ilustración 1 Condiciones de 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.

[Signature]

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

[Signature]

49



086

cobas® HBV

Instrucciones de uso

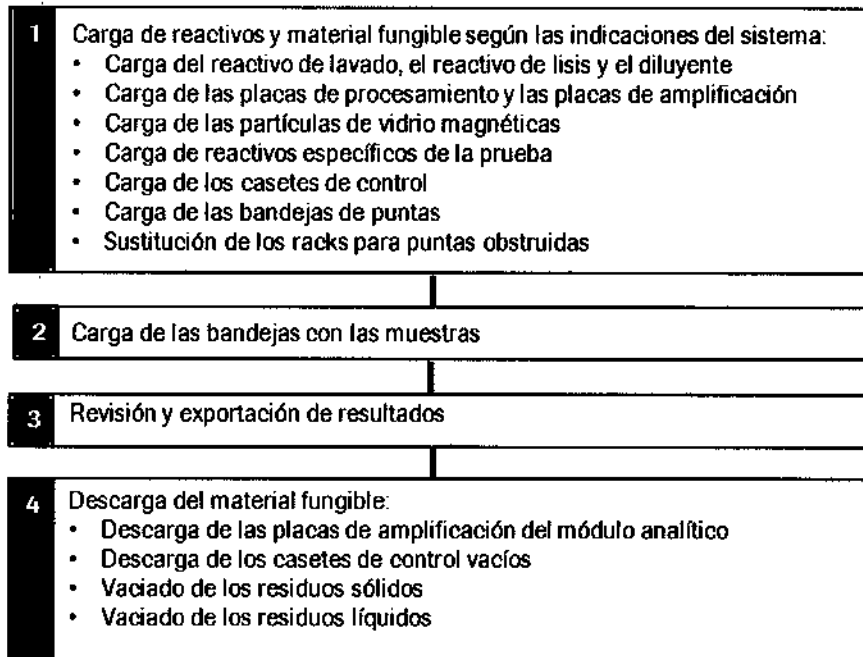
Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos de la prueba cobas® HBV, el cobas® HBV/HCV/HIV-1 Control Kit, el cobas® NHP Negative Control Kit ni 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® HBV

La prueba cobas® HBV puede ejecutarse con dos volúmenes de muestra mínimos 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.

Ilustración 2 Procedimiento de la prueba cobas® HBV




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

Resultados

Los **cobas**® 6800/8800 Systems determinan automáticamente la concentración de ADN de 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 serie se procesan un control negativo [(-) C] y dos controles positivos: un control positivo bajo [HBV L(+)C] y un control positivo alto [HBV H(+)C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software **cobas**® 6800/8800 como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- 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: HBV L(+)C, HBV 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	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 = 10 UI/ml (500 µl) Título mínimo = 25 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 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 (500 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

- La prueba **cobas® HBV** 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 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.
- 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.
- 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® 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)

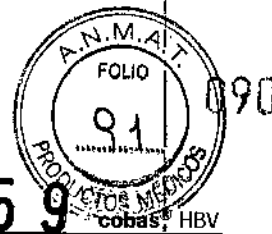
Estándar internacional de la OMS

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 virus de la hepatitis B en ensayos mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (segundo estándar internacional de la OMS) para el genotipo A obtenido de NIBSC, en suero y plasma conservado en EDTA humano negativo al VHB con volúmenes de procesamiento de muestras de 500 µl y 200 µl. Se analizaron paneles con ocho niveles de concentración más uno negativo para el volumen de procesamiento de muestras de 500 µl y con nueve niveles de concentración para el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas® HBV**, 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® HBV** es capaz de detectar ADN del VHB en una concentración de 3 UI/ml con una tasa de positividad de $\geq 95\%$ para el volumen de procesamiento de muestras de 500 µl y en una concentración de 17,5 UI/ml con una tasa de positividad de $\geq 95\%$ para el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl en plasma conservado en EDTA. En cuanto a las muestras de suero, el estudio demuestra que la prueba **cobas® HBV** es capaz de detectar ADN del VHB en una concentración de 3 UI/ml con una tasa de positividad de $\geq 95\%$ para el volumen de procesamiento de muestras de 500 µl y en una concentración de 15 UI/ml con una tasa de positividad de $\geq 95\%$ para el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl.

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

Concentración del título de entrada (ADN del VHB en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	185	97,88
3,0	189	183	96,83
2,0	189	166	87,83
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	2,7 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 2,4-3,1 UI/ml		



4959

Tabla 12 Límite de detección en suero (500 µl)

Concentración del título de entrada (ADN del VHB en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
20,0	189	189	100,00
10,0	189	189	100,00
8,0	189	189	100,00
6,0	189	189	100,00
5,0	189	188	99,47
4,0	189	186	98,41
3,0	189	187	98,94
2,0	189	172	91,01
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	2,4 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 2,0-2,7 UI/ml)		

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

Concentración del título de entrada (ADN del VHB en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	188	99,47
20,0	189	189	100,00
17,5	189	182	96,30
15,0	189	179	94,71
12,5	189	170	89,95
10,0	189	142	75,13
5,0	189	87	46,03
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	15,5 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 14,4-16,9 UI/ml)		

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

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

4959



091

Tabla 14 Límite de detección en suero (200 µl)

Concentración del título de entrada (ADN del VHB en UI/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en %
50,0	189	189	100,00
30,0	189	189	100,00
25,0	189	189	100,00
20,0	189	187	98,94
17,5	189	189	100,00
15,0	189	184	97,35
12,5	189	174	92,06
10,0	189	170	89,95
5,0	189	107	56,61
LoD según PROBIT con una tasa de positividad del 95%	12,5 UI/ml Intervalo de confianza del 95%: 11,6-13,8 UI/ml)		

Intervalo lineal

El estudio de linealidad de la prueba **cobas® HBV** se llevó a cabo con una serie de diluciones formadas por un panel de 15 muestras con el que se cubría el intervalo lineal esperado para el genotipo predominante (GT A). Los miembros del panel con título alto se prepararon a partir de un stock de ADN plasmídico de VHB de título elevado, mientras que los miembros del panel con título más bajo se prepararon a partir de una muestra clínica. El panel de linealidad se diseñó para que existiera una superposición de títulos aproximada de $2 \log_{10}$ entre los dos materiales de origen. El intervalo lineal esperado de la prueba **cobas® HBV** se extiende desde el LLoQ (10 UI/ml para el volumen de procesamiento de 500 µl y 25 UI/ml para el volumen de procesamiento de 200 µl) hasta el ULoQ ($1,00E+09$ UI/ml). 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., $2,0E+09$ 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 ADN de VHB.

Para el volumen de procesamiento de 500 µl, la prueba **cobas® HBV** es lineal para suero y plasma conservado en EDTA desde 10 UI/ml hasta $1,00E+09$ UI/ml y presenta una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a $\pm 0,2 \log_{10}$. En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida entre $\pm 0,24 \log_{10}$.

Para el volumen de procesamiento de 200 µl, la prueba **cobas® HBV** es lineal para suero y plasma conservado en EDTA desde 25 UI/ml hasta $1,00E+09$ UI/ml y presenta una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a $\pm 0,2 \log_{10}$. En el intervalo lineal, la exactitud de la prueba estuvo comprendida entre $\pm 0,24 \log_{10}$.

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



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

Ilustración 3 Determinación del intervalo lineal en plasma conservado en EDTA (500 µl)

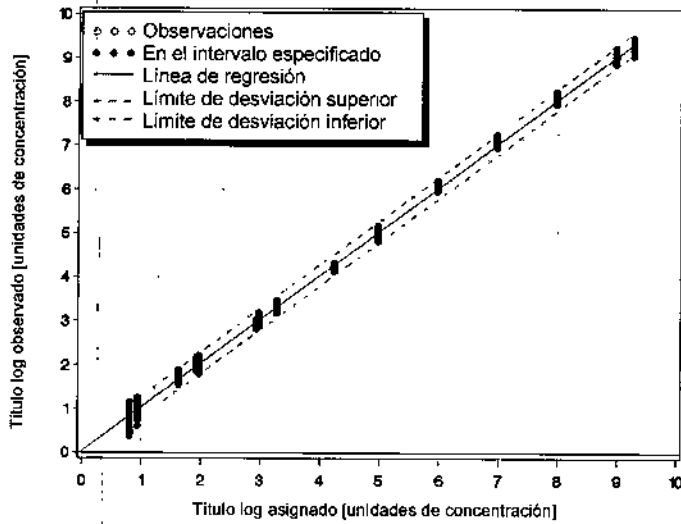
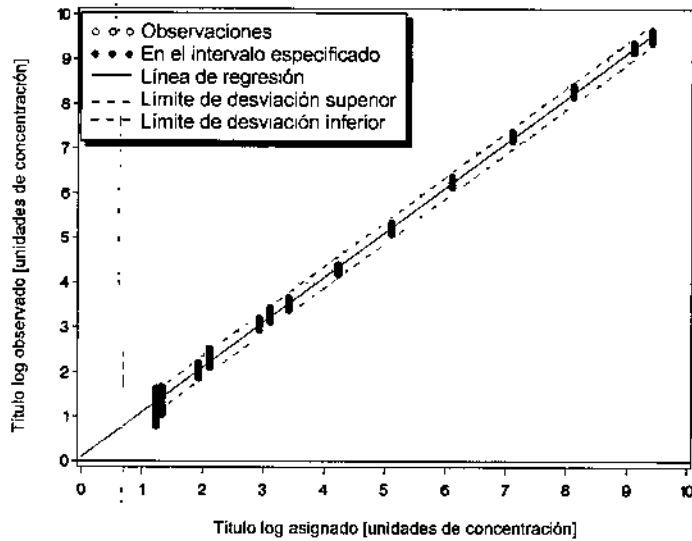


Ilustración 4 Determinación del intervalo lineal en plasma conservado en EDTA (200 µl)



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

Ilustración 5 Determinación del intervalo lineal en suero (500 µl)

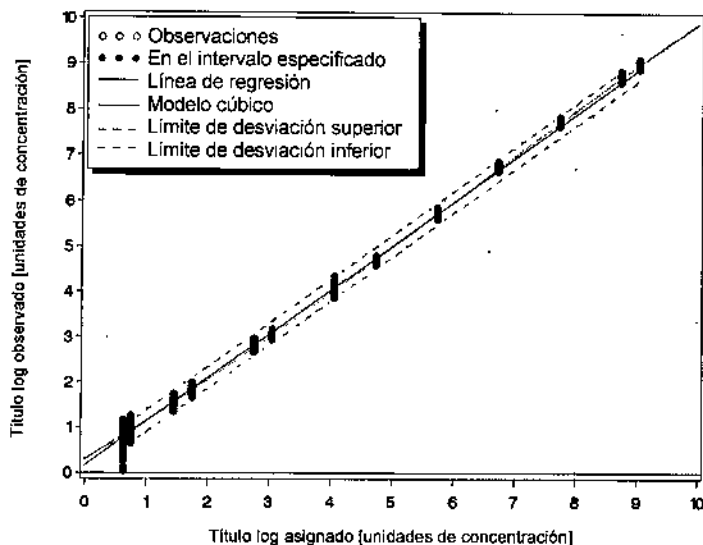
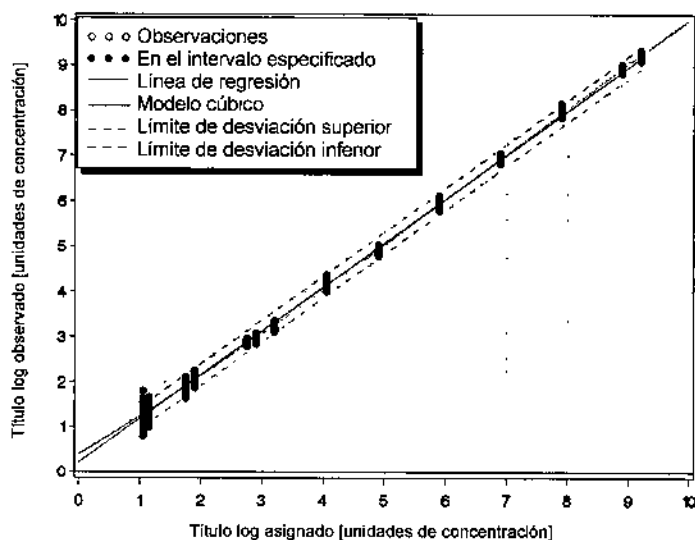


Ilustración 6 Determinación del intervalo lineal en suero (200 µl)



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) o de ADN plasmídico de VHB en suero o plasma conservado en EDTA negativos para el VHB. Se analizaron entre 10 y 12 niveles de dilución en 48 réplicas para cada nivel y volumen de procesamiento con los tres lotes de reactivo de la prueba **cobas® HBV** en tres instrumentos diferentes y con tres usuarios distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba **cobas® HBV** 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. Los resultados se muestran desde la Tabla 15 a la Tabla 18.

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

[Firma]
Dr. ALDO A. CHIARELLI
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. s.l.
DIVISIÓN DIAGNOSTICA
DIRECTOR TÉCNICO



49

094

cobas® HBV

La prueba cobas® HBV presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre 5,00E+01 UI/ml y 1,0E+09 UI/ml con el volumen de procesamiento de muestras de 500 µl y entre 1,00E+02 UI/ml y 1,0E+08 UI/ml (para plasma conservado en EDTA) y 1,0E+09 UI/ml (para suero) con el volumen de procesamiento de muestras de 200 µl.

Tabla 15 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (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+09	9,32E+08	ADN plasmídico	0,04	0,07	0,09	0,07
1,00E+08	9,32E+07	ADN plasmídico	0,04	0,08	0,05	0,06
1,00E+07	9,32E+06	ADN plasmídico	0,06	0,05	0,04	0,05
1,00E+06	9,32E+05	ADN plasmídico	0,06	0,07	0,04	0,06
1,00E+05	9,32E+04	ADN plasmídico	0,06	0,06	0,07	0,06
2,00E+04	1,71E+04	Muestra clínica	0,05	0,03	0,03	0,04
2,00E+03	1,86E+03	ADN plasmídico	0,05	0,04	0,07	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Muestra clínica	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+03	9,32E+02	ADN plasmídico	0,06	0,06	0,05	0,06
1,00E+02	8,54E+01	Muestra clínica	0,07	0,08	0,07	0,07
1,00E+02	9,32E+01	ADN plasmídico	0,10	0,08	0,09	0,09
5,00E+01	4,27E+01	Muestra clínica	0,09	0,04	0,08	0,08

* Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de log₁₀. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.

Tabla 16 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (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+09	5,47E+08	ADN plasmídico	0,05	0,06	0,03	0,05
1,00E+08	5,47E+07	ADN plasmídico	0,03	0,04	0,03	0,04
1,00E+07	5,47E+06	ADN plasmídico	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+06	5,47E+05	ADN plasmídico	0,04	0,06	0,06	0,05
1,00E+05	5,47E+04	ADN plasmídico	0,04	0,03	0,03	0,04
2,00E+04	1,12E+04	Muestra clínica	0,10	0,07	0,08	0,08
2,00E+03	1,09E+03	ADN plasmídico	0,05	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Muestra clínica	0,03	0,14	0,03	0,09
1,00E+03	5,47E+02	ADN plasmídico	0,04	0,05	0,04	0,04
1,00E+02	5,62E+01	Muestra clínica	0,09	0,06	0,07	0,07
1,00E+02	5,47E+01	ADN plasmídico	0,05	0,07	0,04	0,06
5,00E+01	2,81E+01	Muestra clínica	0,07	0,06	0,10	0,08

* Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de log₁₀. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

[Handwritten signature]

[Handwritten signature]
Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.I.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

cobas® HBV

Tabla 17 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (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+08	1,28E+08	ADN plasmídico	0,04	0,05	0,03	0,04
1,00E+07	1,28E+07	ADN plasmídico	0,06	0,04	0,02	0,04
1,00E+06	1,28E+06	ADN plasmídico	0,03	0,04	0,04	0,03
1,00E+05	1,28E+05	ADN plasmídico	0,02	0,06	0,05	0,05
2,00E+04	1,71E+04	Muestra clínica	0,03	0,05	0,03	0,04
2,00E+03	2,57E+03	ADN plasmídico	0,05	0,06	0,05	0,05
1,00E+03	8,54E+02	Muestra clínica	0,07	0,05	0,03	0,05
1,00E+03	1,28E+03	ADN plasmídico	0,06	0,07	0,03	0,05
1,00E+02	8,54E+01	Muestra clínica	0,09	0,09	0,07	0,09
1,00E+02	1,28E+02	ADN plasmídico	0,06	0,09	0,11	0,09

* Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de log₁₀. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.

Tabla 18 Precisión intralaboratorio de la prueba cobas® HBV (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+09	7,92E+08	ADN plasmídico	0,04	0,03	0,03	0,04
1,00E+08	7,92E+07	ADN plasmídico	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+07	7,92E+06	ADN plasmídico	0,04	0,03	0,04	0,04
1,00E+06	7,92E+05	ADN plasmídico	0,03	0,05	0,04	0,04
1,00E+05	7,92E+04	ADN plasmídico	0,06	0,07	0,03	0,06
2,00E+04	1,12E+04	Muestra clínica	0,16	0,08	0,03	0,11
2,00E+03	1,58E+03	ADN plasmídico	0,05	0,04	0,05	0,05
1,00E+03	5,62E+02	Muestra clínica	0,07	0,04	0,04	0,05
1,00E+03	7,92E+02	ADN plasmídico	0,07	0,05	0,06	0,06
1,00E+02	5,62E+01	Muestra clínica	0,09	0,10	0,07	0,09
1,00E+02	7,92E+01	ADN plasmídico	0,08	0,09	0,09	0,08

* Se considera que los datos de título cuentan con una distribución log-normal y se analizan según la transformación de log₁₀. Las columnas de desviaciones estándar (SD) presentan el total del título log-transformado para cada uno de los tres lotes de reactivo.



Determinación y verificación del genotipo

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

- Determinación del límite de detección para los genotipos B-H y la mutación precore predominante con suero y plasma conservado en EDTA para volúmenes de procesamiento de 500 µl
- Verificación del límite de detección para los genotipos B-H y la mutación precore predominante con suero y plasma conservado en EDTA para volúmenes de procesamiento de 200 µl
- Verificación de la linealidad para los genotipos B-H y la mutación precore predominante

Límite de detección para los genotipos B-H y la mutación precore predominante

El límite de detección de la prueba cobas® HBV se determinó mediante el análisis de diluciones en serie para siete genotipos distintos (B, C, D, E, F, G, H) y la mutación precore predominante (G1896A; C1858T) en suero y plasma humano conservado en EDTA negativo al VHB con volúmenes de procesamiento de muestras de 500 µl. Se analizaron paneles con ocho niveles de concentración más uno negativo con tres lotes de reactivo de la prueba cobas® HBV, 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® HBV es capaz de detectar todos los genotipos del VHB analizados con un LoD similar al del genotipo A del VHB.

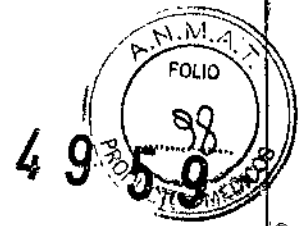
Tabla 19 Límite de detección para los genotipos de ADN del VHB en plasma conservado en EDTA (500 µl)

Genotipo	LoD del 95% mediante PROBIT	Intervalo de confianza del 95%
GT B	3,45 UI/ml	2,95 UI/ml-4,32 UI/ml
GT C	4,13 UI/ml	3,32 UI/ml-5,82 UI/ml
GT D	4,52 UI/ml	3,59 UI/ml-6,49 UI/ml
GT E	3,21 UI/ml	2,76 UI/ml-3,98 UI/ml
GT F	1,87 UI/ml	1,66 UI/ml-2,24 UI/ml
GT G	2,49 UI/ml	2,17 UI/ml-3,02 UI/ml
GT H	6,55 UI/ml	5,33 UI/ml-8,77 UI/ml
Mutación precore	2,38 UI/ml	2,08 UI/ml-2,90 UI/ml

Tabla 20 Límite de detección para los genotipos de ADN del VHB en suero (500 µl)

Genotipo	LoD del 95% mediante PROBIT	Intervalo de confianza del 95%
GT B	3,30 UI/ml	2,76 UI/ml-4,30 UI/ml
GT C	3,34 UI/ml	2,83 UI/ml-4,23 UI/ml
GT D	2,59 UI/ml	2,17 UI/ml-3,42 UI/ml
GT E	2,67 UI/ml	2,25 UI/ml-3,49 UI/ml
GT F	1,98 UI/ml	1,72 UI/ml-2,45 UI/ml
GT G	2,07 UI/ml	1,75 UI/ml-2,66 UI/ml
GT H	3,48 UI/ml	2,89 UI/ml-4,60 UI/ml
Mutación precore	1,65 UI/ml	1,43 UI/ml-2,03 UI/ml

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



cobas® HBV

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

Se diluyeron las muestras clínicas de ADN del VHB de todos los genotipos (B, C, D, E, F, G, H) y la mutación precore predominante (G1896A; C1858T) en tres concentraciones distintas de 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 reactivo de la prueba cobas® HBV. 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® HBV puede detectar ADN del VHB para los siete genotipos distintos y la mutación precore predominante en concentraciones de 12,50 UI/ml con una tasa de positividad de $\geq 93,65\%$ y un intervalo de confianza unilateral superior del 95% de 97,80%.

Tabla 21: Verificación del límite de detección de los genotipos de ADN del VHB en plasma conservado en EDTA (200 µl)

Genotipo	6,25 UI/ml			12,50 UI/ml			18,75 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%*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	45	71,43 (80,65)	63	62	98,41 (99,92)	62	62	100,00 (100,00)
D	61	49	80,33 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	62	61	98,39 (99,92)
E	63	51	80,95 (88,63)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	54	85,71 (92,34)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
G	63	46	73,02 (82,02)	63	63	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	33	52,38 (63,26)	63	59	93,65 (97,80)	63	59	93,65 (97,80)
Mutación precore	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Intervalo de confianza unilateral superior del 95%

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

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

Tabla 22 Verificación del límite de detección para los genotipos de ADN del VHB en suero (200 µl)

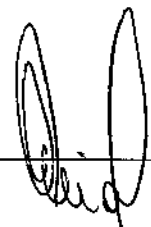
Genotipo	6,25 UI/ml			12,50 UI/ml			18,75 UI/ml		
	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de posit. en % (IC del 95%*)
B	63	51	80,95 (88,63)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
C	63	54	85,71 (92,34)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
D	63	53	84,13 (91,13)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)
E	63	54	85,71 (92,34)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
F	63	59	93,65 (97,80)	63	63	100,00 (100,00)	62	62	100,00 (100,00)
G	63	59	93,65 (97,80)	62	62	100,00 (100,00)	63	63	100,00 (100,00)
H	63	47	74,60 (83,37)	63	61	96,83 (99,43)	63	62	98,41 (99,92)
Mutación precore	63	60	95,24 (98,66)	63	62	98,41 (99,92)	63	63	100,00 (100,00)

* Intervalo de confianza unilateral superior del 95%

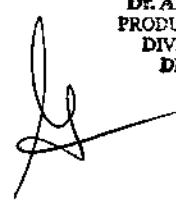
Linealidad para los genotipos B-H y la mutación precore predominante

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 10 miembros que cubre el intervalo lineal esperado. Los miembros del panel con título alto se prepararon a partir de un stock de ADN plasmídico de título elevado, mientras que los miembros del panel con título más bajo se prepararon a partir de una muestra clínica de título elevado. El panel de linealidad se diseñó para que existiera una superposición de títulos aproximada de 2 log₁₀ entre los dos materiales de origen. El intervalo lineal de la prueba cobas® HBV abarca desde el LLoQ (10 UI/ml para un volumen de procesamiento de muestras de 500 µl, 25 UI/ml para un volumen de procesamiento de muestras de 200 µl) hasta el ULoQ (1,00E+09 UI/ml) e incluía al menos un punto de decisión médica. Se analizaron quince réplicas con los tres lotes de reactivo de la prueba cobas® HBV con cada nivel de suero y plasma conservado en EDTA.

Se verificó la linealidad del intervalo lineal de la prueba cobas® HBV para los siete genotipos (B, C, D, E, F, G, H) y la mutación precore predominante (G1896A; C1858T). La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue igual o menor que ± 0,2 log₁₀.



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



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 300 muestras individuales de plasma conservado en EDTA y 300 muestras individuales de suero (600 resultados totales) con dos lotes de reactivo de la prueba cobas® HBV. Todas las muestras dieron negativo para ADN del VHB. En el panel de la prueba, la especificidad de la prueba cobas® HBV fue del 100% (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 microorganismos en plasma conservado en EDTA positivo para ADN del VHB y negativo para ADN del VHB. Los microorganismos se añadieron al plasma humano conservado en EDTA negativo al virus y se analizaron con y sin ADN del VHB. Ninguno de los patógenos distintos del VHB interfirió en el rendimiento de la prueba. La prueba cobas® HBV generó resultados negativos para todas las muestras de microorganismos sin fragmento objetivo del VHB y resultados positivos para todas las muestras de microorganismos con fragmento objetivo del VHB. Además, el título log₁₀ medio de cada una de las muestras positivas para el VHB con organismos de posible reacción cruzada se situó en ± 0,3 log₁₀ del título log₁₀ medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 23 Microorganismos analizados para reactividad cruzada

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

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 ADN del VHB. El análisis de las sustancias interferentes endógenas demostró que no interferían con el rendimiento de la prueba cobas® HBV.

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

También se analizaron los compuestos farmacológicos de la Tabla 24 con una concentración 3 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 \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas para el VHB con sustancias potencialmente interferentes se situó en $\pm 0,5 \log_{10}$ del título \log_{10} medio del control positivo respectivo añadido.

Tabla 24 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	Peginterferón α -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	Telbivudina
	Foscarnet	Zidovudina
	Cidofovir	Aciclovir
	Lamivudina	Valganciclovir
	Ganciclovir	Sofosbuvir
Compuestos para el tratamiento de infecciones oportunistas	Azitromicina	Pirazinamida
	Claritromicina	Rifabutina
	Etambutol	Rifampicina
	Fluconazol	Sulfametoxazol
	Isoniazida	Trimetoprima

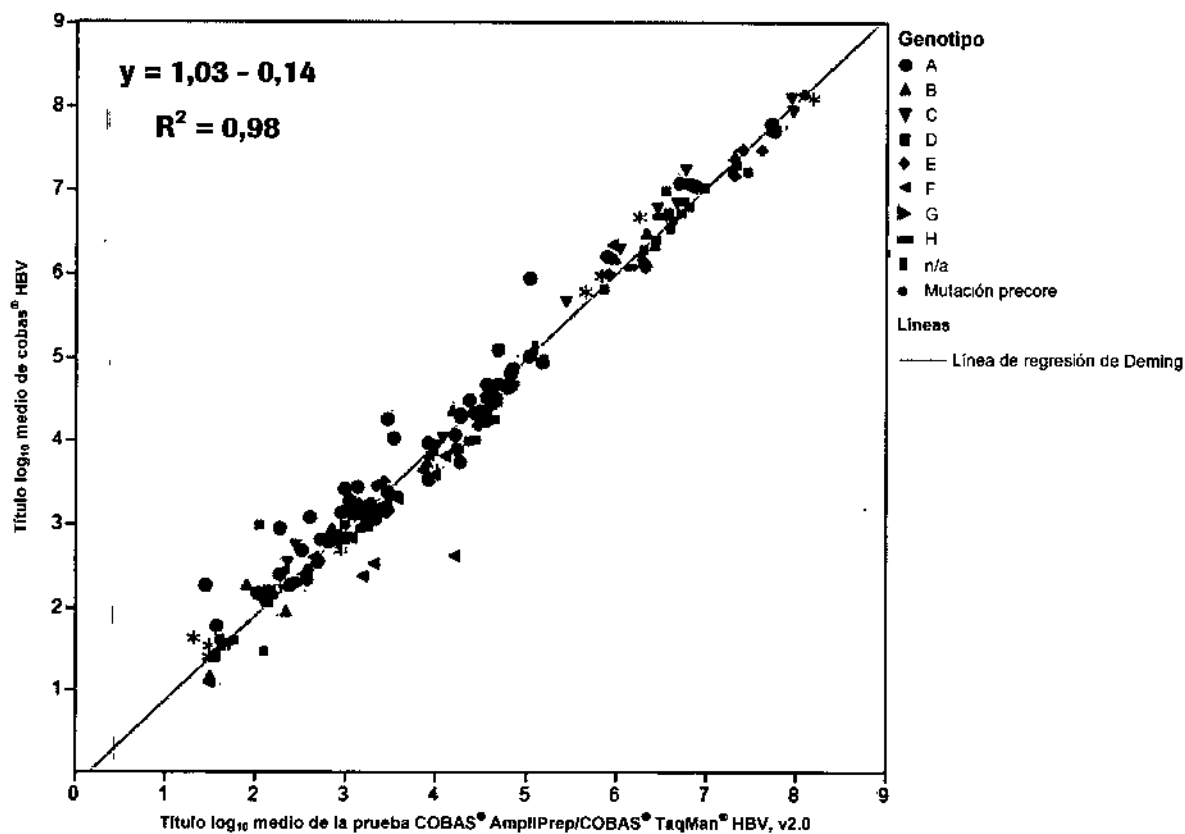
Correlación de métodos

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

El rendimiento de la prueba cobas® HBV y la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV, v2.0 (prueba TaqMan® HBV, v2.0) se comparó mediante el análisis de muestras de suero y plasma conservado en EDTA de pacientes infectados por el VHB. Un total de 103 muestras de plasma conservado en EDTA y 85 muestras de suero de todos los genotipos del VHB, 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 $-0,03 \log_{10}$.

Los resultados de la regresión de Deming se muestran en la Ilustración 7.

Ilustración 7 Análisis de regresión de la prueba cobas® HBV vs TaqMan® HBV, v2.0 en muestras de suero y plasma conservado en EDTA

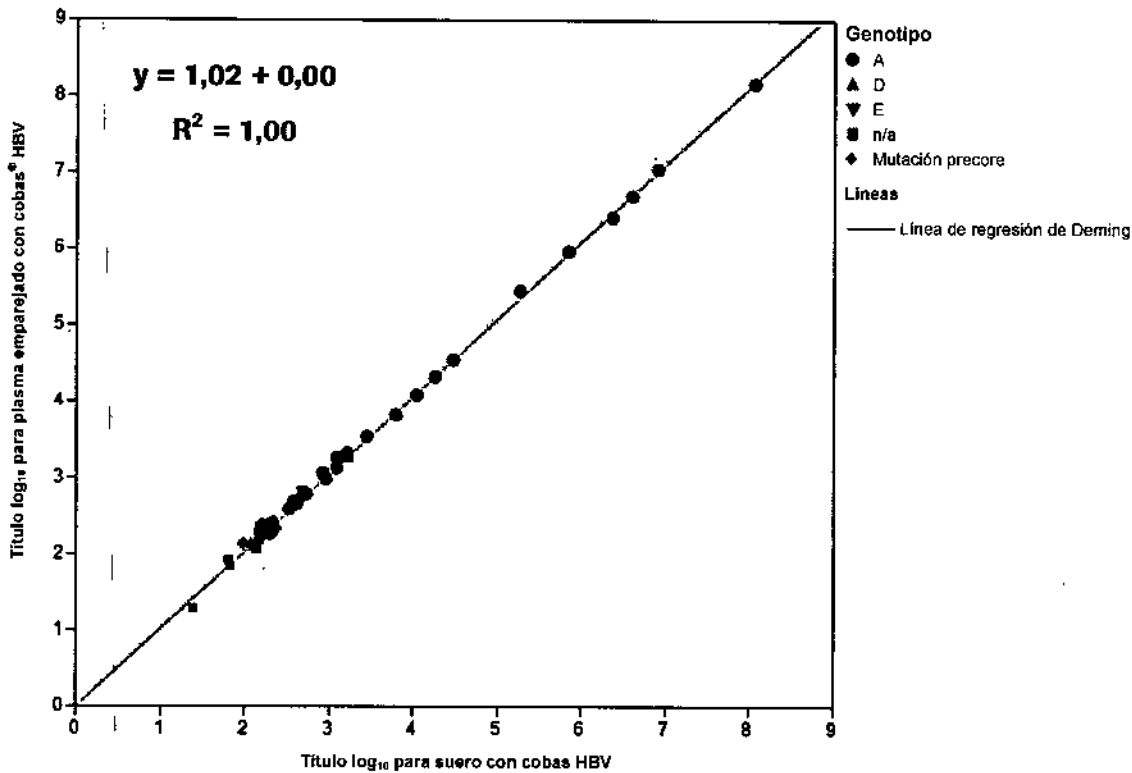


Equivalencia de matrices: plasma conservado en EDTA frente a suero

Se analizaron 50 muestras de plasma conservado en EDTA y suero emparejadas para determinar la equivalencia de matrices. Las muestras positivas para el VHB cubrían la mayoría de los genotipos con unos títulos comprendidos en todo el intervalo lineal.

La equivalencia de matrices en las muestras analizadas presenta una desviación de título media de 0,05 log₁₀ (Ilustración 8).


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

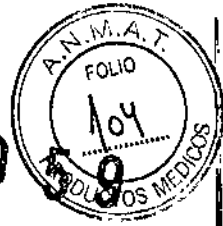


Fallo de todo el sistema

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 y 100 réplicas de suero a las que se añadió VHB, lo que supone un total de 200 réplicas. Estas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 x LoD. El estudio se realizó mediante el cobas® 6800 System.

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron reactivas para cada fragmento objetivo, 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%].


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



4958

103

cobas® HBV

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba cobas® HBV se determinó mediante el análisis de 240 réplicas de una muestra de plasma humano normal conservado en EDTA negativa al virus (VIH, VHC y VHB) y de 225 réplicas de una muestra de VHB con un título alto de 1,00E+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.

Las 240 réplicas de la muestra negativa resultaron no reactivas, por lo que la tasa de contaminación por arrastre es del 0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0% para el límite inferior y del 1,53% para el límite superior [0%: 1,53%].

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		<u>500 µl</u>	<u>200 µl</u>
	Plasma conservado en EDTA	2,7 UI/ml	15,5 UI/ml
	Suero	2,4 UI/ml	12,5 UI/ml
Intervalo lineal	500 µl:	10 UI/ml-1,0E+09 UI/ml	
	200 µl:	25 UI/ml-1,0E+09 UI/ml	
Especificidad	100% (intervalo de confianza unilateral del 95%: 99,5%)		
Genotipos detectados	Genotipos A-H del VHB y mutación precore predominante		

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

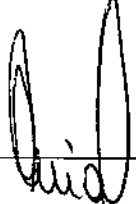
Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

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		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



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

Fabricante y distribuidores

Tabla 26 Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics (Schweiz) AG
 Industriestrasse 7
 68343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

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

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

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

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.



0123

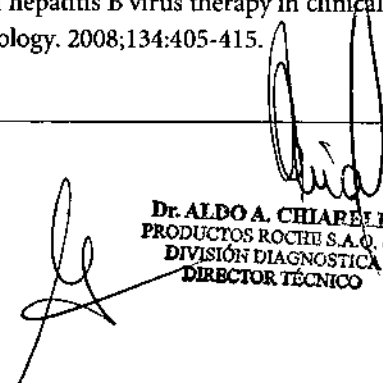
[Signature]
Dr. ALDO A. CHIARELLI
 PRODUCTOS ROCHE S.A. de C.V.
 DIVISION DIAGNOSTICA
 DIRECTOR TÉCNICO

Bibliografia

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. But 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. Sorrell MF, Belongia EA, Costa J, et al. National Institutes of Health consensus development conference statement: management of hepatitis B. *Ann Intern Med.* 2009;49:S4-S10.
12. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
13. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.
14. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene.* 1990;93:125-128.
15. 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.

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0


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



cobas® HBV

16. 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.
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.

✓

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

4958



cobas® HBV

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 1.0 01/2015	Primera publicación.

07175434001-01ES

Doc Rev. 1.0

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



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 1-47-3110-2798/15-1

Se autoriza a la firma PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e I. (División Diagnóstica) a importar y comercializar el Producto para diagnóstico de uso in vitro denominado COBAS® HBV (Nº de catálogo:7000979)/ PRUEBA DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DEL ADN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB) EN PLASMA HUMANO CONSERVADO EN EDTA O SUERO DE PACIENTES INFECTADOS CON VHB, EN LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS. En envases conteniendo: CASSETTE INTEGRAL DE REACTIVOS PARA 96 DETERMINACIONES. Vida útil: DIEZ (10) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C. Se le asigna la categoría: venta a Laboratorios de análisis clínicos por hallarse en las condiciones establecidas en la Ley Nº 16.463 y Resolución Ministerial Nº 145/98. Lugar de elaboración: ROCHE MOLECULAR SYSTEMS, INC. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA) . En las etiquetas de los envases, anuncios y prospectos deberá constar PRODUCTO PARA DIAGNOSTICO USO IN VITRO AUTORIZADO POR LA ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA MEDICA. Certificado nº **008399**

[Handwritten signature and initials]

//..
ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGIA
MEDICA

Buenos Aires, 03 MAYO 2016



Firma y sello

DR. ROBERTO LEBE
Subadministrador Nacional
A.N.M.A.T.