



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

"2016 - Año del Bicentenario de la Declaración de la Independencia Nacional"

DISPOSICIÓN Nº

5 8 5 6

BUENOS AIRES

31 MAY 2016

VISTO, el expediente nº 1-47-3110-3455/15-2 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® DPX/ PRUEBA PARA LA CUANTIFICACIÓN DIRECTA DEL ADN DE LOS GENOTIPOS 1, 2 y 3 DEL PARVOVIRUS B19 Y LA DETECCIÓN CUALITATIVA DIRECTA DEL ARN DE LOS GENOTIPOS I, II y III DEL VIRUS DE LA HEPATITIS A (VHA) EN PLASMA HUMANO, CON LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS. 2) COBAS® DPX CONTROL KIT/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LA PRUEBA COBAS® DPX.

Que a fs. 253 consta el informe técnico producido por el Servicio de Productos para Diagnóstico que establece que los productos reúnen las condiciones de aptitud requeridas para su autorización.

Que 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 16.463, Resolución Ministerial Nº 145/98 y Disposición ANMAT Nº 2674/99.



DISPOSICIÓN N°

5 8 5 6

Que se actúa en virtud a 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 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® DPX/ PRUEBA PARA LA CUANTIFICACIÓN DIRECTA DEL ADN DE LOS GENOTIPOS 1, 2 y 3 DEL PARVOVIRUS B19 Y LA DETECCIÓN CUALITATIVA DIRECTA DEL ARN DE LOS GENOTIPOS I, II y III DEL VIRUS DE LA HEPATITIS A (VHA) EN PLASMA HUMANO, CON LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS. 2) COBAS® DPX CONTROL KIT/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LA PRUEBA COBAS® DPX que serán elaborados 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 importados por PRODUCTOS ROCHE S.A.Q.e I. (DIVISIÓN DIAGNÓSTICA) a expenderse en envases conteniendo 1) (N° de catálogo: 07001088190) CASSETTE INTEGRAL DE REACTIVOS PARA 96 DETERMINACIONES; 2) (N° de catálogo: 07001126190) ENVASES CONTENIENDO: CONTROL POSITIVO DUAL PARA DPX (DPX D [+] C: 8 x 1 ml) Y CONTROL POSITIVO ALTO PARA DPX (DPX H [+] C: 8 x 1 ml); cuya composición se detalla a fojas 29 a 31 con un período de vida útil de 1) 13 (TRECE) meses, desde la fecha de elaboración conservado



DISPOSICIÓN N°

5 8 5 6

entre 2 y 8 °C; 2) 17 (DIECISIETE) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C.

ARTICULO 2º.- Acéptense los rótulos y manual de instrucciones obrantes a fojas 64 a 212, desglosándose las fojas 81 a 130 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 nº: 1-47-3110-3455/15-2.

DISPOSICIÓN N°:

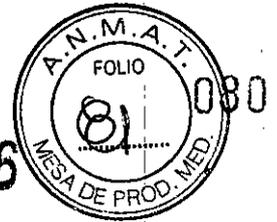
av.

5 8 5 6

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

PROYECTO DE RÓTULO INTERNO

5856



**Cont.**

MiniRack

x 4

DPX H(+)**C**

8 mL (8 x 1 mL)

DPX D(+)**C**

8 mL (8 x 1 mL)

31 MAY 2016

**cobas<sup>®</sup> DPX CTL** 07001126190

$\Sigma_2$  2°C 8°C

**IVD**

07173911001-01

**LOT**

Manufactured in the United States  
Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim, Germany

**cobas<sup>®</sup>** 06457142001

1.0 mL

**DPX D(+)**C****

2-8°C

Manufactured in the United States  
Roche Diagnostics GmbH  
68305 Mannheim, Germany

**LOT**

07205287001-01

**cobas<sup>®</sup>** 06457177001

1.0 mL

**DPX H(+)**C****

2-8°C

Manufactured in the United States  
Roche Diagnostics GmbH  
68305 Mannheim, Germany

**LOT**

07205295001-01

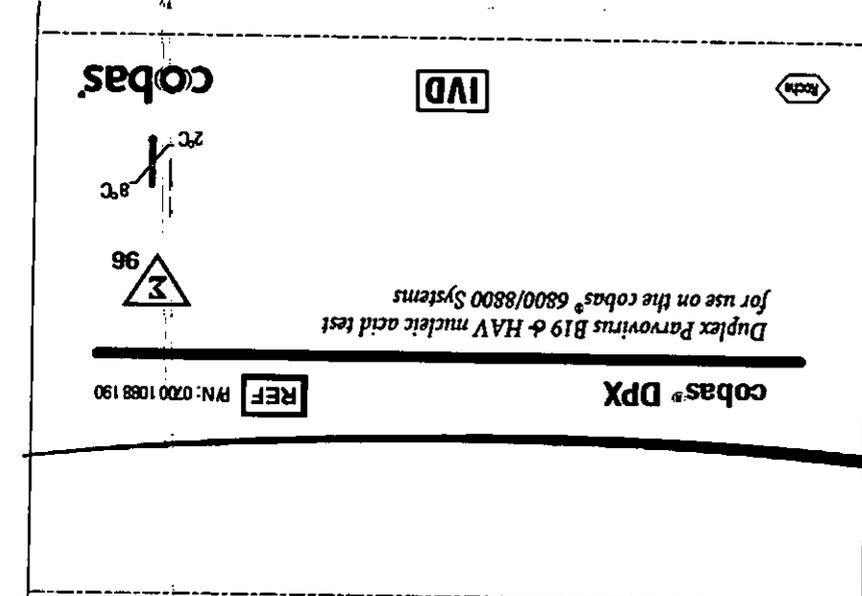
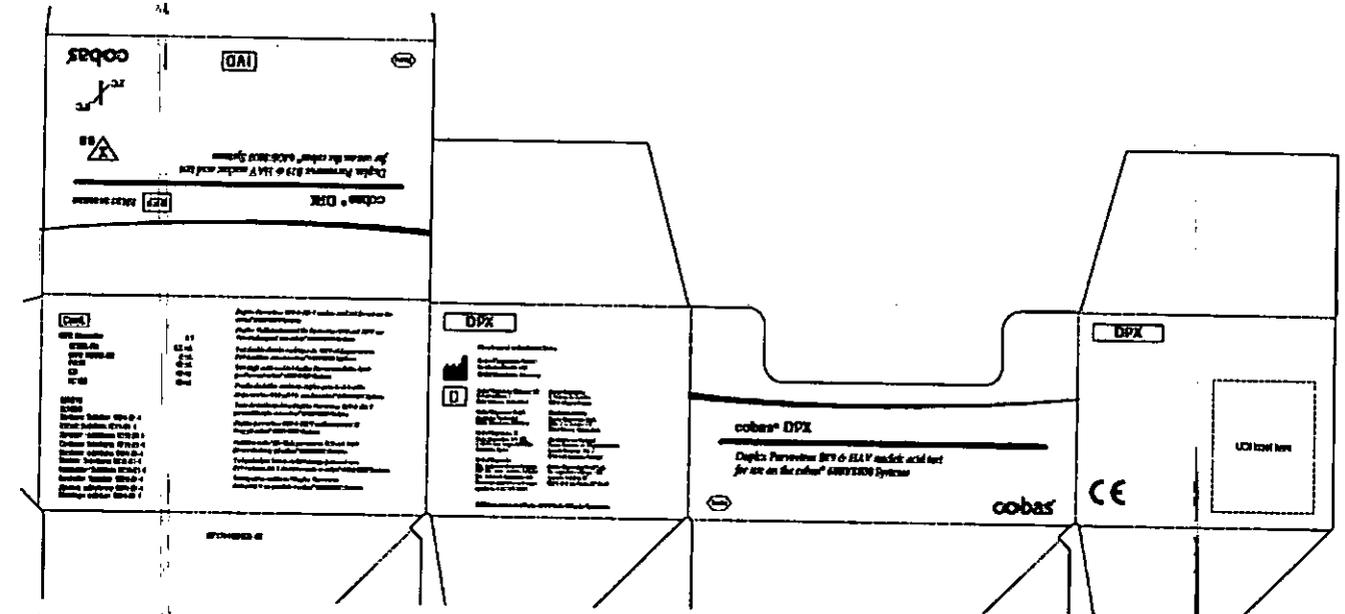
Este producto no cuenta con un Manual de Instrucciones específico, la información de uso se encuentra en el Manual del cobas DPX (catálogo N° 7001088 - 96 pruebas)

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

PROYECTO DE RÓTULO:

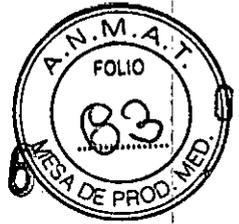
5856

cobas DPX (catálogo N° 7001088 - 96 pruebas)



Cont.		
DPX Cassette	x 1	Duplex Parvovirus B19 & HAV nucleic acid test for use on the cobas® 6800/8800 Systems
MMX-R1	6.5 mL	Duplex-Nachkittanzymant für Parvovirus B19 und HAV zur Verwendung auf den cobas® 6800/8800 Systems
DPX MMX-R2	6 mL	Test double d'acides nucléiques de HAV et du parvovirus B19 à utiliser avec les cobas® 6800/8800 Systems
PA5E	13 mL	Test degli acidi nucleici duplex Parvovirus B19 e HAV per l'uso sui cobas® 6800/8800 Systems
EB	13 mL	Prueba de ácidos nucleicos duplex para la detección de parvovirus B19 y HVA con los cobas® 6800/8800 Systems
IC QS	13 mL	Teste de ácido nucleico Duplex Parvovirus B19 e HAV para utilização nos cobas® 6800/8800 Systems
ELH210		Duplex parvovirus B19 & HAV nakleinsyrentsi kl izryz pl cobas® 6800/8800 Systems
ELH206		Nachkittanzymant für beide parvovirus B19 und HAV für Verwendung pl cobas® 6800/8800 Systems
Contenido: Subtilisin, 9014-01-1		Test podwójny kwasu nukleinowego parvovirus B19 i wirusa HAV do stosowania w cobas® 6800/8800 Systems
Enzima: Subtilisin, 9014-01-1		Test kyselicy rozkladovej Duplex Parvovirus B19 e HAV na použitie v cobas® 6800/8800 Systems
Contenido: subtilisina, 9014-01-1		

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



585

82

**DPX**

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Straße 118  
68305 Mannheim, Germany



Roche Diagnostics (Belgium) AC  
Industrieweg 7  
6130 Wilrijk, Belgium

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Straße 118  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, S.L.  
Avenida Compañías, 171-172  
E-08190 Sant Cugat del Valles  
Barcelona, Spain

Roche Diagnostics  
201, Boulevard Armand-Frappeur  
P.O. Box 402, Quebec, Canada  
For technical assistance visit:  
http://www.roche.com/techsupport  
contact us: 1-877-370-3000

Roche Diagnostics  
X. Avenue de l'Europe  
33000 Merxheim, France

Distributore in Italia  
Roche Diagnostics SpA  
Via C. G. Baccioli 119  
33030 Sova, Udine, Italy

Distribuidor em Portugal  
Roche Sistemas de Diagnóstico Lda  
Rua da Moura, 193-1  
2220-412 Amadora, Portugal

Roche Diagnostics Brasil Ltda  
Av. Engenheiro Villages, 1129  
Jardim, Building III  
05321-410 São Paulo, SP, Brazil

COBAS is a trademark of Roche. ©2014 Roche Molecular Systems, Inc.



**cobas<sup>®</sup> DPX**

*Duplex Parvovirus B19 & HAV nucleic acid test  
for use on the cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems*

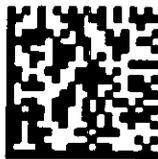
**cobas<sup>®</sup>**

**DPX**

UDI label here



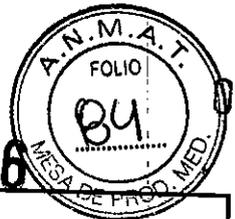
La caja de este producto incluirá las siguientes etiquetas



**GTIN** 00875197804922  
Global Trade Item Number  
**LOT** Z12345  
 2035-01-31  
07801029198-01

(En el lugar donde dice UDI label here)

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



585

083

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

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

Certificado N°:

Asimismo, dentro de la caja se incluirá esta tarjeta:

**cobas<sup>®</sup> DPX**

**KIT / DPX Cassette**

**LOT**



**DPX**

**IVD**



**cobas<sup>®</sup> DPX ASAP Version 8.0.0 or higher**

**cobas<sup>®</sup> 6800/8800 System Software Version 1.0.0 or higher**



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

Method Sheet Catalog No.: 07001088190 Doc Rev. 1.0

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



Manufactured in the United States

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Straße 116  
68305 Mannheim, Germany

**Print Form**

07175345001-01

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

5856



PROYECTO DE RÓTULOS INTERNOS:

**cobas<sup>®</sup> DPX** 07001088190

$\Sigma$  96 2°C 8°C

**IVD** **LOT** 07173989001-01

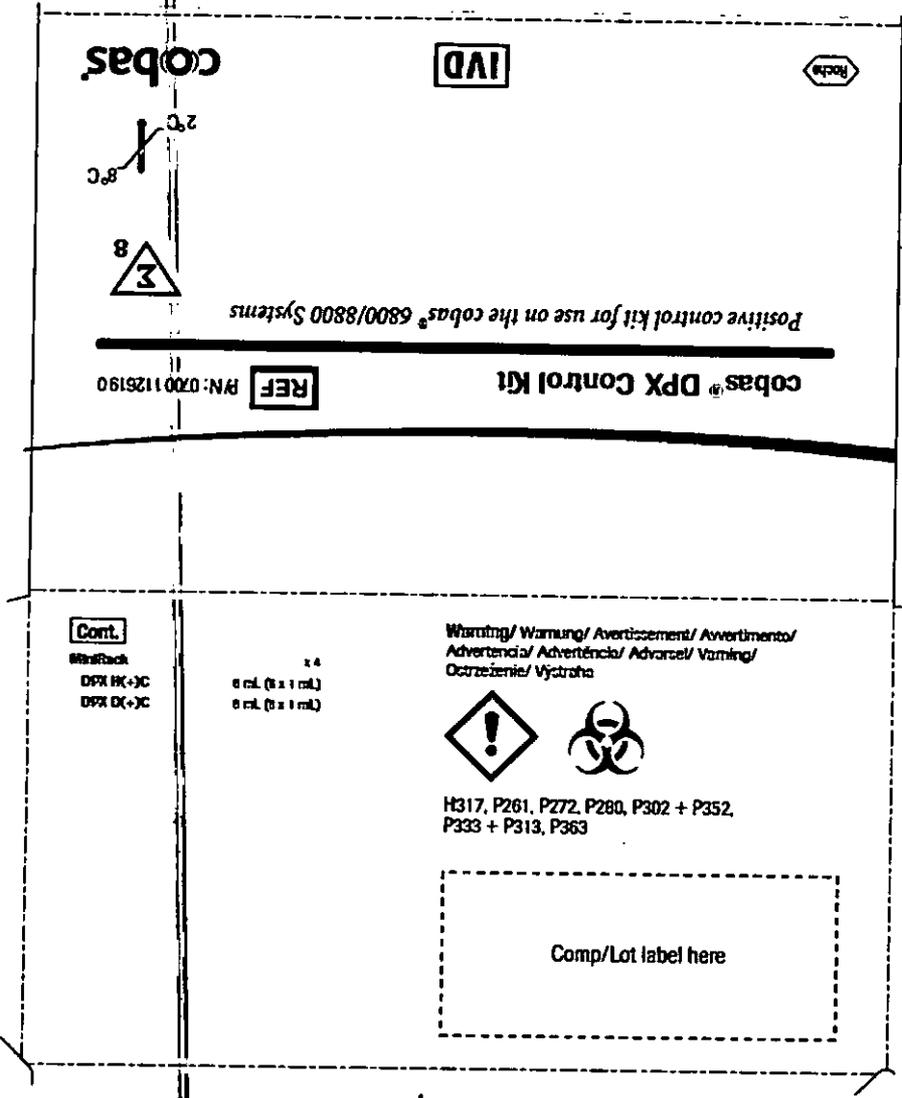
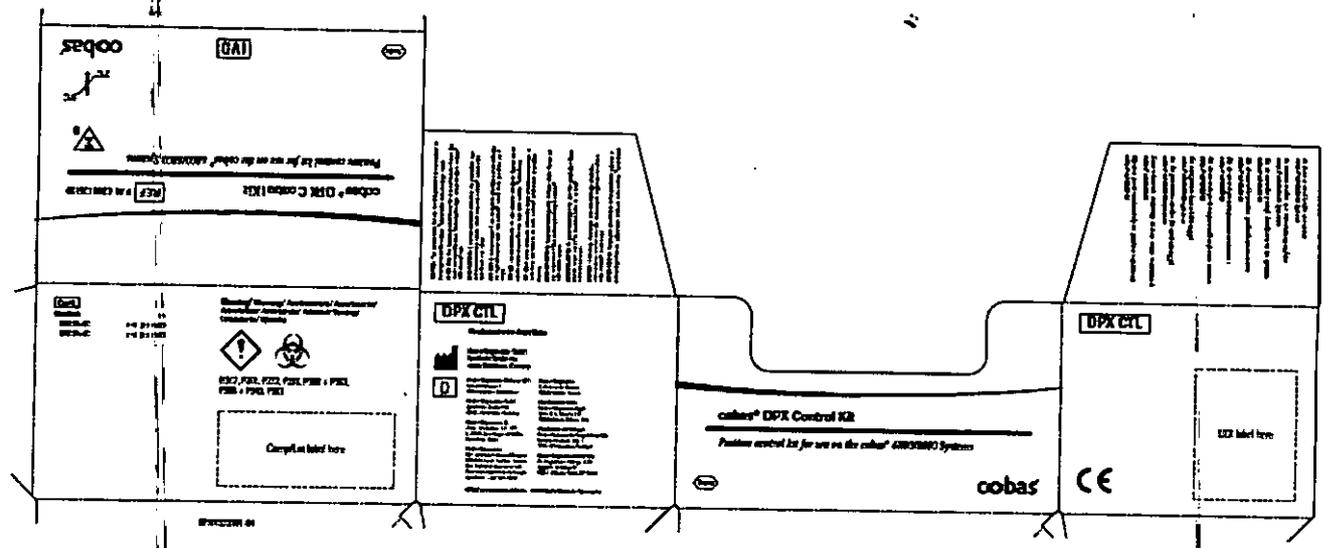
Manufactured in the United States  
Roche Diagnostics GmbH, 68305 Mannheim, Germany



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

PROYECTO DE RÓTULO:

cobas CMV Control Kit (catálogo N° 7001037)



*[Handwritten signature]*

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

5856



086

**NOTICE:** The instructions for use for this product are contained in the insert specific to each cobas® 6800/8800 test package insert.

**HINWEIS:** Die Gebrauchsanleitung für dieses Produkt finden Sie in der jeweiligen Produktanweisung für das jeweilige cobas® 6800/8800-System.

**INDICAZIONE:** Le istruzioni d'uso per questo prodotto sono contenute nel foglio illustrativo del test cobas® 6800/8800 specifico per il test.

**AVISO:** Os instruções de uso do este produto (iguais em el idioma espanhol) encontram-se no manual do produto cobas® 6800/8800.

**AVISO:** As instruções de utilização deste produto encontram-se no folheto informativo do teste cobas® 6800/8800 específico do teste.

**DE WAERKUNING:** Gebruiksaanwijzingen zijn te vinden in de productinstructies op de testverpakking of het gebruiksaanwijzing bij de test.

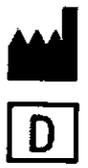
**ME ODELJANDJE:** Brojuevanjungen fir dem här produktin finns på den testverpackning eller produktanvisning till testerna.

**UWAGA:** Instrukcje dotyczące stosowania tego produktu umieszczone są w ulotkach dołączonych do pakietów testów lub w instrukcji obsługi testu cobas® 6800/8800.

**CONVENCIENTE:** Poljer y no pouzvania tohto produktu nájdeť v prílohu špecifickom pre každý test k testu cobas® 6800/8800.

# DPX CTL

Manufactured in the United States



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Straße 118  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics (Schweiz) AG  
Industriestrasse 7  
6340 Rodgau, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Straße 118  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL  
Avenida Generalitat, 174-173  
E-08048 Sant Cugat del Valles  
Barcelona, Spain

Roche Diagnostics  
731, boulevard Armand-Frappier  
Riv. Ste Luce, Quebec, Canada  
For Technical Assistance call:  
Pour toute assistance technique,  
appeler le: 1-877-873-3413

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Verney  
38210 Meylan, France

Distributore in Italia:  
Roche Diagnostics S.p.A.  
Viale G. B. Strocchi 110  
20122 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:  
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.  
Estrada Nacional, 219-3  
2720-413 Amadora, Portugal

Roche Diagnostics Brazil Ltda.  
Av Engenheiro Götting, 1729  
Jaguari, Building 10  
05312-010 São Paulo, SP, Brazil

COBAS is a trademark of Roche. ©2014 Roche Molecular Systems, Inc.

Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 systems.  
Produktionsnummer: 68002800-0000  
Kit de controle positivo para uso em cobas® 6800/8800.  
Kit de controllo positivo per l'uso su cobas® 6800/8800.  
Kit de control positivo para uso en cobas® 6800/8800.  
Kit de controle positivo para uso em cobas® 6800/8800.  
Kit de control positivo para uso en cobas® 6800/8800.  
Kit de controle positivo para uso em cobas® 6800/8800.  
Kit de control positivo para uso en cobas® 6800/8800.  
Zkratka a číslo funkčního rozvozu v systému cobas® 6800/8800.  
Skrótka i numeracja testów w systemie cobas® 6800/8800.

# DPX CTL

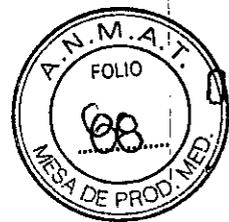
UDI label here

**cobas® DPX Control Kit**  
Positive control kit for use on the cobas® 6800/8800 Systems



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

5 8 5 6



La caja de este producto incluirá las siguientes etiquetas



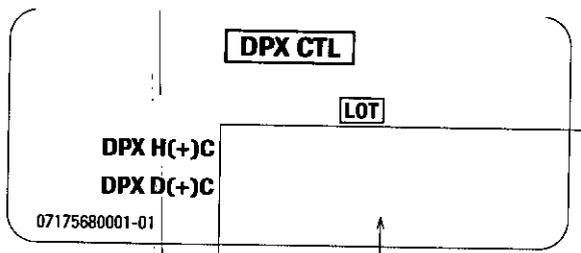
**GTIN** 00875197004939  
Global Trade Item Number

(En el lugar donde dice UDI label here)

**LOT** Z12345

2035-01-31

07001037190-01



(En el lugar donde dice comp/lot label here)

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

**“Autorizado por la A.N.M.A.T.”**

Certificado N°:

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

5 8 5 6



089

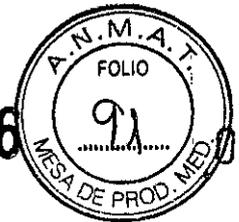
# MANUAL DE INSTRUCCIONES

A handwritten signature in the bottom left corner of the page.

A handwritten signature in the bottom right corner, corresponding to the typed name below.

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

5 8 5 6



090

**cobas<sup>®</sup>**

## **cobas<sup>®</sup> DPX**

---

**Prueba duplex para ácidos nucleicos  
del VHA y el parvovirus B19**

**Para uso en los cobas<sup>®</sup> 6800/8800 Systems**

*Para diagnóstico in vitro*

**cobas<sup>®</sup> DPX - 96**

P/N: 07001088190

**cobas<sup>®</sup> DPX Control Kit**

P/N: 07001126190

**cobas<sup>®</sup> Buffer Negative Control Kit**

P/N: 07002238190

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

## Tabla de contenido

<b>Uso previsto .....</b>	<b>4</b>
<b>Resumen y explicación de la prueba.....</b>	<b>4</b>
<b>Reactivos y materiales.....</b>	<b>8</b>
Reactivos y controles de cobas' DPX .....	8
Reactivos cobas omni para la preparación de muestras.....	11
Requisitos de almacenamiento y manipulación.....	12
Material adicional necesario.....	13
Instrumentos y software necesarios.....	13
<b>Precauciones y requisitos de manipulación .....</b>	<b>14</b>
Advertencias y precauciones.....	14
Manipulación de reactivos .....	15
Buenas prácticas de laboratorio.....	15
<b>Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras .....</b>	<b>16</b>
Muestras de donantes vivos .....	16
<b>Instrucciones de uso .....</b>	<b>18</b>
Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional).....	18
Definición del valor de corte para el parvovirus B19 .....	18
Notas sobre el procedimiento.....	18
Realización de la prueba cobas' DPX.....	19
<b>Resultados .....</b>	<b>20</b>
Control de calidad y validez de los resultados.....	20
Interpretación de los resultados .....	21
Repetición de pruebas de muestras individuales .....	22
Limitaciones del procedimiento.....	22
<b>Evaluación no clínica del rendimiento .....</b>	<b>23</b>
Características clave de rendimiento - Muestras de donantes vivos .....	23
Límite de detección (LoD).....	23



cobas® DPX

Intervalo lineal para la cuantificación del parvovirus B19.....24

Reproducibilidad.....25

Precisión.....26

Inclusividad de genotipos del VHA.....27

Verificación del genotipo del parvovirus B19.....28

Especificidad analítica.....29

Especificidad analítica: sustancias interferentes.....30

Correlación.....31

Fallo de todo el sistema.....32

Contaminación por arrastre.....32

**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 ..... 40

## Uso previsto

La prueba cobas® DPX es una prueba *in vitro* para la cuantificación directa del ADN de los genotipos 1, 2 y 3 del parvovirus B19 y la detección cualitativa directa del ARN de los genotipos I, II y III del virus de la hepatitis A (VHA) en plasma humano.

La prueba se ha diseñado como una prueba durante el proceso para cuantificar solamente el ADN del parvovirus B19 o bien para cuantificar el ADN del parvovirus B19 y detectar el ARN del VHA simultáneamente en plasma para su elaboración posterior procedente de donantes de sangre entera, componentes sanguíneos o plasma. El plasma de todos los donantes o de los pools de elaboración se puede analizar como muestras individuales o en pools formados por alícuotas de muestras individuales.

Esta prueba no está diseñada para su uso en muestras de sangre del cordón umbilical.

Esta prueba no está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico del parvovirus B19 o VHA.

## Resumen y explicación de la prueba

### Antecedentes: cribado de sangre para la detección de infecciones virales que pueden transmitirse por transfusión

El parvovirus humano B19 es un virus pequeño, sin envoltura, con ADN monocatenario, que pertenece al género *Erythrovirus* de la familia *Parvoviridae*.<sup>1</sup> Los eritrovirus humanos se agrupan en tres genotipos distintos: genotipo 1 (cepas B19), genotipo 2 (cepas A6) y genotipo 3 (cepas V9/D91/1).<sup>2,3</sup> Prácticamente todas las muestras de virus pertenecen al genotipo 1.<sup>1</sup> El genotipo 2 se encuentra esporádicamente en Estados Unidos, Europa y América del Sur, especialmente en pacientes nacidos antes del año 1940.<sup>1</sup> El genotipo 3 se detecta principalmente en África del Norte y del Oeste, aunque también ha sido identificado en Francia.<sup>1</sup>

El parvovirus B19 es un patógeno común de distribución global. La prevalencia de anticuerpos anti-IgG B19 en circulación, que indica una infección pasada, aumenta con la edad y oscila entre el 20%, en niños de entre 1 y 4 años, más de un 60% en adultos y un máximo de un 85% en la población geriátrica.<sup>4-6</sup> A pesar de que los anticuerpos son prevalentes en la población general, la viremia o presencia de ADN viral es poco frecuente.<sup>4</sup> La manifestación y gravedad de la enfermedad clínica depende del estado inmunológico y hematológico del sujeto infectado.<sup>1,7,8</sup> En pacientes inmunocompetentes, la infección suele ser asintomática o presentarse como una enfermedad leve y pasajera, que incluye el eritema infeccioso ("quinta enfermedad") en niños o la artropatía en adultos.<sup>1,7,9,10</sup> No obstante, el parvovirus B19 puede provocar enfermedades graves como la anemia aplásica transitoria en pacientes con trastornos hematológicos o hidropesía fetal, anemia congénita y pérdida fetal en mujeres embarazadas.<sup>1,7,11-13</sup> La prevalencia del parvovirus B19 en donantes de sangre o plasma oscila entre un 0,16% y un 0,9%, y la mayoría presenta niveles muy bajos de ADN viral.<sup>14-18</sup> Los estudios realizados en el sector de la fabricación de plasma indican una prevalencia baja.<sup>19</sup>

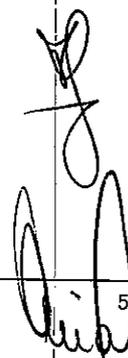
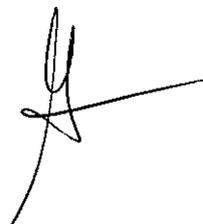
El parvovirus B19 se transmite normalmente por vía respiratoria, aunque también puede transmitirse mediante productos de plasma y la transfusión de glóbulos rojos.<sup>1,20</sup> La bibliografía existente describe ampliamente los métodos para la detección del ADN del parvovirus B19 en productos plasmáticos (así como su transmisión a receptores), incluido el concentrado del Factor VIII, otros factores de coagulación y pools de plasma tratados con solvente/detergente.<sup>20-30</sup> La transmisión relacionada con productos plasmáticos se ha relacionado con el tamaño de los pools de plasma; la incidencia de infecciones agudas por parvovirus B19 sin manifestación clínica; altos niveles de ADN viral (hasta  $10^{12}$  UI/ml) en donaciones virémicas; y resistencia del parvovirus B19 a la mayoría de pasos habituales de inactivación viral de

eliminación como el tratamiento con solvente/detergente (S/D) o la pasteurización.<sup>20,21,27-30</sup> Se han detectado muy pocos casos clínicos de transmisión del parvovirus B19 a partir de transfusiones de glóbulos rojos.<sup>20</sup> Además, la transmisión a receptores de componentes con niveles entre bajos y moderados de ADN del parvovirus B19 ( $< 10^6$  UI/ml) es extremadamente poco frecuente.<sup>20</sup>

El VHA es un virus ARN pequeño y sin envoltura (desnudo) que pertenece al grupo Hepatovirus de la familia *Picornaviridae*.<sup>31</sup> El VHA tiene una distribución global y se transmite por vía oral-fecal, básicamente por el contacto personal estrecho.<sup>32-34</sup> Se han identificado varios genotipos y subtipos.<sup>34</sup> Las epidemias suelen ser habituales en los países en desarrollo, donde los estándares sanitarios son escasos y la infección suele adquirirse en las primeras etapas de la vida, lo que hace que gran parte de la población tenga anticuerpos protectores contra el HVA.<sup>31-34</sup> En los países industrializados, el declive de la tasa de incidencia del virus y la disponibilidad de vacunas ha provocado un cambio de tendencia hacia la infección en edades adultas.<sup>31,34</sup> En Europa del Norte, Japón, Canadá y los Estados Unidos, la prevalencia del virus en la población general es muy baja ( $\sim 0,01\%$ ) y las epidemias están asociadas básicamente a grupos de riesgo, como los viajeros a regiones endémicas.<sup>32,33</sup>

Las infecciones por VHA en humanos pueden ser tanto asintomáticas, principalmente en niños pequeños, como derivar en hepatitis fulminantes, que en algunos casos desencadenan incluso la muerte.<sup>31,32</sup> El VHA provoca una infección aguda que se resuelve de forma espontánea sin convertir al sujeto en portador crónico; es por este motivo que el VHA raramente se transmite por vía transfusional y por el que los bancos de sangre no analizan las donaciones en busca de VHA, sino que confían en el historial médico del donante para descartar los sujetos con un historial de hepatitis.<sup>35</sup> De hecho, se han detectado muy pocas infecciones por VHA transmitidas por transfusión, y que han resultado en enfermedades leves de hígado.<sup>36,37</sup> Aunque el VHA infeccioso puede detectarse en sangre durante el periodo de ventana serológico, el riesgo de transmisión del VHA por vía transfusional es muy bajo.<sup>35,38</sup> También se han detectado casos de transmisión del VHA a partir de donantes víremicos asintomáticos.<sup>35-38</sup> El VHA carece de envoltura lipídica por lo que no puede inactivarse fácilmente mediante tratamientos S/D o pasteurización, como los aplicados durante la fabricación de derivados de plasma.<sup>35</sup> Como resultado, se han dado casos de transmisión del VHA a través de productos plasmáticos, principalmente de factores de coagulación.<sup>36,39,40</sup>

Si bien una única donación puede contener tanto ADN del parvovirus B19 como ARN del VHA, la prevalencia de la coinfección de parvovirus B19/VHA no se ha estudiado ni documentado en profundidad en la bibliografía existente.<sup>41-43</sup> Es poco frecuente encontrar casos de coinfección de parvovirus humano B19/VHA en bebés y niños, que no forman parte de la población de donantes.<sup>41-43</sup> El riesgo de coinfección se puede calcular a partir de la prevalencia de cada virus. Aunque la prevalencia del VHA no está bien caracterizada en la población de donantes, la prevalencia en la población general es  $\sim 0,01\%$  e inferior en la población de donantes de plasma de origen ( $\sim 0,0004\%$ ).<sup>32,33,44,45</sup> Con una prevalencia del parvovirus B19 de  $\sim 0,9\%$ <sup>14-18</sup>, el riesgo calculado de coinfección de parvovirus B19/VHA es  $\sim 0,0000036\%$  ( $0,0004\% \times 0,9\%$ ) o 1 en  $\sim 28.000.000$  donaciones.



### Motivos para el uso de las pruebas NAT

Pueden utilizarse pruebas NAT para detectar la contaminación por VHA y el parvovirus B19. A principios de 2000, algunos fabricantes de plasma iniciaron el cribado del plasma para elaboración posterior mediante pruebas NAT con objetivo de detectar ARN del VHA y ADN del parvovirus B19 como respuesta a los informes existentes sobre la transmisión de ambos virus por vía de productos plasmáticos.<sup>46</sup> El objetivo de las pruebas NAT, consideradas pruebas durante el proceso, era eliminar las unidades contaminadas por VHA y reducir la carga del parvovirus B19 en pooles de plasma.<sup>47</sup> En el año 2004, la Farmacopea Europea empezó a exigir a todos los fabricantes que garantizaran un nivel de ADN de parvovirus B19 inferior a  $10^4$  UI/ml en los pooles de elaboración utilizados para la fabricación de inmunoglobulina humana anti-D y en los pooles de plasma humano tratados para la inactivación del virus.<sup>48</sup> Asimismo, una directriz de 2009 de la FDA recomienda que los fabricantes de productos plasmáticos realicen pruebas NAT para el parvovirus B19 en todos los productos derivados del plasma para garantizar que la carga viral de ADN del parvovirus B19 en el pool de elaboración no sea superior a  $10^4$  UI/ml.<sup>47</sup> Actualmente, ni las agencias reguladoras estadounidenses ni las europeas exigen la realización de pruebas NAT para VHA en los pooles de plasma utilizados para elaboración posterior; no obstante, los requisitos regulatorios europeos establecen que si se utilizan pruebas NAT para el VHA en los pooles de elaboración como parte de las pruebas del proceso, la prueba tiene que ser capaz de detectar un control con una carga de ARN de VHA de 100 UI/ml.<sup>49</sup>

### Explicación de la prueba

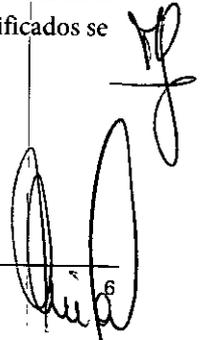
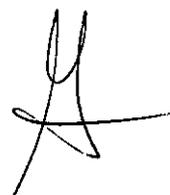
La prueba cobas® DPX es una prueba duplex para su ejecución en el cobas® 6800 System y el cobas® 8800 System. La prueba cobas® DPX permite la cuantificación simultánea del ADN de los genotipos 1, 2 y 3 del parvovirus B19 y la detección cualitativa del ARN de los genotipos I, II y III del virus de la hepatitis A (VHA) en plasma humano.

### Principios del procedimiento

La prueba cobas® DPX se basa en un proceso de preparación de muestras totalmente automático (extracción y purificación de ácidos nucleicos) seguido de los procesos de amplificación mediante PCR y detección. 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 para un valor cuantitativo (en UI/ml) del parvovirus B19 mediante un estándar de cuantificación (QS), trazable directamente al estándar internacional para B19 de la OMS.<sup>47</sup> El software cobas® 6800/8800 también asigna resultados de la prueba para la presencia del virus de la hepatitis A como no reactivo, reactivo o inválido. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema y luego imprimirse como informe.

Las muestras pueden analizarse de forma individual o, si lo desea, en pooles formados por varias muestras. En caso de realizarse pooling, el cobas p 680 instrument también puede utilizarse en el paso preanalítico.

Los ácidos nucleicos de la muestra de donante y las moléculas de control interno (CI) de Armored RNA añadidas, así como las moléculas de ADN del QS (utilizadas como control del proceso de preparación de muestras y amplificación/detección), se extraen 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 (como la hemoglobina) se eliminan en los siguientes pasos de reactivo de lavado y los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada.



585

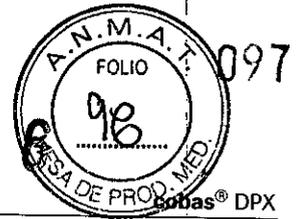


096

Para llevar a cabo la amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra del donante se utilizan cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus que se seleccionan de regiones altamente conservadas de los ácidos nucleicos víricos. Para los procesos de transcripción inversa y 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).<sup>50-52</sup> La enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa), que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, destruye cualquier amplicón contaminado de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se destruyen los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva en cuanto se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo de Master Mix de cobas® DPX contiene sondas de detección específicas para los ácidos nucleicos de B19 y VHA, además de los de QS y CI. Cada una de las sondas de detección específicas para B19, VHA, CI y QS se etiqueta con uno de los cuatro marcadores fluorescentes únicos que actúan como emisores. Además, cada sonda dispone de un quinto marcador que actúa como silenciador. Los cuatro marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, lo que permite detectar y discriminar simultáneamente el fragmento objetivo ampliado de B19 y VHA, CI y QS.<sup>53,54</sup> El marcador silenciador suprime la señal fluorescente de las sondas intactas. Durante el paso de amplificación de la PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisores y silenciadores 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. Dado que los cuatro marcadores emisores específicos se miden en longitudes de onda definidas, es posible detectar y discriminar simultáneamente los fragmentos objetivo amplificados del B19 y el VHA, además del QS y el CI.

585



## Reactivos y materiales

### Reactivos y controles de cobas® DPX

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

**Tabla 1** Prueba cobas® DPX

Prueba cobas® DPX Almacenar a 2-8 °C Casete para 96 pruebas (P/N 07001088190)		
Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit
<b>Solución de proteinasa (PASE)</b>	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
<b>Control interno y estándar de cuantificación de DPX (DPX IC/QS)</b>	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,01% de constructo de Armored RNA como control interno (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,01% de ADN sintético no infeccioso de QS de B19 encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, < 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	13 ml
<b>Buffer de elución (EB)</b>	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	13 ml
<b>Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)</b>	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	5,5 ml
<b>Reactivo 2 de Master Mix para DPX (DPX MMX-R2)</b>	Buffer Tricina, acetato de potasio, glicerol, 18% de sulfóxido de dimetilo, Tween 20, EDTA, < 0,06% de dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% de dUTP, < 0,01% de cebadores ascendente y descendente de parvovirus B19, VHA, control interno y estándar de cuantificación, < 0,01% de sondas marcadas con fluorescente para parvovirus B19 y VHA, < 0,01% de sonda de estándar de cuantificación para parvovirus B19 y control interno para VHA marcadas con fluorescente, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de polimerasa de ADN Z05D, < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	6 ml

07175469001-02ES

Doc Rev. 1.0

8

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

5856



**Tabla 2** cobas® DPX Control Kit

**cobas® DPX Control Kit**

Almacenar a 2-8 °C  
(P/N 07001126190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
<p><b>Control positivo dual para DPX (DPX D(+)+C)</b></p>	<p>&lt; 0,001% de Armored ARN (sintético) de VHA encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, &lt; 0,001% de ADN (plasmídico) sintético de parvovirus B19 encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al B19, anticuerpos frente al VHC, anticuerpos frente al VIH-1/2, HBsAg, anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1 y ARN de VHA no detectables mediante métodos de PCR. ADN de B19 no detectable mediante métodos de PCR o por debajo del nivel que interfiere en la funcionalidad del control (<math>\leq 5</math> UI/ml). 0,1% de conservante ProClin® 300</p>	<p>8 ml (8 x 1 ml)</p>	  <p>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.</p>
<p><b>Control positivo alto para DPX (DPX H(+)+C)</b></p>	<p>&lt; 0,001% de ADN (plasmídico) sintético de parvovirus B19 en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al B19, anticuerpos frente al VHC, anticuerpos frente al VIH-1/2, HBsAg, anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1 y ARN de VHA no detectables mediante métodos de PCR. ADN de B19 no detectable mediante métodos de PCR o por debajo del nivel que interfiere en la funcionalidad del control (<math>\leq 5</math> UI/ml). 0,1% de conservante ProClin® 300</p>	<p>8 ml (8 x 1 ml)</p>	  <p>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.</p>

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

07175469001-02ES

Doc Rev. 1.0

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

5856



Tabla 3 cobas® Buffer Negative Control Kit

**cobas® Buffer Negative Control Kit**

Almacenar a 2-8 °C  
(P/N 07002238190)

Componente del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
Control negativo del buffer (Buffer-NC)	Buffer de fosfato de sodio, EDTA, 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	16 ml (16 x 1 ml)	No aplicable

07175469001-02ES

Doc Rev. 1.0

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

5856



cobas® DPX

## 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**
<b>cobas omni MGP Reagent (MGP)</b> 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
<b>cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL)</b> 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
<b>cobas omni Lysis Reagent (LYS)</b> 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 ditiotritol, 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>
<b>cobas omni Wash Reagent (WASH)</b> 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' DPX. Consulte el listado de material adicional necesario (Tabla 7).

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

07175469001-02ES

Doc Rev. 1.0

11

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

5856



## 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
<b>cobas® DPX - 96</b>	2-8 °C
<b>cobas® DPX Control Kit</b>	2-8 °C
<b>cobas® Buffer Negative Control Kit</b>	2-8 °C
<b>cobas omni Lysis Reagent</b>	2-8 °C
<b>cobas omni MGP Reagent</b>	2-8 °C
<b>cobas omni Specimen Diluent</b>	2-8 °C
<b>cobas omni Wash Reagent</b>	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. El sistema solamente permite 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)
<b>cobas® DPX - 96</b>	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 10 series	Máx. 8 horas
<b>cobas® DPX Control Kit</b>	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 8 horas
<b>cobas® Buffer Negative Control Kit</b>	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 10 horas
<b>cobas omni Lysis Reagent</b>	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
<b>cobas omni MGP Reagent</b>	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
<b>cobas omni Specimen Diluent</b>	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
<b>cobas omni Wash Reagent</b>	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**.

5856



102

## Material adicional necesario

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

Material	P/N
<b>cobas omni</b> Processing Plate	05534917001
<b>cobas omni</b> Amplification Plate	05534941001
<b>cobas omni</b> Pipette Tips	05534925001
<b>cobas omni</b> Liquid Waste Container	07094388001
<b>cobas omni</b> Lysis Reagent	06997538190
<b>cobas omni</b> MGP Reagent	06997546190
<b>cobas omni</b> Specimen Diluent	06997511190
<b>cobas omni</b> 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® DPX** en los instrumentos. El IG (Instrument Gateway) se suministra con el sistema.

**Tabla 8** Instrumentos

Equipo	P/N
<b>cobas® 6800 System</b> (opción móvil)	05524245001 y 06379672001
<b>cobas® 6800 System</b> (fijo)	05524245001 y 06379664001
<b>cobas® 8800 System</b>	05412722001
<b>cobas p 680 instrument</b> (opcional para pipeteo y pooling)	06578624001
Módulo de suministro de muestras	06301037001

Consulte el Manual de usuario de los **cobas® 6800/8800 Systems** y el Manual de usuario del **cobas p 680 instrument** 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.

## 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.
- Todas las muestras 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.<sup>55,56</sup> Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba cobas® DPX, los cobas® 6800/8800 Systems y el cobas p 680 instrument (opcional).
- 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® DPX Control Kit contiene plasma derivado de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante una prueba para anticuerpos autorizada y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos IgG e IgM del B19V, anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc. En el análisis de 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, ARN de VHA y los niveles de ADN de B19 no son detectables o suficientemente bajos para no interferir en la funcionalidad de los controles positivos para DPX. 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.
- Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin nucleasa. 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.

## 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**® DPX, el **cobas omni** MGP 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**® DPX 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 el derrame se produce sobre los **cobas**® 6800/8800 Systems, siga las instrucciones descritas en el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie del instrumento.

## Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras

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

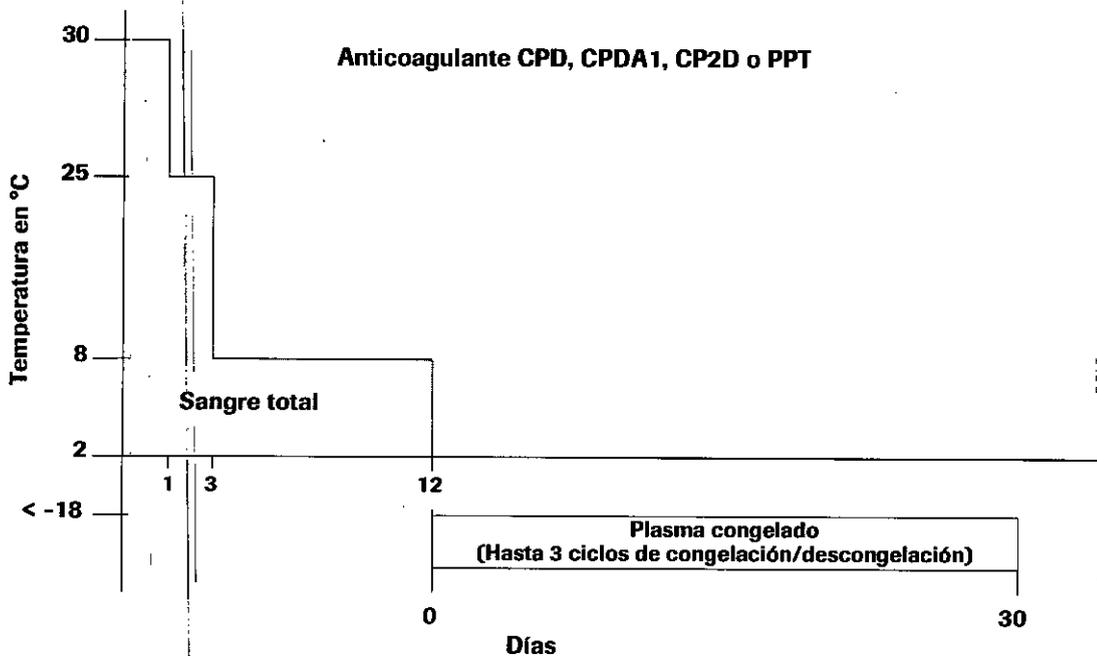
Almacene todas las muestras de donantes a las temperaturas especificadas.

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

### Muestras de donantes vivos

- Puede utilizarse plasma recogido en anticoagulante EDTA, CPD, CPDA1, CP2D y citrato de sodio al 4% para la prueba **cobas® DPX**. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos/las bolsas de recogida de muestras para conocer los procesos de manipulación y centrifugación.
- La sangre recogida en anticoagulante CPD, CPDA1, CP2D o los tubos para preparación de plasma con EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) pueden almacenarse durante un máximo de 12 días en las condiciones siguientes:
  - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
  - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.
  - En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el plasma separado de las células se puede almacenar hasta 30 días a una temperatura ≤ -18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 1.

**Ilustración 1** Condiciones de almacenamiento de muestras de donante

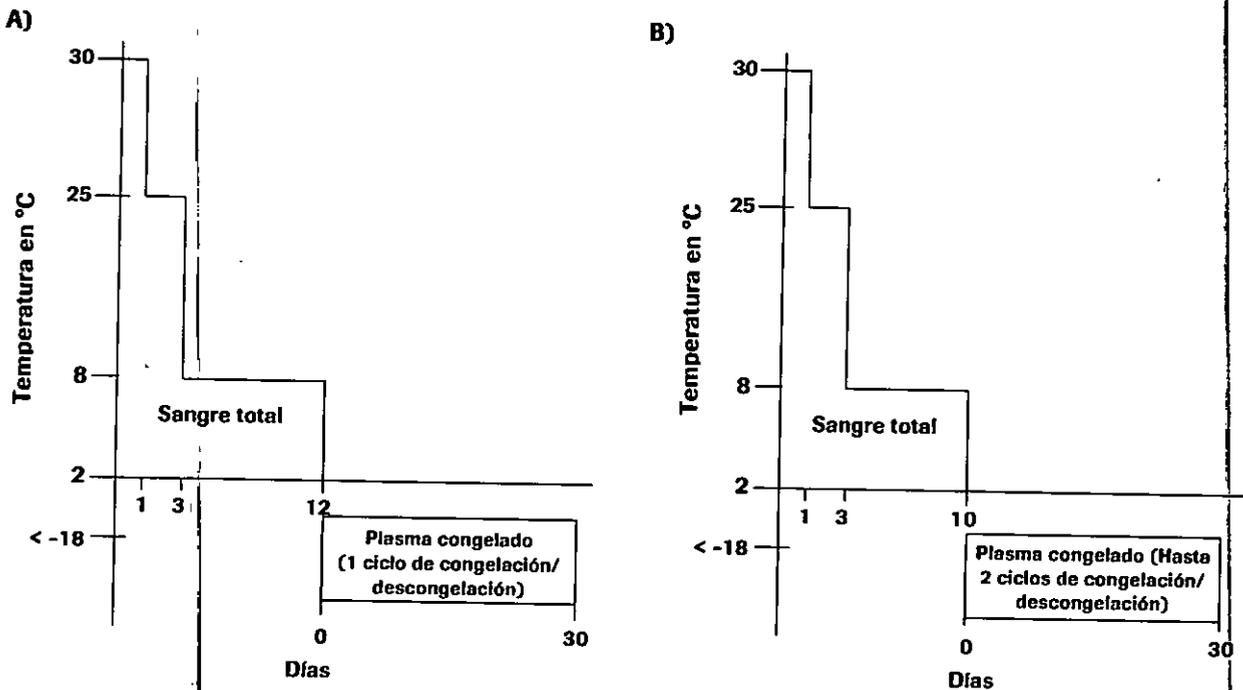


*[Firma]*

- La sangre conservada en anticoagulante EDTA debe centrifugarse en el plazo de 72 horas desde la extracción y puede almacenarse en una de estas dos siguientes condiciones:
  - Almacenamiento durante un máximo de 12 días a 2-8 °C. Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas. Además, el plasma separado de las células puede almacenarse a  $\leq -18$  °C durante un máximo de 30 días con un ciclo de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 2A.
  - Almacenamiento durante un máximo de 10 días a 2-8 °C. Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas. Además, el plasma separado de las células puede almacenarse a  $\leq -18$  °C durante un máximo de 30 días con dos ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 2B.

Ilustración 2 Condiciones de almacenamiento de muestras de donante

Anticoagulante EDTA



- El plasma en anticoagulante de citrato de sodio al 4% puede almacenarse hasta 30 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C.
  - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.
- Si las muestras se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

## Instrucciones de uso

### Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional)

El **cobas p 680 instrument** es un componente opcional de los **cobas® 6800/8800 Systems** utilizado para el pipeteo y el pooling automatizados de alícuotas de varias muestras primarias en un pool de muestras. Para obtener más información, consulte el Manual de usuario del **cobas p 680 instrument**.

### Definición del valor de corte para el parvovirus B19

Es el supervisor del laboratorio quien determina el título de valor de corte para B19V mediante el establecimiento del valor de corte para pools de 1. El valor que se introduzca aquí será el que utilice el software para asignar un resultado "B19V < valor de corte" o "B19V ≥ valor de corte" (Tabla 10). El software calcula automáticamente el resultado en función del valor de corte introducido y el tamaño del pool.

Para asignar el valor de corte para el título de B19V:

El valor de corte de DPX-B19V puede encontrarse en la interfaz de usuario (UI), en Administración --> Configuración --> Configuración del procesamiento --> Pruebas de Roche. En la opción "Configuración" del ASAP para DPX-B19V puede definir el valor de corte mediante el botón "Editar".

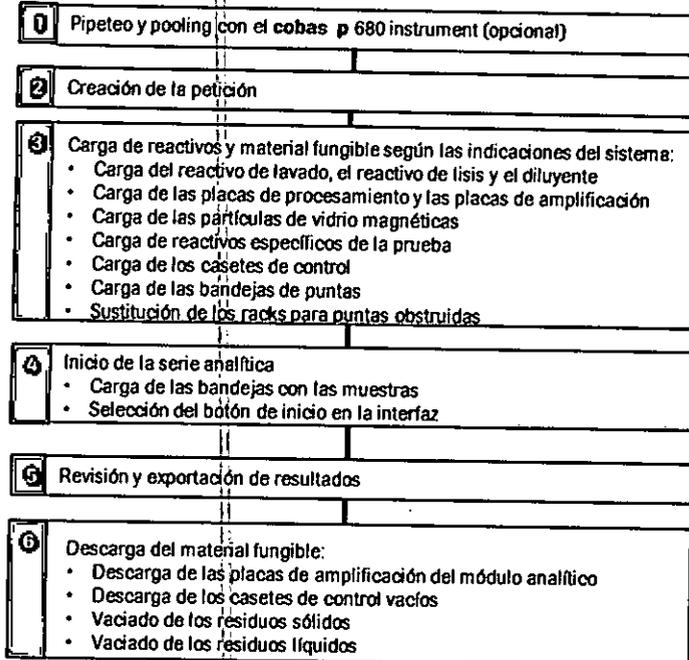
### Notas sobre el procedimiento

- No utilice los reactivos de la prueba **cobas® DPX**, el **cobas® DPX Control Kit**, el **cobas® Buffer 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.

## Realización de la prueba cobas® DPX

El procedimiento de la prueba se describe con detalle en el Manual de usuario de los cobas® 6800/8800 Systems y el Manual de usuario del cobas p 680 instrument. En la Ilustración 3 se resume el procedimiento.

Ilustración 3 Procedimiento de la prueba cobas® DPX



## Resultados

Los cobas® 6800/8800 Systems determinan automáticamente la concentración de ADN de parvovirus B19 en muestras de donante y controles. La concentración de ADN de parvovirus B19 se expresa en unidades internacionales por mililitro (UI/ml). Los cobas® 6800/8800 Systems detectan automáticamente el ARN de VHA en muestras y controles.

### Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie se deben procesar un control negativo [(-)C] y dos controles positivos [DPX D (+)C y DPX 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 cuando no hay avisos para ninguno de los tres controles.

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	Invalid	Toda la serie se considera inválida si el resultado del (-) C no es válido.
Control positivo	Aviso	Resultado	Interpretación
DPX D(+C)	Q02	Invalid	Resultado inválido, el resultado del título calculado para el parvovirus B19 no está dentro del rango asignado o el resultado para VHA no es reactivo. B19 solamente: resultado inválido debido al QS correspondiente o el resultado del título calculado para el parvovirus B19 no está dentro del rango asignado. VHA solamente: resultado inválido debido al CI correspondiente o resultado para VHA no reactivo.
DPX H(+C)	Q02	Invalid	Un resultado inválido o el resultado del título calculado para el control positivo alto no está dentro del intervalo asignado.

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

## Interpretación de los resultados

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 de donantes tanto válidos como inválidos, según los avisos obtenidos para cada muestra.
- Los resultados de las muestras se consideran válidos solamente si los respectivos controles positivos y el control negativo de la serie correspondiente también son válidos.

Se miden simultáneamente cuatro parámetros para cada muestra: uno para el parvovirus B19, uno para VHA, uno para el estándar de cuantificación y otro para el control interno. El software informa de los resultados finales de las muestras obtenidos con la prueba **cobas**® DPX. Hay que volver a analizar las muestras de donantes que haya en un pool no válido. Además de los resultados globales, el software **cobas**® 6800/8800 también muestra los resultados individuales para cada fragmento objetivo, que deberían interpretarse como se indica a continuación:

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

Resultados de	Interpretación
No reactivo para VHA	No se ha detectado ninguna señal del fragmento objetivo para el VHA y se ha detectado señal del CI.
Reactivo para VHA	Se ha detectado señal del fragmento objetivo para el VHA y la señal del CI puede detectarse o no.
B19 < valor de corte	El título de B19 es inferior al valor de corte definido por el usuario; se indica el título. B19 No reactivo: no se ha detectado señal del fragmento objetivo para el ADN de B19 y se ha detectado la señal para el QS. B19 < Título mínimo: se ha detectado B19 y el título calculado está por debajo del límite inferior de cuantificación (LLoQ) del ensayo.
B19 ≥ valor de corte	El título de B19 es superior al valor de corte definido por el usuario; se indica el título. B19 > Título máximo: el título calculado está por encima del límite superior de cuantificación (LLoQ) del ensayo. <sup>a</sup>
Inválido	No se ha detectado señal del fragmento objetivo de VHA ni del control interno. Los resultados no reactivos para VHA se indicarán como válidos si el título de B19 es >10 <sup>6</sup> UI/ml. No se ha detectado señal del QS de B19 y el fragmento objetivo de B19 se puede detectar o no.

<sup>a</sup> Si se desea obtener un resultado cuantitativo, debe diluirse la muestra original con plasma negativo para el parvovirus B19 conservado en EDTA y repetirse la prueba. Multiplique el resultado comunicado por el factor de dilución.

585



## Repetición de pruebas de muestras individuales

Es necesario repetir las pruebas para los tubos de muestra cuyo resultado final no es válido para uno de los fragmentos objetivo, independientemente de los resultados finales del resto de los fragmentos objetivo. El resultado de repetición de una muestra no válida para el VHA provocado por un título de B19 alto ( $>10^6$  UI/ml) se mantendrá como no válido.

## Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® DPX se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® DPX Control Kit, el **cobas**® Buffer 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.
- No utilice plasma heparinizado con esta prueba porque se ha demostrado que la heparina inhibe la PCR.
- Esta prueba se ha validado únicamente para su uso con muestras de plasma conservado en EDTA. La realización de la prueba en otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
- Esta prueba no está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico del parvovirus B19 o VHA.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma vírico cubiertas por la prueba **cobas**® DPX pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar una cuantificación a la baja del virus o incluso impedir la detección de su presencia.
- 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.

## Evaluación no clínica del rendimiento

### Características clave de rendimiento - Muestras de donantes vivos

#### Límite de detección (LoD)

##### Estándares internacionales de la OMS

Los límites de detección (LoD) de la prueba **cobas**® DPX para el ARN del VHA y el ADN del parvovirus B19 se han determinado con los estándares internacionales de la OMS para el VHA (código NIBSC 00/560) y el parvovirus B19 (NIBSC 99/802).

Se prepararon tres series de dilución independientes de cada estándar vírico con plasma humano en pools negativo al virus en anticoagulante EDTA. Cada serie de dilución se analizó con tres lotes distintos de kits de reactivo de **cobas**® DPX, con aproximadamente unas 21 réplicas por lote, lo que supone un total aproximado de 189 réplicas por concentración. Se utilizó el análisis **PROBIT** en los datos combinados de todas las réplicas analizadas de cada virus para estimar el LoD y los intervalos de confianza al 95% fiduciales y bilaterales. En la Tabla 11 a la Tabla 13 se resumen los resultados globales del estudio del límite de detección.

**Tabla 11** Resultados del análisis **PROBIT** con datos del LoD obtenidos para los estándares víricos en plasma conservado en EDTA

Analito	Unidades de medición	LoD	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
VHA	UI/ml	1,1	0,9	1,3
Parvovirus B19	UI/ml	13,9	11,7	17,4

**Tabla 12** Resumen de las tasas de reactividad para el VHA en plasma conservado en EDTA

Concentración de ARN del VHA (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
6	189	189	100%	98,1%
3	189	189	100%	98,1%
1,5	186	189	98,4%	98,9%
0,75	165	189	87,3%	81,7%
0,375	119	189	63,0%	55,7%

5856



113

**Tabla 13** Resumen de las tasas de reactividad para el parvovirus B19 en plasma conservado en EDTA

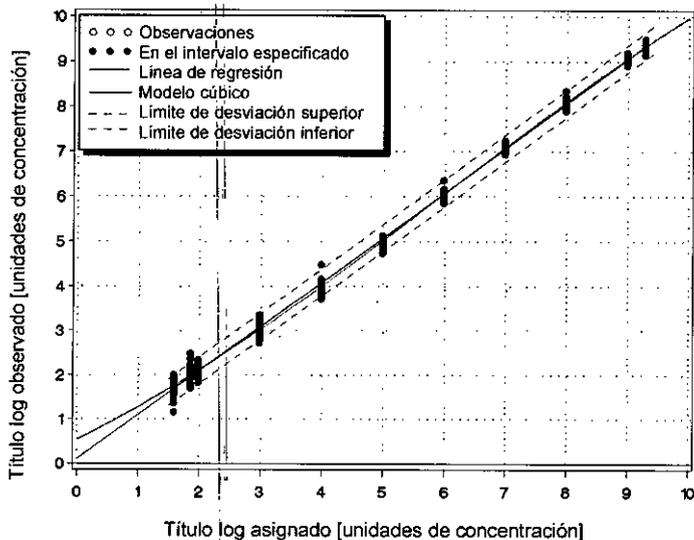
Concentración de ADN del parvovirus B19 (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
40	187	189	98,9%	96,2%
20	184	189	97,4%	93,9%
10	175	189	92,6%	87,9%
5	145	189	76,7%	70,0%
2,5	91	189	48,1%	40,8%

### Intervalo lineal para la cuantificación del parvovirus B19

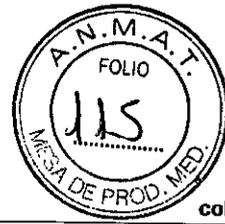
El estudio de linealidad para la cuantificación del parvovirus B19 de la prueba cobas® DPX se llevó a cabo mediante una serie de diluciones formadas por un panel de 12 muestras con el que se cubría el intervalo lineal para el genotipo 1 predominante del parvovirus B19. La evaluación se realizó según las directrices del EP06-A del CLSI. Se analizaron tres lotes de reactivo en tres cobas® 6800/8800 Systems, con tres operadores y un total de 16 réplicas por miembro del panel y lote durante 12 días de análisis.

El estudio se realizó con tres lotes de reactivo. Se determinó un intervalo lineal comprendido entre 40 UI/ml y 1,00E+09 UI/ml (38,5 UI/ml - 1,93E+09 UI/ml) con una desviación absoluta respecto al mejor ajuste de la regresión no lineal inferior a  $\pm 0,3 \log_{10}$  en plasma humano conservado en EDTA (consulte la Ilustración 4).

**Ilustración 4** Determinación del intervalo lineal del parvovirus B19 en plasma conservado en EDTA



5856



114

cobas® DPX

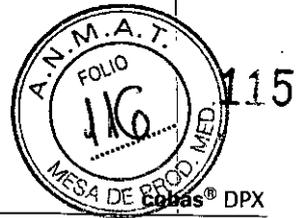
## Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba cobas® DPX se evaluó con tres lotes de reactivo, durante tres días distintos, cuatro sistemas/operadores individuales y variabilidad entre series. En la Tabla 14 se resumen los resultados de los lotes de reactivo.

**Tabla 14** Reproducibilidad entre lotes de los reactivos

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
VHA	2 x LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 x LoD	1	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		2	96,8% (61/63)	89,0%	99,6%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 x LoD	1	79,4% (50/63)	67,3%	88,5%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%

5856



## Precisión

La precisión de la prueba **cobas® DPX** para el parvovirus B19 se determinó mediante el análisis de diluciones en serie de una muestra positiva para parvovirus B19 en plasma negativo al virus conservado en EDTA. Se analizaron ocho niveles de dilución en 48 réplicas para cada nivel con los tres lotes de reactivo de la prueba **cobas® DPX** en tres instrumentos diferentes y con tres usuarios distintos durante 12 días. Cada muestra se sometió al procedimiento completo de la prueba **cobas® DPX** 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 en la Tabla 15.

La prueba **cobas® DPX** para el parvovirus B19 presentó una alta precisión para los tres lotes de reactivo analizados en un intervalo de concentración comprendido entre 1,00 E+03 UI/ml y 2,0 E+09 UI/ml.

**Tabla 15** Precisión intralaboratorio de la prueba **cobas® DPX**\*

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
2,00E+09	1,93E+09	Muestra clínica	0,08	0,05	0,04	0,06
1,00E+09	9,63E+08	Muestra clínica	0,05	0,06	0,04	0,05
1,00E+08	9,63E+07	Muestra clínica	0,04	0,07	0,04	0,05
1,00E+07	9,63E+06	Muestra clínica	0,04	0,04	0,03	0,04
1,00E+06	9,63E+05	Muestra clínica	0,12	0,04	0,04	0,08
1,00E+05	9,63E+04	Muestra clínica	0,06	0,05	0,02	0,05
1,00E+04	9,63E+03	Muestra clínica	0,06	0,12	0,04	0,08
1,00E+03	9,63E+02	Muestra clínica	0,05	0,09	0,04	0,06

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

### Inclusividad de genotipos del VHA

El rendimiento de la prueba cobas® DPX para la detección de tres genotipos del VHA se ha determinado mediante el análisis de un total de 12 muestras clínicas únicas, el estándar de la OMS para VHA (código NIBSC 00/560) y ocho aislados en cultivo de VHA con genotipos conocidos. Se cuantificaron todas las muestras clínicas y aislados en cultivo mediante la prueba cobas® DPX con el método de calibradores de referencia. Se analizaron todas las muestras clínicas tanto sin diluir como diluidas con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus con una concentración de 3,6 x LoD de la prueba cobas® DPX. Los ocho aislados en cultivo y el estándar de la OMS para VHA se analizaron después de la dilución con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VHA) con una concentración de 3,6 x LoD de la prueba cobas® DPX. Todas las muestras clínicas y los aislados en cultivo se detectaron sin diluir y/o con una concentración de 3,6 x LoD (Tabla 16).

**Tabla 16** Muestras clínicas y aislados en cultivo del VHA

Genotipo	Muestras clínicas		Aislados en cultivo
	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) sin diluir	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a 3,6 x LoD	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a 3,6 x LoD
I A	100,0% (11/11)	100,0% (12/12)**	No analizado*
I B	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
II A	No analizado*	No analizado*	100,0% (1/1)
II B	No analizado*	No analizado*	100,0% (1/1)
III A	No analizado*	No analizado*	100,0% (3/3)
III B	No analizado*	No analizado*	100,0% (2/2)

\* Volumen insuficiente para el análisis sin dilución/diluido

\*\* Incluido el estándar de la OMS para VHA (código NIBSC 00/560)

## Verificación del genotipo del parvovirus B19

El rendimiento de la prueba cobas® DPX en los genotipos de parvovirus B19 se evaluó mediante:

- Verificación del límite de detección para los genotipos 1, 2 y 3
- Verificación de la linealidad para los genotipos 2 y 3

## Verificación del límite de detección para los genotipos 1 a 3

Se diluyeron muestras clínicas de ADN del parvovirus B19 para tres genotipos distintos (1, 2 y 3) en un nivel de concentración en plasma conservado en EDTA. La determinación de la tasa de positividad se llevó a cabo con 21 réplicas. El análisis se realizó con un lote de reactivo de cobas® DPX. En la Tabla 17 se muestran los resultados obtenidos con el plasma conservado en EDTA. Los resultados demuestran que la prueba cobas® DPX es capaz de detectar el ADN del parvovirus B19 para tres genotipos diferentes en concentraciones comprendidas entre 10,3 UI/ml y 17,4 UI/ml con una tasa de positividad del 100%.

**Tabla 17** Inclusividad de los genotipos del parvovirus B19

Genotipo	Concentración	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
1	17,4 UI/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
2	10,3 UI/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%
3a	10,3 UI/ml	100% (21/21)	83,9%	100,0%

## Verificación del intervalo lineal para los genotipos 2 y 3

La serie de diluciones utilizada para la verificación del estudio de linealidad de los genotipos de la prueba cobas® DPX constaba de un panel de siete miembros con el que se cubre el intervalo lineal deseado. Se prepararon miembros del panel con título alto a partir de un stock de ADN plasmídico mientras que los miembros del panel con título más bajo se prepararon a partir del primer panel de referencia internacional de la OMS para los genotipos del parvovirus B19 (NIBSC 09/110). 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 de la prueba cobas® DPX está comprendido entre el LLoQ (40 UI/ml) y el ULoQ ( $1,00E+09$  UI/ml) e incluye al menos un punto de decisión médica. El análisis se realizó con un lote de reactivo de cobas® DPX; se analizaron 11 réplicas por nivel en plasma conservado en EDTA. Se comprobó el intervalo de linealidad de la prueba cobas® DPX para ambos genotipos (2 y 3). La desviación máxima entre la regresión lineal y el mejor ajuste de la regresión no lineal fue igual o menor que  $0,3 \log_{10}$ .

## Especificidad analítica

Se evaluó la especificidad analítica de la prueba cobas® DPX respecto a la reactividad cruzada mediante el análisis de un panel de 27 microorganismos con una concentración de  $10^6$  partículas, UI, copias o UFC/ml, tal como se muestra en la Tabla 18. Los microorganismos se añadieron a pools de plasma humano normal negativo al virus y se analizaron con y sin virus del VHA o parvovirus B19 añadido a una concentración de aproximadamente  $3 \times \text{LoD}$  de VHA o  $5 \times \text{LLOQ}$  de parvovirus B19 según la prueba cobas® DPX. Se obtuvieron resultados no reactivos con la prueba cobas® DPX en todas las muestras de microorganismos sin VHA ni parvovirus B19 añadido y se obtuvieron resultados reactivos en todas las muestras de microorganismos con VHA o parvovirus B19 añadido. Además, el título  $\log_{10}$  medio de cada una de las muestras positivas para el parvovirus B19 con organismos de posible reacción cruzada se situó en  $\pm 0,5 \log_{10}$  del título  $\log_{10}$  medio del control respectivo añadido. Los microorganismos analizados no presentan reactividad cruzada con la prueba cobas® DPX.

Los microorganismos analizados no interfieren con la prueba cobas® DPX.

**Tabla 18** Microorganismos analizados para la especificidad analítica

Virus	Flavivirus	Bacterias	Levadura
Adenovirus 5	Virus del Nilo Occidental (VNO)	<i>Escherichia coli</i>	Candida albicans
Virus Chikungunya	Virus del dengue tipo 1	<i>Propionibacterium acnes</i>	
Citomegalovirus (CMV)	Virus Usutu	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus de Epstein-Barr (VEB)		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
Virus de la hepatitis B (VHB)		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
Virus de la hepatitis C (VHC)		<i>Streptococcus viridans</i>	
Virus de la hepatitis E (VHE)			
Virus de la hepatitis G (GBV-C)			
Virus del herpes simple de tipo 1 (VHS-1)			
Virus del herpes simple de tipo 2 (VHS-2)			
Virus del herpes humano 6A (VHH-6)			
Virus de inmunodeficiencia humana (subtipos VIH-1M y VIH-2)			
Virus linfotrófico humano de células T de tipo I (HTLV I)			
Virus linfotrófico humano de células T de tipo II (HTLV II)			
Virus de la gripe A			
Virus de la varicela zóster (VVZ)			

Se analizaron muestras de plasma del resto de los estadios de la enfermedad indicados en la Tabla 19 con y sin VHA o parvovirus B19 añadido a una concentración aproximada de  $3 \times \text{LoD}$  para VHA y de  $5 \times \text{LLOQ}$  para parvovirus B19 según la prueba cobas® DPX. La prueba cobas® DPX generó resultados no reactivos para todas las muestras de estadio de la enfermedad sin VHA o parvovirus B19 añadido. La prueba cobas® DPX generó resultados reactivos para todas las muestras de estadio de la enfermedad con VHA o parvovirus B19 añadido. Además, el título  $\log_{10}$  medio de cada una de las muestras positivas para el parvovirus B19 con organismos de posible reacción cruzada se situó en  $\pm 0,5 \log_{10}$  del título  $\log_{10}$  medio del control respectivo añadido. Los estadios de la enfermedad no interfieren con la prueba cobas® DPX.

**Tabla 19** Muestras de estado de la enfermedad analizados para la especificidad analítica

Estado de la enfermedad		
Adenovirus tipo 5	Virus de la hepatitis C	Virus linfotrópico de células T humanas tipo I
Citomegalovirus	Virus de la hepatitis E	Virus linfotrópico de células T humanas tipo II
Virus del dengue	Virus del herpes simple de tipo 1	Virus del Nilo Occidental
Virus de Epstein-Barr	Virus del herpes simple de tipo 2	
Virus de la hepatitis B	Virus de inmunodeficiencia humana (VIH-1M)	

**Especificidad analítica: sustancias interferentes****Sustancias endógenas causantes de interferencias**

Se analizaron las muestras de plasma con niveles anormalmente elevados de triglicéridos (hasta 33 g/l), hemoglobina (hasta 2 g/l), bilirrubina no conjugada (hasta 0,2 g/l), bilirrubina conjugada (hasta 0,2 g/l) albúmina (hasta 60 g/l) o ADN humano (hasta 1,8 mg/l) con y sin VHA o parvovirus B19 añadido a una concentración aproximada de 3 x LoD para VHA y de 5 x LLoQ para el parvovirus B19 según la prueba **cobas® DPX**. Las muestras que contienen estas sustancias endógenas no influyeron en la sensibilidad, cuantificación o especificidad de la prueba **cobas® DPX**.

**Sustancias exógenas causantes de interferencias**

Se analizaron muestras de plasma humano normal negativo al virus conservado en EDTA con concentraciones anormalmente elevadas de fármacos (Tabla 20) con y sin VHA y parvovirus B19 añadido a una concentración de 3 x LoD para VHA y de 5 x LLoQ para el parvovirus B19 según la prueba **cobas® DPX**. Las sustancias exógenas no influyeron en la sensibilidad, cuantificación o especificidad de la prueba **cobas® DPX**.

**Tabla 20** Muestras clínicas analizadas con fármacos

Nombre del fármaco analizado	Concentración
Acetaminofeno	1.324 µmol/l
Ácido acetilsalicílico	3.620 µmol/l
Ácido ascórbico	342 µmol/l
Atorvastatina	600 µg Eq/l
Fluoxetina	11,2 µmol/l
Ibuprofeno	2.425 µmol/l
Loratadina	0,78 µmol/l
Nadolol	3,88 µmol/l
Naproxeno	2.170 µmol/l
Paroxetina	3,04 µmol/l
Fenilefrina HCl	491 µmol/l
Sertralina	1,96 µmol/l

## Correlación

### Evaluación del rendimiento de la prueba cobas® DPX mediante comparación con la prueba cobas® TaqScreen DPX

Se comparó el rendimiento de la prueba cobas® DPX y la prueba cobas® TaqScreen DPX con 84 muestras de plasma positivas para VHA mediante NAT, 100 muestras positivas para parvovirus B19 mediante NAT y 100 muestras negativas para VHA y parvovirus B19.

Las muestras negativas mostraron una especificidad del 100% al generar 100 de 100 resultados no reactivos con ambos métodos.

En cuanto a las muestras positivas para VHA, la prueba cobas® DPX y la prueba cobas® TaqScreen DPX resultaron concordantes en 84 de 84 muestras (Tabla 21). Esto se traduce en un porcentaje de concordancia de positivos del 100%.

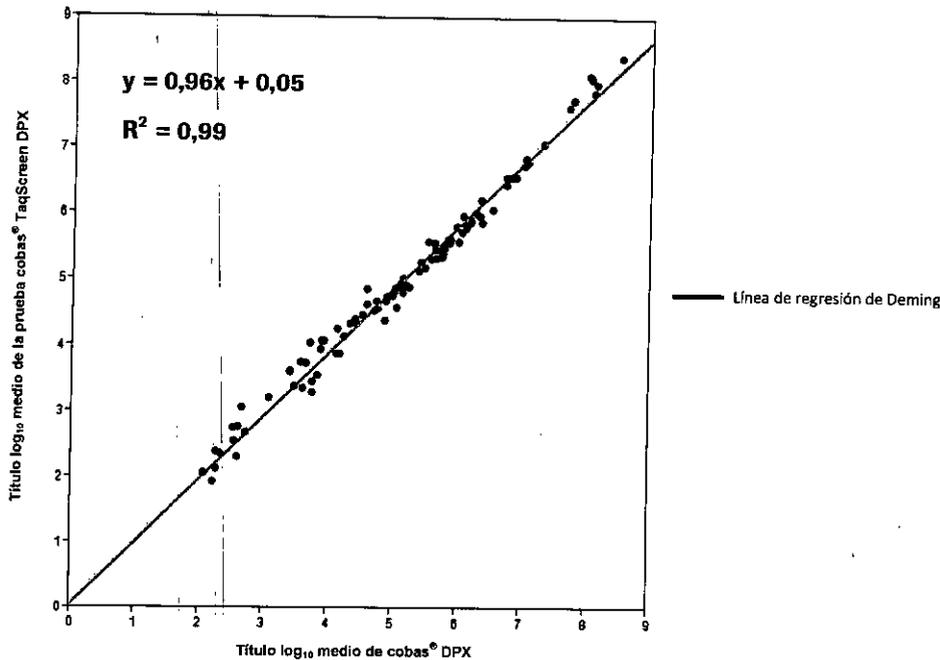
**Tabla 21** Correlación de muestras positivas/negativas para VHA

Métodos		Resultado de VHA	
cobas® TaqScreen DPX	cobas® DPX	Muestras positivas	Muestras negativas
No reactivo	No reactivo	0	100
Reactivo	No reactivo	0	0
No reactivo	Reactivo	0	0
Reactivo	Reactivo	84	0
Total		100	84
Prueba de McNemar, valor p (bilateral, $\alpha = 0,05$ )		1,00	1,00

Las muestras positivas para el parvovirus B19 se analizaron con la prueba cobas® DPX y la prueba cobas® TaqScreen DPX por duplicado. Se realizó el análisis de la regresión de Deming. La desviación del título medio de las muestras analizadas con las dos pruebas fue de  $0,15 \log_{10}$ . Dentro del intervalo de títulos  $1,0E+03$ - $1,0E+06$  UI/ml, la desviación del título medio con las dos pruebas fue de  $0,14 \log_{10}$ .

En la Ilustración 5 se muestran los resultados de la regresión de Deming.

**Ilustración 5** Análisis de regresión de la prueba cobas® DPX vs la prueba cobas® TaqScreen DPX, con 100 muestras positivas para el parvovirus B19



### Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba cobas® DPX se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió VHA y parvovirus B19. Estas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 x LoD y se ejecutaron en pools de uno (sin diluir). El estudio se realizó con el cobas® 8800 System y el cobas p 680 instrument (pipeteo y pooling).

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron reactivas para el parvovirus B19, 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 [0%: 3,62%].

Los resultados del estudio indican que 99 de las 100 réplicas fueron reactivas para VHA, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 1%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0% para el límite inferior y del 5,45% para el límite superior [0%: 5,45%].

### Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba cobas® DPX se determinó mediante el análisis de 239 réplicas de buffer del control negativo y de 223 réplicas de una muestra de parvovirus B19 con un título alto con una concentración de 1,00E+08 UI/ml. El estudio se realizó mediante el cobas® 8800 System. En total, se realizaron cinco series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

Las 239 réplicas del buffer de control negativo resultaron no reactivas, por lo que la tasa de contaminación por arrastre fue 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%].

5 8 5



122

cobas® DPX

## Información adicional

### Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma
Cantidad de muestra necesaria	1.000 µl
Cantidad de muestra procesada	850 µl
Duración de la prueba	Los resultados están listos en menos de 3,5 horas desde la carga de la muestra en el sistema.

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

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

Tabla 22 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

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

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



## Fabricante y distribuidores

**Tabla 23** Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany



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

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

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

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

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

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Vercors  
38240 Meylan, France

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

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

## Marcas registradas y patentes

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

## Copyright

©2014 Roche Molecular Systems, Inc.



## Bibliografía

1. Blümel J, Burger R, Drosten C, et al. Parvovirus B19 - Revised. *Transfus Med Hemother*. 2010;37:339-350.
2. Molenaar-deBacker MW, Lukashov VV, vanBinnendijk RS, Boot HJ, Zaaijer HL. Global co-existence of two evolutionary lineages of parvovirus B19 1a, different in genome-wide synonymous positions. *PLoS One*. 2012;7:e43206.
3. Servant A, Laperche S, Lallemand F, et al. Genetic diversity within human erythroviruses: identification of three genotypes. *J Virol*. 2002;76:9124-9134.
4. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:485-505.
5. Vyse AJ, Andrews NJ, Hesketh LM, Pebody R. The burden of parvovirus B19 infection in women of childbearing age in England and Wales. *Epidemiol Infect*. 2007;135:1354-1362.
6. Röhrer C, Gärtner B, Sauerbrei A, et al. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. *Epidemiol Infect*. 2008;136:1564-1575.
7. Valentin MN, Cohen PJ. Pediatric parvovirus B19: spectrum of clinical manifestations. *Cutis*. 2013;92:179-184.
8. Young NS, Brown KE. Parvovirus B19. *N Engl J Med*. 2004;350:586-597.
9. Oiwa H, Shimada T, Hashimoto M, et al. Clinical findings in parvovirus B19 infection in 30 adult patients in Kyoto. *Mod Rheumatol*. 2011;21:24-31.
10. Waza K, Inoue K, Matsumura S. Symptoms associated with parvovirus B19 infection in adults: a pilot study. *Intern Med*. 2007;46:1975-1978.
11. Lassen J, Jensen AK, Bager P, et al. Parvovirus B19 infection in the first trimester of pregnancy and risk of fetal loss: a population-based case-control study. *Am J Epidemiol*. 2012;176:803-807.
12. Lamont RF, Sobel JD, Vaisbuch E, et al. Parvovirus B19 infection in human pregnancy. *BJOG*. 2011;118:175-186.
13. Sarfraz AA, Samuelsen SO, Bruu AL, Jennum PA, Eskild A. Maternal human parvovirus B19 infection and the risk of fetal death and low birthweight: a case-control study within 35 940 pregnant women. *BJOG*. 2009;116:1492-1498.
14. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al., National Heart, Lung, Blood Institute Retrovirus Epidemiology Donor Study-II (REDS-II). Prevalence and quantitation of parvovirus B19 DNA levels in blood donors with a sensitive polymerase chain reaction screening assay. *Transfusion*. 2007;47:1756-1764.
15. Thomas I, Di Giambattista M, Gérard C, et al. Prevalence of human erythrovirus B19 DNA in healthy Belgian blood donors and correlation with specific antibodies against structural and non-structural viral proteins. *Vox Sang*. 2003;84:300-307.
16. Candotti D, Etiz N, Parsyan A, Allain JP. Identification and characterization of persistent human erythrovirus infection in blood donor samples. *J Virol*. 2004;78:12169-12178.
17. Plentz A, Hahn J, Knöll A, Holler E, Jilg W, Modrow S. Exposure of hematologic patients to parvovirus B19 as a contaminant of blood cell preparations and blood products. *Transfusion*. 2005;45:1811-1815.
18. Lee TH, Kleinman SH, Wen L, et al., NHLBI Retrovirus Epidemiology Donor Study-II (REDS-II). Distribution of parvovirus B19 DNA in blood components and persistence of virus in blood donors. *Transfusion*. 2011;51:1896-1908.
19. Koppelman MH, Cuypers HT, Emrich T, Zaaijer HL. Quantitative real-time detection of parvovirus B19 DNA in plasma. *Transfusion*. 2004;44:97-103.



20. Kleinman SH, Glynn SA, Lee TH, et al. A linked donor-recipient study to evaluate parvovirus B19 transmission by blood component transfusion. *Blood*. 2009;114:3677-3683.
21. Wu CG, Mason B, Jong J, et al. Parvovirus B19 transmission by a high-purity factor VIII concentrate. *Transfusion*. 2005;45:1003-1010.
22. Saldanha J, Minor P. Detection of human parvovirus B19 DNA in plasma pools and blood products derived from these pools: implications for efficiency and consistency of removal of B19 DNA during manufacture. *Br J Haematol*. 1996;93:714-719.
23. Eis-Hübinger AM, Sasowski U, Brackmann HH. Parvovirus B19 DNA contamination in coagulation factor VIII products. *Thromb Haemost*. 1999;81:476-477.
24. Schmidt I, Blümel J, Seitz H, Willkommen H, Löwer J. Parvovirus B19 DNA in plasma pools and plasma derivatives. *Vox Sang*. 2001;81:228-235.
25. Mortimer PP, Luban NL, Kelleher JF, Cohen BJ. Transmission of serum parvovirus-like virus by clotting-factor concentrates. *Lancet*. 1983;2:482-484.
26. Azzi A, Ciappi S, Zakrzewska K, Morfini M, Mariani G, Mannucci PM. Human parvovirus B19 infection in hemophiliacs first infused with two high-purity, virally-attenuated factor VIII concentrates. *Am J Hematol*. 1992;39:228-230.
27. Blümel J, Schmidt I, Effenberger W, et al. Parvovirus B19 transmission by heat-treated clotting factor concentrates. *Transfusion*. 2002;42:1473-1481.
28. Koenigbauer UF, Eastlund T, Day JW. Clinical illness due to parvovirus B19 infection after infusion of solvent/detergent-treated pooled plasma. *Transfusion*. 2000;40:1203-1206.
29. Santagostino E, Mannucci PM, Gringeri A, et al. Transmission of parvovirus B19 by coagulation factor concentrates exposed to 100 degrees C heat after lyophilization. *Transfusion*. 1997;37:517-522.
30. Geng Y, Wu CG, Bhattacharyya SP, Tan D, Guo ZP, Yu MY. Parvovirus B19 DNA in Factor VIII concentrates: effects of manufacturing procedures and B19 screening by nucleic acid testing. *Transfusion*. 2007;47:883-889.
31. Martin A, Lemon SM. Hepatitis A virus: from discovery to vaccines. *Hepatology*. 2006;43:S164-S172.
32. Matheny SC, Kingery JE. Hepatitis A. *Am Fam Phys*. 2012;86:1027-1034.
33. Keeffe EB. Hepatitis A and B superimposed on chronic liver disease: vaccine-preventable disease. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2006;117:227-237-238.
34. Vaughan G, Goncalves Rossi LM, Forbi JC, et al. Hepatitis A virus: host interactions, molecular epidemiology and evolution. *Infect Genet Evol*. 2014;21:227-243.
35. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-2099.
36. Gowland P, Fontana S, Niederhauser C, Taleghani BM. Molecular and serologic tracing of a transfusion-transmitted hepatitis A virus. *Transfusion*. 2004;44:1555-1561.
37. Diwan AH, Stubbs JR, Carnahan GE. Transmission of hepatitis A virus via WBC-reduced RBCs and FFP from a single donation. *Transfusion*. 2003;43:536-540.

38. Normann A, Jung C, Vallbracht A, Flehmig B. Time course of hepatitis A viremia and viral load in the blood of human hepatitis A patients. *J Med Virol.* 2004;72:10-16.
39. Soucie JM, Robertson BH, Bell BP, McCaustland KA, Evatt BL. Hepatitis A virus infections associated with clotting factor concentrate in the United States. *Transfusion.* 1998;38:573-579.
40. Chudy M, Budek I, Keller-Stanislawski B, et al. A new cluster of hepatitis A infection in hemophiliacs traced to a contaminated plasma pool. *J Med Virol.* 1999;57:91-99.
41. Kishore J, Sen M. Parvovirus B-19 induced thrombocytopenia and anemia in a child with fatal fulminant hepatic failure coinfecting with hepatitis A and E. *J Trop Pediatr.* 2009;55:335-337.
42. Ozcay F, Bikmaz YE, Canan O, Ozbek N. Hepatitis A and parvovirus B19 infection in an infant with fulminant hepatic failure. *Turk J Gastroenterol.* 2006;17:148-150.
43. Dwivedi M, Manocha H, Tiwari S, et al. Coinfection of parvovirus B19 with other hepatitis viruses leading to fulminant hepatitis of unfavorable outcome in children. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28:649-650.
44. Hughes JA, Fontaine MJ, Gonzalez CL, Layon AG, Goodnough LT, Galel SA. Case report of a transfusion-associated hepatitis A infection. *Transfusion.* 2014;54:2202-2206.
45. Jones S, Leighton K, Chapa J, et al. Prevalence of hepatitis A virus (HAV) and high-titer parvovirus B19 in recovered and source plasma donations. *Transfusion.* 2013;53(Suppl 2):211A.
46. Müller MM, Fraile MI, Hourfar MK, et al. Evaluation of two, commercial, multi-dye, nucleic acid amplification technology tests for HBV/HCV/HIV-1/HIV-2 and B19V/HAV, for screening blood and plasma for further manufacture. *Vox Sang.* 2013;104:19-29.
47. U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry: nucleic acid testing (NAT) to reduce the possible risk of human parvovirus B19 transmission by plasma-derived products. 2009 July.  
<http://www.fda.gov/biologicsbloodvaccines/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/blood/ucm071592.htm>
48. Human anti-D immunoglobulin, Monograph 0557 (since 1/1/2004); Human anti-D immunoglobulin for intravenous administration, Monograph 1527 (since 1/1/2004); Human plasma pooled and treated for virus inactivation, Monograph 1646 (since 1/7/2004). Ph.Europe. 6th ed. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
49. Human plasma pooled and treated for virus inactivation, Monograph 1646 (since 1/2011). Ph.Europe. 6th ed. Strasbourg, France: Council of Europe; 2011.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY).* 1992;10:413-417.
54. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res.* 1996;6:986-994.

585



- 55. 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.
- 56. 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.

A handwritten signature or mark, possibly initials, consisting of a vertical line with a horizontal crossbar and a loop at the bottom.

A handwritten signature, possibly "A. C.", consisting of a vertical line with a horizontal crossbar and a loop at the bottom.

A handwritten signature, possibly "A. C.", consisting of a vertical line with a horizontal crossbar and a loop at the bottom.

DR. ALDO A. CEVARELLI  
PRODUCTOS ROCHE S.A.C. de C.V.  
DIVISION DIAGNOSTICA  
DIRECTOR TECNICO

585



### Revisión del documento

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

07175469001-02ES

Doc Rev. 1.0

**Dr. ALDO A. CHIARELLI**  
PRODUCTOS ROCHE S.A.Q. e.L.  
DIVISIÓN DIAGNOSTICA  
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:1-47-3110-3455/15-2

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® DPX/ PRUEBA PARA LA CUANTIFICACIÓN DIRECTA DEL ADN DE LOS GENOTIPOS 1, 2 y 3 DEL PARVOVIRUS B19 Y LA DETECCIÓN CUALITATIVA DIRECTA DEL ARN DE LOS GENOTIPOS I, II y III DEL VIRUS DE LA HEPATITIS A (VHA) EN PLASMA HUMANO, CON LOS INSTRUMENTOS COBAS® 6800/8800 SYSTEMS. 2) COBAS® DPX CONTROL KIT/ PARA CONTROL DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LA PRUEBA COBAS® DPX, en envases conteniendo 1) (Nº de catálogo: 07001088190) CASSETTE INTEGRAL DE REACTIVOS PARA 96 DETERMINACIONES; 2) (Nº de catálogo: 07001126190) ENVASES CONTENIENDO: CONTROL POSITIVO DUAL PARA DPX (DPX D [+] C: 8 x 1 ml) Y CONTROL POSITIVO ALTO PARA DPX (DPX H [+] C: 8 x 1 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 MOLECULAR SYSTEMS, INC. 1080 US Highway 202 South Branchburg, NJ 08876 (USA) para ROCHE DIAGNOSTICS GmbH. Sandhofer Strasse 116; 68305 Mannheim. (ALEMANIA). Periodo de vida útil: 1) 13 (TRECE) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2 y 8 °C; 2) 17 (DIECISIETE) meses, desde la fecha de elaboración conservado entre 2

y 8 °C .En las etiquetas de los 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: **008421**

ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS, ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA.

Buenos Aires,

**31 MAY 2016**

Firma y sello

**DR. ROBERTO LEDESMA**  
Subadministrador Nacional  
A.N.M.A.T.