

Prueba cobas[®] TaqScreen MPX, versión 2.0



PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

cobas[®] TaqScreen MPX Test, v2.0	MPX v2.0	96 Tests	P/N: 05969484 190
cobas[®] TaqScreen MPX Control Kit, v2.0	MPX CTL v2.0	6 Sets	P/N: 05965390 190
cobas[®] TaqScreen Wash Reagent	TS WR	5.1 L	P/N: 04404220 190

Además de los kits indicados más arriba, el usuario necesita el siguiente kit para analizar muestras cadavéricas con la prueba **cobas[®]** TaqScreen MPX, versión 2.0:

cobas[®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit	CADV SPEC DIL	96 Tests	P/N: 05002125 190
---	----------------------	----------	-------------------

Tabla de contenido

USO PREVISTO	2
RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA	2
PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO	3
MATERIALES SUMINISTRADOS POR ROCHE	5
REACTIVOS	7
REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN N/D	11
PRECAUCIONES	12
PREPARACIÓN DE LOS CONTROLES Y LOS REACTIVOS	13
RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y POOLING DE MUESTRAS	13
Muestras cadavéricas	14
POOLING Y PIPETEO DE MUESTRAS	15
NOTAS SOBRE EL PROCEDIMIENTO	16
INSTRUCCIONES DE USO	16
CONTROL DE CALIDAD	19
RESULTADOS	19
ADVERTENCIAS	20
LIMITACIONES	20
CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	21
MUESTRAS DE DONANTES VIVOS	21
MUESTRAS DE DONANTES CADAVÉRICOS	34
RENDIMIENTO CLÍNICO	42
MUESTRAS DE DONANTES VIVOS	42
BIBLIOGRAFÍA	49

El apartado de información de revisión del documento se halla al final del documento.

USO PREVISTO

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX, versión 2.0 (v2.0) para uso con el sistema **cobas s** 201, es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección directa del ARN del grupo M del virus de inmunodeficiencia humano tipo 1 (HIV-1), el ARN del grupo O del HIV-1, el ARN del virus de inmunodeficiencia humano tipo 2 (HIV-2), el ARN del virus de la hepatitis C (HCV) y el ADN del virus de la hepatitis B (HBV) en plasma humano.

Esta prueba se ha diseñado para el cribado de ARN de HIV-1 grupo M, ARN de HCV y ADN de HBV en muestras de plasma de donantes de sangre individuales, incluyendo donantes de sangre total, componentes sanguíneos, plasma de origen y otros donantes vivos. La prueba también se puede utilizar en muestras de plasma para cribar donantes de órganos y tejidos en busca de ARN de HIV-1 grupo M, ARN de HCV y ADN de HBV cuando las muestras se obtienen mientras todavía late el corazón del donante y en muestras de sangre de donantes cadavéricos (a corazón parado). Esta prueba no está diseñada para su uso en muestras de sangre del cordón umbilical. El plasma de todos los donantes se puede cribar como muestras individuales. En el caso de las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos, las muestras de plasma se pueden analizar individualmente o en pools compuestos por un máximo de 6 muestras individuales. Tanto en el caso de donantes de células madre progenitoras hematopoyéticas (HPC) obtenidas de la médula ósea, la sangre periférica o la sangre del cordón, como de los donantes de infusión de linfocitos del donante (DLI), el plasma se puede analizar en pools formados por no más de 6 muestras individuales. En el caso de las donaciones de plasma de origen, la muestra se puede analizar en pools compuestos por un máximo de 96 muestras individuales.

Se ha demostrado la capacidad de la prueba para detectar ARN de HIV-1 grupo O y ARN de HIV-2, pero no se ha podido demostrar en estudios clínicos la detección de ARN de HIV-1 grupo O y ARN de HIV-2 en muestras de donante negativas para anticuerpos anti-HIV-1 grupo O o anticuerpos anti-HIV-2, respectivamente.

La prueba se ha diseñado para ser utilizada en combinación con pruebas de serología autorizadas para HIV, HCV y HBV.

En el caso de las muestras individuales, la detección y discriminación de los resultados se realiza simultáneamente para HIV, HCV y HBV.

Esta prueba no está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico de infección por HIV, HCV o HBV.

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 puede considerarse una prueba complementaria para confirmar la infección por HIV en muestras que han resultado reactivas de forma repetida con una prueba autorizada para el cribado de donantes para anticuerpos de HIV y reactivas para HIV con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 puede considerarse una prueba complementaria para confirmar la infección por HCV en muestras que han resultado reactivas de forma repetida con una prueba autorizada para el cribado de donantes para anticuerpos de HCV y reactivas para HCV con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 puede considerarse una prueba complementaria para confirmar la infección por HBV en muestras que han resultado reactivas de forma repetida con una prueba autorizada para el cribado de donantes para el antígeno de superficie de la hepatitis B y reactivas para HBV con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

En las transferencias de sangre y componentes sanguíneos, una de las mayores preocupaciones es la posible transmisión de infecciones víricas, especialmente la del virus de inmunodeficiencia humano tipo 1 (HIV-1) y tipo 2 (HIV-2), el virus de la hepatitis C (HCV) y el de la hepatitis B (HBV). Estos virus se transmiten principalmente por la exposición a sangre o productos hemoderivados contaminados y por la exposición a determinados tejidos o fluidos corporales, ya sea mediante contacto sexual o por transmisión de madre infectada a recién nacido.

El HIV-1 está presente en todo el mundo, con una presencia general estimada del 1,1% (0,56% en América del Norte y 0,25% en Europa occidental). Las personas infectadas con el HIV-1 pueden experimentar una enfermedad similar a una gripe breve e inicialmente aguda asociada a niveles elevados de viremia en sangre periférica a las 3-6 semanas de la infección inicial.¹ Actualmente, existen tres grupos genéticos principales del HIV-1: el grupo M (principal), el grupo N (ni M ni O) y el grupo O (outlier). El grupo M posee una prevalencia alta y existen 9 subtipos, además de varias formas recombinantes circulantes (FRC).²

El HIV-2 se aisló por primera vez en 1986 en pacientes de África occidental. El HIV-1 y el HIV-2 poseen los mismos mecanismos de transmisión y están asociados a infecciones oportunistas similares y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).³ La prevalencia del HIV-2 en algunos países africanos es superior al 1% y constituye un motivo de preocupación creciente en algunas partes de Europa e India.⁴ El primer caso de infección por el HIV-2 en los Estados Unidos se diagnosticó en el año 1987. Los centros para el control y la prevención de enfermedades (CDC) recomiendan una vigilancia permanente para controlar el HIV-2 entre la población de los EE.UU.³

Se considera que el HCV es el agente etiológico del 90% al 95% de los casos de hepatitis post-transfusional no A y no B.^{5, 6} El HCV posee una incidencia a nivel mundial pero se desconoce la cifra exacta de la misma porque la infección suele ser, por lo general, asintomática. Sin embargo, la prevalencia investigada varía entre el 0,5-2,0% de Europa occidental hasta el 20% de Egipto.

En la actualidad, más de dos mil millones de personas han sufrido una infección por HBV en algún momento de sus vidas. De estos dos mil millones de personas, aproximadamente 350 millones están infectados crónicamente y son portadores crónicos del virus.⁷⁻¹¹ Tres cuartas partes de la población mundial vive en zonas con niveles altos de infección. Cada año aparecen más de 4 millones de casos clínicos de infección aguda por HBV.

Las pruebas de cribado serológico han reducido enormemente, aunque no eliminado, el riesgo de transmisión de infecciones víricas mediante transfusión de sangre y productos sanguíneos. El análisis de las donaciones de sangre total y plasma de origen en busca de HBV se iniciaron a principios de la década de 1970 con los ensayos HBsAg; en la década de 1980 se aplicaron también los ensayos anti-HBc. Además del cribado del HBV, las donaciones de sangre y plasma se analizan de forma rutinaria en busca de HIV-1, HIV-2 y anti-HCV a través del cribado con inmunoensayos enzimáticos (EIA). La demanda pública por disponer de estándares de mayor exigencia para el cribado de agentes infecciosos en los productos de transfusiones ha impulsado el avance de la tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (NAT). Diversos estudios han demostrado que las pruebas de ácidos nucleicos víricos (ARN del HIV¹²⁻¹⁴, ARN del HCV^{5, 13-16} y ADN del HBV¹⁷⁻²⁰) pueden seguir reduciendo el riesgo de transmisión de estos agentes en donaciones de sangre realizadas durante el período ventana de seroconversión. Este período de ventana se ha estimado en 22 días como media, pero puede llegar a prolongarse 6 meses en el caso del HIV-1.²¹ Con la implementación de las pruebas NAT de mini-pool del HIV-1, el período ventana se ha reducido considerablemente y el riesgo actual de transmisión del HIV-1 se estima aproximadamente en 1 de cada 2 millones de donaciones.¹³⁻¹⁵ De forma similar, la introducción de NAT para el ARN del HCV redujo el período ventana de anticuerpos negativos en aproximadamente 60 días,¹³⁻¹⁶ con un riesgo estimado actualmente en 1-2 de 1 millón de donaciones. La frecuencia con que se realiza el cribado NAT de ADN del HBV cada vez es mayor. Estudios realizados en países con prevalencia de HBV baja, moderada y alta reflejan resultados NAT para los donantes en el período de ventana que han donado sangre antes de la seroconversión y de donantes con infección por HBV en fase tardía, lo que demuestra una incidencia reducida del HBV transmitido mediante transfusión.^{15, 19, 20, 22, 23}

Para mejorar la eficacia de las pruebas para varias diana, se ha desarrollado la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex (MPX) con objeto de permitir la detección simultánea de varios virus. En la PCR MPX se amplifica más de una secuencia diana y se detecta mediante pares múltiples de cebadores y sondas en un tubo de reacción.

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 es una prueba multiplex cualitativa que permite la detección y discriminación simultáneas de ARN de HIV, ARN de HCV y ADN de HBV con una sola prueba. La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 utiliza una técnica genérica de preparación de ácido nucleico en el equipo COBAS[®] AmpliPrep. El ARN del HIV (ARN de los grupos M y O de HIV-1 y ARN de HIV-2), el ARN del HCV y el ADN del HBV se amplifican, detectan y discriminan mediante la tecnología PCR automatizada y en tiempo real en el analizador COBAS[®] TaqMan[®]. La prueba no discrimina entre los grupos M y O de HIV-1 y HIV-2. La prueba también incorpora un control interno (IC) para supervisar el rendimiento en cada prueba individual, además de la enzima AmpErase para reducir la posible contaminación a causa de material anteriormente amplificado (amplión).

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para uso en el sistema **cobas s** 201 se basa en 4 procesos principales:

1. Pooling automatizado de muestras y pipeteo de controles con el pipeteador Hamilton MICROLAB[®] STAR/STARlet IVD (opcional)
2. Preparación automática de las muestras con el equipo COBAS[®] AmpliPrep
3. Amplificación automatizada de ácidos nucleicos y detección automatizada en tiempo real y discriminación de productos de PCR mediante el analizador COBAS[®] TaqMan[®]
4. Gestión automática de los datos con el programa Pooling and Data Management (PDM)

Pooling y pipeteo automatizado de muestras con el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD

El pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD automatiza el pipeteo de pools y muestras de donantes individuales, la transferencia de alícuotas a placas de plasmotecas (opcional) y el pipeteo de controles de las pruebas como parte del sistema **cobas s** 201. El sistema **cobas s** 201 se utiliza para el análisis de pools de donantes y para las pruebas de resolución de pools reactivos para identificar cada una de las muestras de donantes individuales reactivas. El sistema **cobas s** 201 está diseñado para procesar muestras en lotes. Un lote se define como un conjunto de muestras y controles que se pipetea, extraen, amplifican y detectan conjuntamente. Cuando finaliza el pipeteo de un lote en el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD, el lote se transfiere al equipo COBAS[®] AmpliPrep para realizar el siguiente paso del proceso. Las muestras pipeteadas de forma manual pueden cargarse directamente en el equipo COBAS[®] AmpliPrep sin necesidad del uso previo del pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD.

Nota: para analizar las muestras cadavéricas, la muestra debe diluirse primero manualmente en una proporción de 1:5 con el diluyente para muestras cadavéricas cobas[®] TaqScreen (CADV SPEC DIL) antes de pipetearlas con el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD.

Preparación automática de las muestras con el equipo COBAS® AmpliPrep

Los ácidos nucleicos de la diana y las moléculas de control interno (IC) de Armored RNA añadidas (utilizadas como control del proceso de preparación y amplificación/detección de las muestras) se procesan simultáneamente. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 contiene reactivos que llevan a cabo cinco pasos secuenciales en el equipo COBAS® AmpliPrep. La solución de proteinasa digiere las proteínas para propiciar la lisis, inactivar las nucleasas y facilitar la liberación de ARN y ADN de las partículas víricas. La adición de reactivo de lisis a las muestras provoca una lisis vírica y la inactivación de las nucleasas mediante la desnaturalización de las proteínas. El ARN y el ADN se liberan y se protegen simultáneamente de las nucleasas. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las micropartículas magnéticas añadidas. Esto se produce principalmente a causa de la carga positiva neta en la superficie de las micropartículas magnéticas y la carga negativa de los ácidos nucleicos en la concentración de sal caotrópica junto con la fuerza iónica de la reacción de la lisis. El reactivo de lavado elimina las sustancias no unidas y las impurezas como, por ejemplo, las proteínas desnaturalizadas, los restos de células y potenciales inhibidores de la PCR (hemoglobina, etc.) y reduce la concentración de sal. Los ácidos nucleicos purificados se liberan de las micropartículas magnéticas a una temperatura elevada mediante el tampón de elución.

Amplificación automatizada de ácidos nucleicos con el analizador COBAS® TaqMan®

Tras el aislamiento de los ácidos nucleicos purificados del plasma humano durante la preparación automatizada de las muestras, se utiliza la Master Mix (MPX2 MMX) de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 para realizar la amplificación, detección y discriminación del ARN de HIV, el ARN de HCV, el ADN de HBV y el ARN del IC. Una vez activada mediante la adición de acetato de manganeso, la Master Mix de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 permite la transcripción inversa (para dianas de ARN), seguida de la amplificación mediante PCR de regiones altamente conservadas de ARN de HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2 y HCV, de ADN de HBV y ARN de IC mediante cebadores específicos. La detección simultánea de los ácidos nucleicos amplificados se consigue mediante la generación de señales fluorescentes de la degradación 5'-nucleolítico del HIV-1 (grupos M y O), HIV-2, HCV, HBV y sondas de IC también presentes en la Master Mix. Se utilizan cuatro marcadores fluorescentes exclusivos: un marcador etiqueta la sonda del IC y los otros tres marcan las sondas del HIV, HCV y HBV, lo que permite la identificación independiente de las dianas de HIV, HCV y HBV, así como del IC. Las tres dianas de HIV se identifican con el mismo marcador, lo que significa que no existe diferenciación.

Transcripción inversa y amplificación mediante PCR

Las reacciones de transcripción inversa y amplificación se realizan con una enzima recombinante termoestable, la ADN polimerasa Z05D. En presencia de manganeso (Mn^{2+}), la ADN polimerasa Z05D exhibe actividades tanto de transcriptasa inversa como de polimerasa de ADN. Esto permite que la transcripción inversa y la amplificación por PCR se produzcan en la misma mezcla de reacción.

La amplificación mediante PCR se realiza con la ADN polimerasa Z05D, que extiende los cebadores alineados a lo largo de las plantillas diana para producir un ADN bicatenario (amplicón). Este proceso se repite durante varios ciclos, en cada uno de los cuales se dobla la cantidad de ADN amplicón. La amplificación tiene lugar únicamente en la región de los genomas dianas entre los cebadores; no se amplifican los genomas completos.

Amplificación selectiva

La amplificación selectiva de los ácidos nucleicos diana de la muestra en la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 se lleva a cabo mediante la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina²⁴, pero no del ADN que contiene desoxitimidina o de ARN que contiene ribouridina.^{25, 26} El ADN natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en los amplicones debido al empleo de trifosfato de desoxiuridina como uno de los dNTP del reactivo de Master Mix MPX2; por lo tanto, solamente el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina permite que la enzima AmpErase pueda destruir el amplicón contaminante antes de la amplificación del ADN de la diana. Además, la enzima AmpErase destruye cualquier producto inespecífico que se pueda formar tras la activación inicial de la Master Mix de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 por el manganeso. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de Master Mix MPX2, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de la desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico, la cadena de ADN amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, por lo que el ADN ya no puede amplificarse. La enzima AmpErase continúa inactiva durante un período de tiempo prolongado una vez que se ha expuesto a temperaturas superiores a los 55 °C y, por lo tanto, no destruye el amplicón diana formado tras la PCR.

Detección automatizada en tiempo real de productos de PCR mediante el analizador COBAS® TaqMan®

Durante la amplificación por PCR, la elevada temperatura intermitente durante el ciclado desnatura el amplicón diana y del IC para formar ADN monocatenario. Las sondas de oligonucleótidos específicas para la detección se hibridan con la cadena sencilla del ADN amplificado. Los procesos de amplificación, hibridación y detección se producen simultáneamente.

Detección de productos de PCR^{27, 28}

La Master Mix de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 contiene sondas de detección específicas para el ácido nucleico del HIV-1 (grupos M y O), HIV-2, HCV, HBV o IC. Cada una de las sondas de detección del HIV, HCV, HBV e IC se marca con 1) uno de los cuatro marcadores fluorescentes que actúa como emisor y 2) otro marcador que actúa como enmascarador. Las sondas específicas del HIV, HCV o HBV están asociadas a tres marcadores emisores exclusivos que se miden en longitudes de onda distintas. Un cuarto marcador emisor se asocia a la sonda específica del IC y se mide en una longitud de onda diferente. En todas las sondas se utiliza un solo tipo de marcador enmascarador. Este sistema permite la detección y diferenciación simultáneas de las dianas amplificadas de HIV, HCV y HBV, así como del IC, con cuatro longitudes de onda.

Antes de comenzar la amplificación por PCR, las sondas están intactas y la fluorescencia del marcador emisor se suprime con el marcador enmascarador debido a la transferencia de energía de tipo Förster. Durante la amplificación por PCR, las sondas se hibridan con secuencias de ADN monocatenario específicas y se escinden por la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa Z05D en el momento en que se produce la amplificación. Una vez que el marcador emisor y el marcador enmascarador se separan mediante esta escisión, se desenmascara la actividad fluorescente del marcador emisor. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente.

La detección y diferenciación en tiempo real de los productos de PCR se consigue mediante la medición de la fluorescencia liberada por los marcadores emisores que representan las dianas víricas y el IC.

Gestión automática de los datos con el programa Pooling and Data Management (PDM)

El programa Roche PDM permite al usuario revisar e informar de los resultados. Roche PDM asigna resultados a todas las pruebas como no reactivas, reactivas o no válidas. Además de recuperar y examinar los resultados de la PCR, el programa Roche PDM permite al usuario imprimir informes, buscar resultados, aceptar resultados de los donantes y, si se desea, enviar los resultados al sistema de información de laboratorio (LIS).

MATERIALES SUMINISTRADOS POR ROCHE

Se necesitan tres kits para la detección de ARN de HIV-1 (grupos M y O), HIV-2 y HCV y ADN de HBV en muestras de plasma: 1) prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, 2) kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y 3) reactivo de lavado **cobas**[®] TaqScreen. Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheets, SDS) en las oficinas locales de Roche.

cobas[®] TaqScreen MPX Test, v2.0

(P/N: 05969484 190)

MPX v2.0

96 pruebas

MPX2 CS1

(Casete de reactivo de micropartículas magnéticas para MPX)

MPX2 CS2

(Casete de reactivos de lisis para MPX)

MPX2 CS3

(Casete multireactivo para MPX)

MPX2 CS4

(Casete de reactivo específico para la prueba MPX)

cobas[®] TaqScreen MPX Control Kit, v2.0

(P/N: 05965390 190)

MPX CTL v2.0

6 juegos

MPX M(+)C**, v2.0**

(Control multipositivo **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0)

(Control positivo para HIV-1 M)

(Control positivo para HBV)

(Control positivo para HCV)

MPX O(+)C**, v2.0**

(Control positivo para HIV-1 O de **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0)

MPX 2(+)C**, v2.0**

(Control positivo para HIV-2 de **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0)

MPX (-) **C, v2.0**

(Control negativo de **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0)

TS WR

(Reactivo de lavado **cobas®** TaqScreen)

Nota: para la detección del ARN de HIV-1 grupo M, ARN de HIV-1 grupo O, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV en muestras cadavéricas se necesita el siguiente kit además de los indicados anteriormente: diluyente para muestras cadavéricas cobas® TaqScreen.

CADV SPEC DIL

(Diluyente para muestras cadavéricas **cobas®** TaqScreen)

OTROS MATERIALES NECESARIOS DE VENTA INDEPENDIENTE (posibilidad de compra a Roche)

Esta prueba se debe realizar en el sistema **cobas s** 201. El sistema **cobas s** 201 debe instalarlo un representante de Servicio Técnico de Roche Diagnostics, sistema que debe utilizarse como una configuración completa de sistema. Los componentes individuales del sistema **cobas s** 201 no se pueden utilizar como dispositivos independientes ni deben sustituirse por otros componentes. El sistema **cobas s** 201 utiliza los componentes que se indican a continuación. Consulte la tarjeta de información del producto para obtener información detallada.

Instrumentos y programas para el sistema cobas s 201



- Pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD (opcional), estación de trabajo y programa Pooling Manager
- Equipo COBAS® AmpliPrep
- Analizador COBAS® TaqMan®
- Docking Station (opcional)
- Ordenador para AMPLILINK y programa
- Servidor Roche PDM, estación de trabajo y programa Data Manager
- Archivo de definiciones de pruebas (TDF) de la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0
- Manual del usuario del sistema **cobas s** 201
- Lista de problemas conocidos del sistema **cobas s** 201


Bandejas y material fungible

- Bandejas de muestras (SK24) de COBAS® AmpliPrep (P/N: 28122172001)
- Bandejas de SPU de COBAS® AmpliPrep (P/N: 05471664001)
- Bandejas de reactivos de COBAS® AmpliPrep (P/N: 28122199001)
- Cubetas de reacción (SPU) (P/N: 03755525001)
- Tubos de introducción de muestras (tubos S) con clips de código de barras (P/N: 03137040001)
- Bandejas de puntas K (P/N: 03287343001)
- Caja de tubos K de 12 × 96 (P/N: 03137082001)
- Gradilla de tubos K para COBAS® TaqMan® (P/N: 28150397001)
- Puntas CO-RE de gran volumen (1.000 µl) con filtro (P/N: 04639642001)
- Plasmotecas con etiquetas de código de barras (P/N: 04639634001)
- Láminas de sellado para las plasmotecas (P/N: 04789288001)
- Transportador de muestras para 24 tubos (P/N: 04639502001)
- Transportador de muestras para 32 tubos (P/N: 04639529001)
- Bandeja de puntas (P/N: 04639545001)
- Bandeja de plasmotecas (P/N: 04639553001)
- Transportador de bandejas SK24 (P/N: 04639600001)
- Kit de spray desinfectante Microcide SQ™ o Hamilton (P/N: 06254250001)



- Kit de detergente Hamilton MICROLAB (P/N: 06254268001)
- Guantes de laboratorio, sin polvo

REACTIVOS

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0 96 pruebas (P/N: 05969484 190)	MPX2 CS1 MGP (Micropartículas magnéticas, 2 × 7,0 ml) 93% de isopropanol**	2 × 48 pruebas	 <p>PELIGRO</p> <p>H225 Líquido y vapores muy inflamables. H319 Provoca irritación ocular grave. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo. P210 Mantener alejado del calor, de chispas, de llamas abiertas y de cualquier otra fuente de ignición. No fumar. P233 Mantener el recipiente herméticamente cerrado. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P280 Llevar guantes/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua/ducharse. P370 + P378 En caso de incendio: utilizar arena seca, polvo químico seco o espuma resistente al alcohol para la extinción. 67-63-0 Propan-2-ol</p>
	MPX2 CS2 LYS (Reactivo de lisis, 2 × 78 ml) Citrato de sodio dihidratado 42,5% de tiocianato de guanidina** < 14% de polidocanol 0,9% de ditiotreititol	2 × 48 pruebas	 <p>ADVERTENCIA</p> <p>H302 + H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H319 Provoca irritación ocular grave. H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P273 Evitar su liberación al medio ambiente. P280 Llevar gafas/máscara de protección. P304 + P340 + P312 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico en caso de malestar. P337 + P313 Si persiste la irritación ocular: consultar a un médico. P501 Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 593-84-0 tiocianato de guanidina</p>

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0 96 pruebas (P/N: 05969484 190)	MPX2 CS3 Pase (Solución de proteinasa; 2 × 3,8 ml) Tampón TRIS < 0,05% de EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio ≤ 7,8% de proteinasa** Glicerol	2 × 48 pruebas	 PELIGRO H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel. H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol. P280 Utilice guantes protectores. P284 Llevar equipo de protección respiratoria. P304 + P340 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 39450-01-6 Proteinasa, serina de Tritirachium album
	EB (Buffer de elución; 2 × 7,0 ml) Tampón TRIS EDTA 0,09% de azida sódica ≤ 0,002% de ARN poli Ar (sintético)	2 × 48 pruebas	N/A

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
<p>cobas® TaqScreen MPX Test, v2.0</p> <p>96 pruebas (P/N: 05969484 190)</p>	<p>MPX2 CS4</p> <p>MPX v2.0 MMX-R1 (Reactivo 1 de Master Mix MPX, v2.0; 2 × 3,0 ml) Acetato de potasio Acetato de manganeso Glicerol 14,4% de sulfóxido de dimetilo 0,08% de azida sódica Ácido acético</p> <hr/> <p>MPX MMX-R2, v2.0 (Reactivo 2 de Master Mix MPX, v2.0; 2 × 2,5 ml) Tampón tricina Cloruro potásico Hidróxido potásico 6% de sulfóxido de dimetilo Glicerol EDTA Tween 20 Igepal CA630 < 0,12% de dATP, dGTP, dCTP, dUTP < 0,01% de cebadores ascendente y descendente para HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV, HBV y control interno < 0,01% de sondas con marcador fluorescente para HIV-1, HIV-2, HCV y HBV < 0,01% de sonda con marcación fluorescente para el control interno < 0,01% de aptámero oligonucleótido < 0,01% de ADN polimerasa Z05D (microbiana) < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) 0,09% de azida sódica</p> <hr/> <p>MPX IC, v2.0 (Control interno MPX, v2.0; 2 × 8 ml) Tampón TRIS ≤ 0,002% de ARN poli Ar (sintético) EDTA 0,05% de azida sódica < 0,001% de ARN sintético no infeccioso de control interno encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2</p>	<p>2 × 48 pruebas</p>	<p>N/A</p>

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
cobas® TaqScreen MPX Control Kit, v2.0 6 juegos (P/N: 05965390 190)	MPX M(+)C, v2.0 (Control multipositivo de cobas® TaqScreen MPX, v2.0; 6 × 1,6 ml) < 0,001% de ARN sintético no infeccioso de HIV-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2 < 0,001% de ADN sintético no infeccioso de HBV encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda < 0,001% de ARN sintético no infeccioso de HCV encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2 Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas autorizadas por la FDA de EE. UU. para anticuerpos de HCV, anticuerpos de HIV-1/2, HBsAg, HBcAg y antígeno p24 de HIV; ARN de HIV-1, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**	6 × 24 pruebas	  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. P333 + P313 En caso de irritación o erupción cutánea: consultar a un médico. P362 + P364 Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. P501 Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada. 55965-84-9, mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona [n.º CE 247-500-7] y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona [n.º CE 220-239-6] (3:1)
	MPX O(+)C, v2.0 (Control positivo para HIV-1 O de cobas® TaqScreen MPX v2.0; 6 × 1,6 ml) < 0,001% de ARN sintético no infeccioso de HIV-1 grupo O encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2 Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas autorizadas por la FDA de EE. UU. para anticuerpos de HCV, anticuerpos de HIV-1/2, HBsAg, HBcAg y antígeno p24 de HIV; ARN de HIV-1, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**		
	MPX 2(+)C, v2.0 (Control positivo para HIV-2 de cobas® TaqScreen MPX v2.0; 6 × 1,6 ml) < 0,001% de ARN sintético no infeccioso de HIV-2 encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2 Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas autorizadas por la FDA de EE. UU. para anticuerpos de HCV, anticuerpos de HIV-1/2, HBsAg, HBcAg y antígeno p24 de HIV; ARN de HIV-1, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin® 300**		

Kit/Casetes	Componentes e ingredientes de los reactivos	Cantidad por prueba	Símbolo de seguridad y advertencia*
	MPX (-) C, v2.0 6 × 1,6 ml (Control negativo de cobas [®] TaqScreen MPX v2.0; 6 × 1,6 ml) Plasma humano negativo, no reactivo según pruebas autorizadas por la FDA de EE. UU. para anticuerpos de HCV, anticuerpos de HIV-1/2, HBsAg, HBcAg y antígeno p24 de HIV; ARN de HIV-1, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV no detectables mediante métodos de PCR 0,1% de conservante ProClin [®] 300**		
cobas [®] TaqScreen Wash Reagent 5,1 l (P/N: 04404220 190)	TS WR (Reactivo de lavado cobas [®] TaqScreen) Citrato de sodio dihidratado 0,1% de metilparabén	1 × 96 pruebas	N/A
cobas [®] TaqScreen Cadaveric Specimen Diluent Kit 96 pruebas (P/N: 05002125 190)	CADV SPEC DIL (Diluyente para muestras cadavéricas cobas [®] TaqScreen) EDTA	4 × 100 ml	Se incluye un símbolo de riesgo en el envase del kit.

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

** Sustancia peligrosa.

REQUISITOS DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN N/D

- La temperatura ambiente debe oscilar entre 15 y 30 °C.
- No congele los reactivos ni los controles.
- Almacene los reactivos **MPX2 CS1**, **MPX2 CS2**, **MPX2 CS3** y **MPX2 CS4** a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Sin usar, estos reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada.
- Una vez en uso, los reactivos se mantienen estables durante 20 días si se conservan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o hasta la fecha de caducidad, lo que ocurra antes.
- Los reactivos se pueden utilizar para un total de 5 series hasta acumular un máximo de 40 horas en el equipo COBAS[®] AmpliPrep. Entre uso y uso, los reactivos deben almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. El programa AMPLILINK supervisa las horas de uso acumuladas de los casetes de reactivos en el equipo COBAS[®] AmpliPrep y bloquea los casetes para impedir que se utilicen cuando llegan a acumular 40 horas.
- Los reactivos se mantienen estables durante un total de 24 horas seguidas en el equipo COBAS[®] AmpliPrep. El programa AMPLILINK no supervisa el número de horas seguidas que los casetes de reactivos permanecen en el equipo COBAS[®] AmpliPrep, ni tampoco el número de series para las que se han utilizado los casetes. Es responsabilidad del usuario desechar los casetes de reactivos cuando se alcanzan 24 horas seguidas o se han realizado 5 series en el equipo.
- Almacene los controles **MPX M(+)C, v2.0**, **MPX O(+)C, v2.0**, **MPX 2(+)C, v2.0** y **MPX (-) C, v2.0** a una temperatura entre 2 y 8 °C. Los controles se mantienen estables hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abiertos, deben desecharse las partes sobrantes.
- Almacene el reactivo **TS WR** a una temperatura entre 15 y 30 °C. Sin abrir, **TS WR** se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abierto, este reactivo se mantiene estable durante 30 días a una temperatura entre 15 y 30 °C o hasta su fecha de caducidad, lo que ocurra antes.
- Almacene el kit **CADV SPEC DIL** a una temperatura comprendida entre 15 y 30 °C. Sin abrir, **CADV SPEC DIL** se mantiene estable hasta la fecha de caducidad indicada. Una vez abierto, el reactivo se mantiene estable durante 30 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o hasta su fecha de caducidad, lo que se produzca primero.

PRECAUCIONES

PARA DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

- A. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones generales cuando realice la prueba.^{29, 30} Sólo el personal experto en el uso de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y formado en la manipulación de materiales infecciosos debería llevar a cabo este procedimiento. 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 diluida al 10%). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70%.
- B. **PRECAUCIÓN: los controles MPX M(+), v2.0, MPX O(+), v2.0, MPX 2(+), v2.0 y MPX (-) C, v2.0 contienen plasma humano procedente de sangre humana. El material original se ha analizado y no se ha considerado reactivo a la presencia de anticuerpos frente al HIV-1/2, al HCV, al antígeno p24 del HIV, HBsAg y anticuerpos frente al HBcAg. Asimismo, el material original se ha analizado mediante la prueba cobas[®] TaqScreen MPX v2.0. En ensayos del plasma humano negativo mediante métodos de PCR, no se detectó ARN de HIV-1 (grupos M y O), ARN de HIV-2, ARN de HCV o ADN de HBV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos. Todos los materiales procedentes de la sangre humana 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 lejía diluida o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- C. Adopte las precauciones rutinarias del laboratorio. No pipetee con la boca. No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo. Utilice guantes desechables, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit. Lávese a conciencia las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- D. **EB, MPX v2.0 MMX-R1, MPX MMX-R2, v2.0 y MPX IC, v2.0** contienen azida sódica como conservante. No utilice tubos metálicos para transferir reactivos. Si las soluciones con azida sódica se desechan en un sistema de cañerías, es preciso diluirlas y dejar correr abundante agua. Estas precauciones son recomendables para evitar la acumulación de depósitos en los tubos metálicos en los que podrían producirse explosiones.
- E. **Se ha demostrado que la heparina inhibe la PCR. No utilice plasma con heparina en este procedimiento.**
- F. Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin nucleasa. Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación cruzada de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.
- G. Utilice sólo los consumibles suministrados o que se requieran expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- H. Manipule todos los materiales que contengan muestras o controles de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio para evitar la contaminación cruzada de las muestras o los controles.
- I. Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, tubo de control y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- J. Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, federal, estatal y local.
- K. No utilice la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, el kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, el kit de reactivo de lavado **cobas**[®] TaqScreen ni el kit de diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen con posterioridad a la fecha de caducidad. No intercambie, mezcle ni combine reactivos de distintos kits o lotes. No cargue lotes de reactivos mezclados en el equipo COBAS[®] AmpliPrep.
- L. Puede solicitar Hojas de Datos de Seguridad (Safety Data Sheets, SDS) en las oficinas locales de Roche.
- M. 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 LYS, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.**
- N. 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.
- O. Evite el uso de muestras de donantes vivos excesivamente hemolizadas.
- P. La contaminación con glóbulos rojos de las muestras de plasma (> 2,5%) puede inhibir la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.
- Q. No utilice ningún componente que tenga dañada la etiqueta del código de barras en ninguna de las fases de la prueba.
- R. Almacene todas las muestras a las temperaturas especificadas puesto que su exposición a temperaturas elevadas puede afectar la estabilidad del virus. Consulte el apartado RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y POOLING DE MUESTRAS para conocer las instrucciones específicas.

PREPARACIÓN DE LOS CONTROLES Y LOS REACTIVOS

A. Extraiga el kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y los reactivos de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 de la nevera como mínimo 30 minutos antes de su uso.

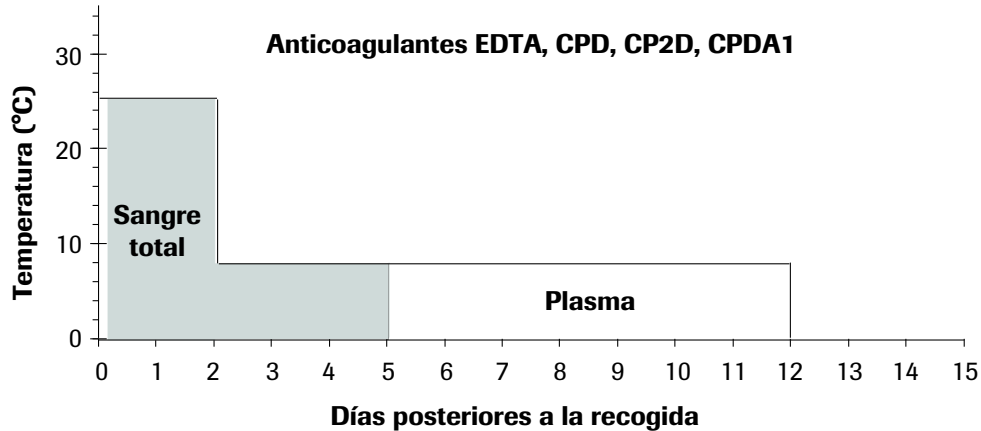
RECOGIDA, ALMACENAMIENTO Y POOLING DE MUESTRAS

NOTA: manipule todas las muestras como si fueran agentes infecciosos.

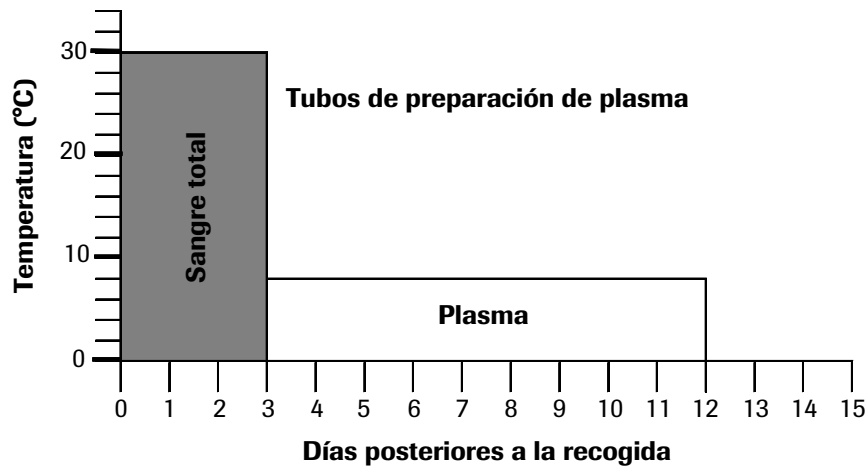
Muestras de donantes vivos

A. Las muestras de plasma recogidas con anticoagulante EDTA, CPD, CPDA1, CP2D y citrato de sodio al 4% o en tubos de preparación de plasma (PPT) pueden utilizarse con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos/las bolsas de recogida de muestras sobre manipulación y centrifugación. La estabilidad del virus puede verse afectada por las temperaturas elevadas.

B. La sangre conservada con anticoagulantes EDTA, CPD, CPDA1 o CP2D puede almacenarse un máximo de 48 horas a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C y un máximo de 72 horas a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C antes de la separación del plasma de las células. Para un almacenamiento superior a 5 días, separe el plasma de los glóbulos rojos mediante centrifugación y extraiga el plasma separado de los glóbulos rojos antes del almacenamiento. Después de la extracción, el plasma puede almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C durante un período máximo de 7 días, o de 30 días si se conserva a ≤ -18 °C. El plasma puede congelarse y descongelarse hasta tres veces. El plasma en plasmotecas cubiertas puede almacenarse entre 2 y 8 °C durante un máximo de 7 días o a ≤ -18 °C durante 7 días.



C. La sangre recogida en tubos de preparación de plasma Vacutainer[®] de Becton Dickinson puede almacenarse hasta 72 horas a una temperatura entre 2 y 30 °C antes de la separación del plasma mediante centrifugación. El plasma separado mediante gel en tubos de preparación de plasma puede almacenarse a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C durante un período adicional de nueve días.⁴⁰



D. El plasma obtenido por aféresis con anticoagulante de citrato de sodio al 4% puede almacenarse un máximo de 48 horas a una temperatura entre 2 y 25 °C. A continuación, el plasma obtenido por aféresis puede almacenarse en las siguientes dos condiciones:

- Entre 2 y 8 °C durante un máximo de 28 días y a ≤ -18 °C durante 30 días, admitiendo un (1) proceso de descongelación.
- Entre 2 y 8 °C durante un máximo de 20 días y a ≤ -18 °C durante 6 meses, admitiendo dos (2) procesos de descongelación.

El plasma obtenido por aféresis en plasmotecas puede almacenarse un máximo de 48 horas a una temperatura entre 2 y 25 °C y hasta 7 días a 2-8 °C.

E. Las siguientes directrices sobre volumen de plasma se basan en el pipeteo de los tubos de donantes de 13 × 100 mm de plástico en el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Los volúmenes indicados corresponden al plasma situado en la parte superior de los glóbulos rojos envasados y se aplican cuando se realiza la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0.

Tipo de pool	Volumen mínimo de plasma
Pool primario*	3 ml
Pool de repetición	1,5 ml
Pool de resolución	2 ml

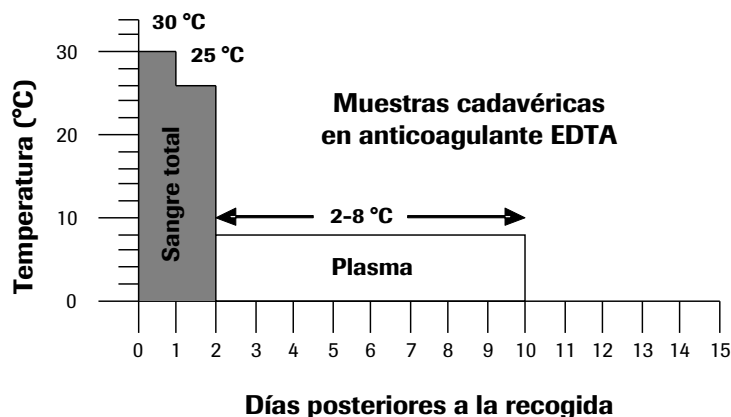
* Incluye la creación de placas de plasmotecas

F. **No congele la sangre total.**⁴⁰

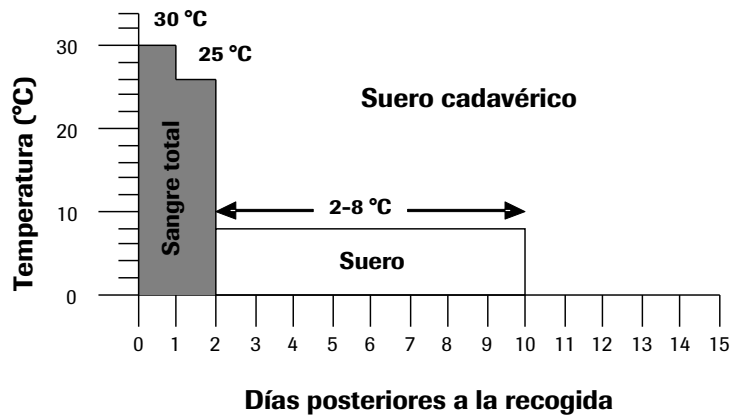
- G. Antes de utilizarlas, deje las muestras individuales o en pool a temperatura ambiente durante un mínimo de 30 minutos.
- H. El usuario debe validar cualquier otra condición de recogida y almacenamiento. Si las muestras se van a transportar, es recomendable envasarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación federal e internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.³¹
- I. **Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación cruzada de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.**

Muestras cadavéricas

- A. Las muestras de donantes cadavéricos cuyo color oscila entre el paja y el rosa se clasifican como moderadamente hemolizadas y aquellas cuyo color varía del rojo al rojo oscuro y el marrón se clasifican como muestras altamente hemolizadas.
- B. Las muestras de sangre cadavéricas recogidas en tubos con anticoagulante EDTA o en tubos de suero pueden utilizarse con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos. La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.
- C. La sangre cadavérica recogida en anticoagulante EDTA puede almacenarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 2 y 30 °C y hasta 24 horas a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C antes de la separación del plasma de las células. Para almacenamientos superiores a 48 horas, separe el plasma de los glóbulos rojos mediante centrifugación y extraiga el plasma separado de los glóbulos rojos antes de almacenarlo. Después de la extracción, el plasma puede almacenarse a una temperatura entre 2 y 8 °C durante un período adicional de 8 días. El plasma también puede almacenarse a ≤ -18 °C durante 30 días tras la separación de los glóbulos rojos. El plasma cadavérico conservado en EDTA puede congelarse y descongelarse hasta tres veces.



- D. La sangre cadavérica recogida como suero puede almacenarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 2 y 30 °C o durante un máximo de 24 horas a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C antes de la separación de las células. Para almacenamientos superiores a 48 horas, separe el suero del coágulo mediante centrifugación y extraiga el suero separado coágulo del antes de almacenarlo. Después de la eliminación de las células, el suero puede almacenarse a una temperatura entre 2 y 8 °C durante un período adicional de 8 días. El suero también puede almacenarse a ≤ -18 °C durante un máximo de 30 días tras la extracción del coágulo. El suero cadavérico conservado en EDTA puede congelarse y descongelarse hasta tres veces.



- E. La sangre cadavérica recogida en tubos de preparación de plasma puede almacenarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 2 y 30 °C y de un máximo de 24 horas a una temperatura comprendida entre 2 y 25 °C antes de la separación del plasma mediante centrifugación. Para almacenamientos superiores a 48 horas, el plasma separado mediante gel en tubos de preparación de plasma puede almacenarse a una temperatura entre 2 y 8 °C durante un período adicional de 8 días.
- F. Las muestras cadavéricas diluidas en una proporción de 1:5 con diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen pueden almacenarse durante un máximo de 7 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C; tras la mezcla, moviendo la pipeta hacia arriba y hacia abajo cuatro veces en cada tubo, las muestras pueden analizarse con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.
- G. No se ha calculado el período de almacenamiento de muestras cadavéricas diluidas en una proporción de 1:5 con diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen a una temperatura de ≤ -18 °C.
- H. Si las muestras se van a transportar, es recomendable envasarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación federal e internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.³¹
- I. **Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación cruzada de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.**

POOLING Y PIPETEO DE MUESTRAS

- A. El sistema **cobas s** 201 utiliza el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD para realizar las actividades de pipeteo y pooling. El pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD lleva cabo la lectura de código de barras y las operaciones de pooling de las muestras para formar los pooles.
- B. Cuando la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detecta pooles reactivos, se puede utilizar el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD para pipetear las muestras individuales desde las plasmotecas o los tubos de muestras originales para realizar un segundo análisis.
- C. El sistema **cobas s** 201 también se puede utilizar sin la instalación de un pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD, en cuyo caso la introducción del ID de código de barras debe realizarse manualmente. Consulte el *Manual de usuario del sistema cobas s 201* para obtener las instrucciones correspondientes.

NOTAS SOBRE EL PROCEDIMIENTO

A. Equipo

1. Prepare el sistema **cobas s** 201 para el funcionamiento de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del sistema cobas s 201*.
2. Lleve a cabo el mantenimiento recomendado de los instrumentos para garantizar un funcionamiento adecuado.

B. Reactivos

1. Extraiga el kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y los reactivos de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 de la nevera como mínimo 30 minutos antes de su uso. El reactivo de lavado **cobas**[®] TaqScreen debe estar a temperatura ambiente antes de utilizarlo. Consulte el apartado “Requisitos de almacenamiento y manipulación” para conocer las condiciones de almacenamiento de los reactivos.
2. Cada kit de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 contiene suficiente material para procesar un total de 96 pruebas que se recomienda ejecutar en lotes formados por un máximo de 24 pruebas por bandeja SK24. Con cada lote o bandeja SK24 debe procesarse una réplica del control negativo (**MPX (-) C, v2.0**) y una réplica de cada control positivo (**MPX M(+)**C, v2.0****, **MPX O(+)**C, v2.0**** y **MPX 2(+)**C, v2.0****).
3. Cada kit de diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen MPX contiene suficiente material para procesar un total de 96 pruebas que se recomienda ejecutar en lotes formados por un máximo de 24 pruebas por bandeja SK24. Con cada lote o bandeja SK24 debe procesarse una réplica del control negativo (**MPX (-) C, v2.0**) y una réplica de cada control positivo (**MPX M(+)**C, v2.0****, **MPX O(+)**C, v2.0**** y **MPX 2(+)**C, v2.0****). El procesamiento de los controles es el mismo para el análisis de las muestras de donantes vivos y cadavéricos con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.
4. Los controles son de un solo uso.
5. El sistema evitará el uso de reactivos que hayan excedido el número de horas de uso permitidas en el equipo COBAS[®] AmpliPrep (más de 40 horas totales o de 20 días después del primer uso), reactivos que hayan caducado o casetes mezclados procedentes de juegos de casetes que se haya utilizado con anterioridad en el sistema.

C. Procesamiento de las muestras

1. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
2. Extreme la precaución para evitar la contaminación de las muestras y de **MPX (-) C, v2.0** con controles positivos.

D. Identificación de la diana vírica individual

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detecta y diferencia simultáneamente las diana de HIV, HCV y HBV. En cambio, no permite diferenciar entre si las tres diana de HIV (HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O y HIV-2).

INSTRUCCIONES DE USO

El sistema **cobas s** 201 consta de cuatro procesos principales: pipeteo de muestras y controles con el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD opcional, preparación de muestras en el equipo COBAS[®] AmpliPrep mediante la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, amplificación/detección en el analizador COBAS[®] TaqMan[®] y gestión de los datos.

Cada kit de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 contiene ocho casetes: dos casetes **MPX2 CS1** con micropartículas magnéticas, dos casetes **MPX2 CS2** con reactivo de lisis, dos casetes **MPX2 CS3** con solución de proteinasa y tampón de elución y dos casetes **MPX2 CS4** con control interno MPX v2.0, reactivo 1 de Master Mix MPX v2.0 y reactivo 2 de Master Mix MPX v2.0. Este kit de prueba debe utilizarse en combinación con el kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y el reactivo de lavado **cobas**[®] TaqScreen y, para el procesamiento de muestras cadavéricas, con el kit de diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen.

Nota: no abra los casetes.

Nota: no mezcle reactivos de diferentes lotes o de distintas botellas de un mismo lote.

Nota: no mezcle reactivos (incluyendo los casetes) de kits distintos. No cargue lotes de reactivos mezclados en el equipo COBAS[®] AmpliPrep.

Nota: no separe los tubos de controles de los adaptadores (el soporte de los tubos de control de plástico).

Nota: el programa PDM realiza el seguimiento de cada lote y hace que éstos se analicen en un único equipo COBAS[®] AmpliPrep y un analizador COBAS[®] TaqMan[®] vinculados al mismo ordenador AMPLILINK.

Nota: no separe los lotes en más de un equipo COBAS[®] AmpliPrep o analizador COBAS[®] TaqMan[®].

Lleve a cabo todas las tareas de mantenimiento tal y como se describe en el *Manual del usuario del sistema cobas s 201*.

Consulte el *Manual del usuario del sistema cobas s 201* para obtener las instrucciones detalladas de uso. Para obtener un rendimiento correcto del ensayo es importante que el usuario siga las instrucciones del *Manual del usuario del sistema cobas s 201*.

A. Pipeteo de controles y muestras con el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD

Nota: evite la contaminación de los guantes durante la preparación de las muestras y los controles.

Nota: invierta los controles un mínimo de 3 veces como se indica a continuación para mezclarlos.

- **Invertir una vez significa girar el control hacia abajo y hacia arriba de nuevo.**
- **Para cada inversión, mantenga el control durante 2 segundos como mínimo en cada orientación (es decir, gire el control hacia abajo y manténgalo así durante 2 segundos como mínimo. A continuación, vuelva a girar el control hacia arriba y manténgalo en esta posición durante 2 segundos como mínimo.)**

Nota: para el análisis de las muestras cadavéricas, las placas de plasmotecas se desactivan durante la instalación del sistema cobas s 201.

Nota: las dianas víricas de los controles, de las muestras en pool e individuales y de las muestras cadavéricas diluidas permanecen estables en el sistema (hasta 30 °C) durante un mínimo de 18 horas antes de la extracción en el equipo COBAS® AmpliPrep.

- A1. Lleve a cabo los procedimientos de puesta en marcha en el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD y, a continuación, inicie el programa Roche PDM Pooling Wizard siguiendo las instrucciones que aparecen en pantalla.
- A2. Extreme la precaución para no dañar el código de barras identificador de los tubos de muestras y los adaptadores de los tubos de controles. En caso de daños, el sistema no podrá reconocer las muestras ni los controles.
- A3. Destape los tubos de controles y cargue las muestras, el material fungible y los controles en el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Cuando las muestras, el material fungible y los controles se hayan cargado, el equipo transfiere los controles y las muestras a los tubos S.
- A4. Para las muestras cadavéricas individuales, pipetee 2.000 µl de **CADV SPEC DIL** en tubos debidamente etiquetados de 13 × 100 mm, añada 500 µl de muestra cadavérica a cada uno de los tubos y mezcle cada muestra moviendo la pipeta hacia arriba y hacia abajo cuatro (4) veces. Mantenga una identificación correcta de las muestras durante el procedimiento de dilución manual. Introduzca las muestras cadavéricas diluidas, el material fungible y los controles en el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD. Cuando las muestras cadavéricas diluidas, el material fungible y los controles se han terminado de cargar, el equipo transfiere los controles y las muestras diluidas a los tubos de muestras (tubos S).
- A5. Cuando la serie de pipeteo haya finalizado, revise las alarmas e imprima los informes de pooling. Revise los pooles y las placas de plasmoteca, si se utilizan. Invalide los pools y/o pocillos si observa contaminación de glóbulos rojos o si los volúmenes no son consistentes.
- A6. Vuelva a tapar los tubos S y transfiera las bandejas SK24 al equipo COBAS® AmpliPrep para la extracción de ácidos nucleicos. Es necesario volver a tapar los tubos S para asegurar su correcto funcionamiento en el equipo COBAS® AmpliPrep.
- A7. Selle las plasmotecas (si se crearon durante la serie analítica de pipeteo).
- A8. Retire y almacene los tubos de donantes. Consulte el apartado “Recogida, almacenamiento y pooling de muestras” para conocer las condiciones.
- A9. Retire y deseche los tubos de controles. (Los tubos de controles son de un solo uso.)

B. Preparación y carga de los reactivos de la prueba cobas® TaqScreen MPX, v2.0

Nota: extreme la precaución para no dañar las etiquetas de los casetes. El lector de código de barras del equipo COBAS® AmpliPrep lee automáticamente la etiqueta del código de barras de cada casete cuando las bandejas de reactivos se cargan en el equipo.

- B1. Extraiga los reactivos de la nevera como mínimo 30 minutos antes de procesar la primera muestra. No es necesaria ninguna otra preparación de los reactivos.
- B2. Antes de comenzar, hay que cargar un número suficiente de casetes para alojar el número total de muestras que se procesará durante el funcionamiento continuo del equipo COBAS® AmpliPrep. Cada casete contiene reactivos para 48 pruebas. Consulte el *Manual de usuario del sistema cobas s 201* para obtener información relacionada con la carga de reactivos para un funcionamiento continuo.
- B3. Introduzca el casete **MPX2 CS1** en la bandeja de reactivos de forma que el código de barras del casete quede alineado con el código de barras de la bandeja situado en la parte derecha de la misma. Los casetes **MPX2 CS1** deben cargarse juntos en una bandeja de reactivos distinta a la del resto de los casetes.

- B4. Cargue la bandeja de reactivos que contiene **MPX2 CS1** en la posición para bandejas A. No cargue lotes de reactivos mezclados en el equipo.
- B5. Coloque un juego de casetes **MPX2 CS2, MPX2 CS3 y MPX2 CS4** por cada casete **MPX2 CS1** en una o varias bandejas de reactivos, asegurándose de que los códigos de barras de los casetes queden alineados con el código de barras de la bandeja situado en el lateral derecho de la misma.
- B6. Cargue las bandejas de reactivos en las posiciones para bandejas B, C, D o E.
- B7. Las lámparas LED que aparecen en la barra de estado del equipo COBAS® AmpliPrep se iluminan en verde cuando todos los componentes necesarios del kit están cargados y son reconocidos por el sistema.

C. Extracción de ácidos nucleicos de las muestras y los controles pipeteados

Nota: lleve a cabo los siguientes pasos en una superficie limpia de la mesa de trabajo.

- C1. Quite el envoltorio del paquete de la cubeta de reacción (SPU) sin alterar la cinta ni la cubierta de plástico.
- C2. Con la pestaña larga de la bandeja de SPU mirando hacia el usuario, introduzca el paquete de la SPU en el lado derecho de la bandeja de SPU.
- C3. Retire la cinta y la cubierta de plástico de las SPU colocadas en la bandeja. Asegúrese de que las SPU están introducidas, niveladas y bien ajustadas en la bandeja. Una SPU elevada podría provocar una avería en el equipo. No presione la punta de muestras de la SPU.
- C4. Coloque las bandejas de SPU cargadas en las posiciones para bandejas J, K o L del equipo COBAS® AmpliPrep hasta que la bandeja esté totalmente introducida y el sistema la reconozca. El equipo almacenará un máximo de 72 SPU. Cargue como mínimo el número de SPU que se requiere para la serie analítica o introduzca más si es necesario.
- C5. Quite el envoltorio de celofán de las bandejas de tubos K y puntas K cargadas con precaución para no inclinar las bandejas. Asegúrese de que todas están bien asentadas.
- C6. Cargue como mínimo el número requerido de bandejas de tubos K en las posiciones M, N u O y de bandejas de puntas K en las posiciones M, N, O o P del equipo COBAS® AmpliPrep.
- C7. Cargue las bandejas SK24 que contienen las muestras pipeteadas con el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD en las posiciones F, G o H del equipo COBAS® AmpliPrep. Empújelas hasta que queden bien encajadas. Compruebe el estado del sistema en la ventana “Sample” para asegurarse de que se han reconocido todas las muestras de las bandejas.
- C8. Compruebe el programa AMPLILINK para asegurarse de que se han cargado los reactivos y el material fungible adecuados para la preparación de muestras que se desea.
- C9. Pulse la opción “Start” en la estación de trabajo del programa AMPLILINK para comenzar el procedimiento de preparación de las muestras en el equipo COBAS® AmpliPrep.

D. Amplificación y detección

Nota: la Master Mix de trabajo junto con las muestras procesadas contenidas en la bandeja SK24 posee una estabilidad limitada. El analizador COBAS® TaqMan® debe estar preparado para aceptar las muestras en cuanto el equipo COBAS® AmpliPrep haya terminado el procedimiento de preparación de las muestras.

- D1. En instalaciones sin Docking Station, transfiera la bandeja SK24 que contiene las muestras procesadas y la Master Mix al analizador COBAS® TaqMan® para iniciar automáticamente la amplificación y la detección. El programa AMPLILINK realiza el seguimiento de cada una de las muestras procesadas hasta el momento en que se añade la Master Mix e invalida la muestra si la amplificación no se inicia dentro del período indicado en el archivo de definiciones de pruebas. Para simplificar el flujo de trabajo, transfiera la bandeja SK24 al analizador COBAS® TaqMan® en el plazo de 1 hora tras finalizar la preparación de muestras de esa bandeja.
- D2. Cuando finaliza la amplificación y detección en el analizador COBAS® TaqMan®, los tubos K analizados se transfieren automáticamente al depósito de residuos.
- D3. Los resultados se aceptan y transfieren automáticamente al programa PDM.

E. Revisión y validación de los resultados

- E1. Inicie sesión en la estación de trabajo de Data Manager de Roche.
- E2. Recupere los lotes no revisados (Unevaluated Batches) de la pestaña “Review Batches” de la estación de trabajo de Data Manager.
- E3. Revise las alarmas. Para ello, resalte un lote y haga clic en “Next”.

- E4. Revise los resultados de los controles (Control Results) de la pestaña “Controls Review”. Consulte el apartado “Control de calidad” para conocer los criterios de validez de los controles.
- E5. Revise los resultados del pool (Pool Results) en la pestaña “Pools Review” del lote seleccionado. El usuario puede invalidar manualmente los pools no reactivos si así lo precisa. Hay que volver a analizar las muestras de donantes que haya en un pool no válido.
- E6. Revise y valide los donantes en la pestaña “Donor Review” del lote seleccionado.
- E7. Imprima los informes y envíelos al LIS (sistema de información del laboratorio), si corresponde.

CONTROL DE CALIDAD

- 1. Con cada lote debe procesarse una réplica del control negativo (**MPX (-) C, v2.0**) y una réplica de cada uno de los tres controles positivos (**MPX M(+)**C, v2.0**, MPX O(+)**C, v2.0** y MPX 2(+)**C, v2.0****).
- 2. Estado del lote: cuando los controles del lote son válidos, se les asigna el estado “Complete, Valid”. Si alguno de los controles del lote no es válido, el lote entero será no válido y tendrá que repetirse. El programa PDM invalida automáticamente los resultados de acuerdo con los errores de los controles.

a. Control negativo

Para que un lote se considere válido, es necesario que el control negativo (**MPX (-) C, v2.0**) sea válido. Para que el control negativo sea válido, el resultado debe interpretarse como no reactivo y el control interno asociado debe ser válido. Si el resultado del control negativo se interpreta como no válido, todo el lote se considera no válido.

b. Controles positivos

Para que un lote se considere válido, es necesario que los 3 controles positivos (**MPX M(+)**C, v2.0**, MPX O(+)**C, v2.0** y MPX 2(+)**C, v2.0****) sean válidos. Para que los 3 controles positivos sean válidos, el resultado debe interpretarse como reactivo para cada uno de los controles positivos y el control interno asociado debe ser válido. Si el resultado de cualquiera de los controles positivos se interpreta como no válido, todo el lote se considera no válido.

3. Control interno de las muestras de donantes

- a. Para que una muestra de donante arroje un resultado válido no reactivo (-), el control interno asociado debe ser válido; de lo contrario, el resultado no reactivo será no válido y tendrá que volver a analizar la muestra de donante.
- b. Para que una muestra de donante tenga un resultado reactivo válido, el control interno asociado puede ser tanto válido como no válido.

RESULTADOS

- 1. Los resultados de las muestras serán válidos sólo si el lote del que forman parte es válido. Consulte el apartado “Control de calidad” para conocer los criterios de aceptación. Se miden cuatro parámetros para cada muestra: uno para cada diana vírica y uno para el control interno.
- 2. El programa PDM informa de los resultados de donantes finales de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 de la siguiente manera:

Estado del lote	Interpretación
Completed Non-Reactive	Se ha determinado el resultado final para cada diana y todos son no reactivos.
Accepted Non-Reactive	Se ha aceptado el resultado “Completed Non-Reactive”.
Completed Reactive	Se ha determinado el resultado para cada diana y como mínimo uno es reactivo.
Accepted Reactive	Se ha aceptado el resultado “Completed Reactive”.
Completed Unresolved	El límite de tiempo de viabilidad ha caducado antes de aceptar el resultado y no era reactivo ninguno de los resultados.
Accepted Unresolved	Se ha aceptado el resultado “Completed Unresolved”.

Repetición para muestras individuales

Debe realizarse una prueba de repetición de los tubos de donante con un resultado final no válido para una diana, independientemente de los resultados finales del resto de las diana. Sin embargo, el usuario tiene la opción de seleccionar el botón “Force Unresolve” para completar el flujo de trabajo de un donante. La función “Force Unresolve” asigna el estado de donante “Accepted Unresolved” a los donantes que no tienen un resultado final reactivo para ninguna de las diana o el estado “Accepted Reactive” a los donantes con un resultado reactivo para una o más diana.

Pruebas de pooling secundarias

Es necesario repetir las pruebas de los tubos de donante de un pool de varias muestras con un resultado final no válido para una diana cuando los resultados para el resto de las diana son no reactivos o no válidos.

Cuando un pool de varias muestras se considera reactivo para una o más diana, el sistema **cobas s** 201 asigna a todos los donantes del pool una solicitud de pool para una prueba de pooling secundaria. Estas muestras de donante se pipetea con el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD (desde las plasmotecas o desde los tubos de donante originales) en pools más pequeños o pools de uno para realizar más análisis con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 como parte del proceso de resolución para identificar las muestras de donante individuales reactivas. Consulte el *Manual de usuario del sistema cobas s 201* para obtener información específica sobre cómo realizar las pruebas de resolución.

Cuando el programa indica que un pool subdividido de varias muestras no es reactivo para todas las diana, las muestras individuales se consideran “Completed” con un resultado final no reactivo.

ADVERTENCIAS

Advertencia: es posible que este ensayo no detecte algunas muestras positivas para HIV debido a las mutaciones de LTR en los cebadores y/o regiones de unión a la sonda del genoma de HIV-1. Se estima que las mutaciones de LTR se producen en un 1,7% de las donaciones NAT (+)/Anticuerpos (-) de HIV-1, lo que constituye un riesgo estimado del suministro de sangre de 1 entre 121.176.500 donaciones.

LIMITACIONES

Limitaciones del procedimiento

1. La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 se ha evaluado para ser utilizada sólo en combinación con el kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, el reactivo de lavado **cobas**[®] TaqScreen y el sistema **cobas s** 201.
2. Para el análisis de muestras cadavéricas, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 se ha evaluado para ser utilizada únicamente con el kit de diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen, el kit de controles **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, el reactivo de lavado **cobas**[®] TaqScreen y el sistema **cobas s** 201.
3. **Se ha demostrado que la heparina inhibe la PCR. No utilice plasma con heparina en este procedimiento.**
4. La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de obtención y transporte de muestras sean adecuados.
5. Para la preparación automatizada de los pools de plasma únicamente se ha validado el pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD para uso con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Siga las instrucciones del hardware y las precauciones de seguridad que se describen en el *Manual de usuario del sistema cobas s 201* y en el Manual de usuario del pipeteador Hamilton MICROLAB STAR/STARlet IVD.
6. 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.

Limitaciones de la prueba

1. La detección de ARN de HIV-1 grupo M, ARN de HIV-1 grupo O, ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV depende del número de partículas víricas presentes en la muestra y se puede ver influida por los métodos de obtención y almacenamiento de las muestras, factores del paciente (como la edad, la presencia de síntomas, etc.) y/o la fase de infección y el tamaño del pool.
2. Aunque es poco probable, las mutaciones en las regiones muy conservadas de los genomas víricos cubiertas por los cebadores y/o la sonda de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 pueden causar errores en la detección de un virus.
3. Algunas muestras positivas verdaderas para HCV pueden considerarse “no válidas” debido a la espiga de la señal, en cuyo caso debería repetirse la prueba. La frecuencia estimada de estos casos en donaciones NAT (+)/Anticuerpos (-) en los EE.UU. es de 1 entre 180 millones.

4. Las muestras con una carga vírica elevada pueden generar resultados no válidos. En este caso será necesario repetir la prueba según las indicaciones del *Manual de usuario del sistema cobas s 201* para resolver los resultados no válidos.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

MUESTRAS DE DONANTES VIVOS

Sensibilidad analítica: estándares internacionales de la OMS/estándares de Roche/estándar de CBER

El límite de detección (LOD) de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para el ARN del HIV-1 grupo M, el ARN del HIV-1 grupo O, el ARN del HIV-2, el ARN del HCV y el ADN del HBV se determinó mediante los siguientes estándares: el SEGUNDO estándar internacional de la OMS para el ARN del HIV-1, Segundo estándar internacional (código NIBSC 97/650)³⁷, el ESTÁNDAR INTERNACIONAL DE LA OMS PARA EL ADN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS B PARA ENSAYOS MEDIANTE TECNOLOGÍA DE ÁCIDOS NUCLEICOS (NAT) (código NIBSC 97/746)³², el SEGUNDO ESTÁNDAR INTERNACIONAL DE LA OMS PARA EL ARN DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C PARA ENSAYOS MEDIANTE LA TECNOLOGÍA DE AMPLIFICACIÓN GENÓMICA (código NIBSC 96/798)³³ y los estándares principales de Roche para el HIV-1 grupo O y el HIV-2. Además, el LOD de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para HIV-2 se determinó mediante el estándar internacional para el ARN de HIV-2 (código NIBSC 08/150).³⁹ Actualmente no hay ningún estándar internacional disponible para el ARN de HIV-1 grupo O. Los estándares principales de Roche para el ARN del HIV-1 grupo O y el ARN del HIV-2 son cultivos de virus conocidos comercializados, PN 2420 (Boston Biomedica, Inc.) y N.º de catálogo 10-27-000 (Advanced Biotechnologies, Inc.). Los estándares de Roche para el HIV-1 grupo O y el HIV-2 son rastreables al Lote 01 de CBER HIV-1 Subtype RNA Reference Panel #1 y CBER HIV-2 RNA Lot Release Panel ISD, respectivamente.

Para los estándares de la OMS y de Roche se prepararon 3 series de dilución independientes de cada estándar vírico con pools de plasma humano conservado en anticoagulante EDTA. Cada serie de dilución se analizó con 3 lotes distintos de kits de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 con unas 20 réplicas por lote, para un total de 180 réplicas por concentración aproximadamente. Para el estándar internacional del HIV-2, se analizaron 10 réplicas por lote de 3 diluciones independientes y 3 lotes de reactivos, para un total de 90 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 (Tabla 1). También se utilizó el análisis PROBIT para estimar el LOD del 95% y los intervalos de confianza al 95% fiduciales y bilaterales de los resultados de lote individuales de cada virus (Tabla 8 – Tabla 10).

Tabla 1 a la Tabla 10 resumen los resultados generales del estudio de sensibilidad analítica. Los factores de conversión más utilizados para pasar de unidades internacionales (UI) a copias para HIV-1 grupo M, HCV y HBV son 0,6³⁴, 2,7³⁵ y 5,0³⁶ respectivamente.

Tabla 1.
Análisis PROBIT para estándares víricos

Analito	Estándar	Unidades	LOD del 95% medio	Límite inferior 95%	Límite superior 95%
HIV-1 grupo M	Segundo estándar internacional de la OMS	UI/ml	46,2	35,5	65,9
HIV-1 grupo O	Estándar principal de Roche	Copias/ml	18,3	13,1	30,9
HIV-2	Estándar principal de Roche	Copias/ml	56,1	48,6	66,5
HIV-2	Estándar internacional de la OMS	UI/ml	7,9	5,6	13,8
HCV	Segundo estándar internacional de la OMS	UI/ml	6,8	5,8	8,3
HBV	Estándar internacional de la OMS	UI/ml	2,3	2,0	2,8

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 debería realizarse con 2 réplicas para detectar el ADN de HBV en aproximadamente 2 UI/ml con una probabilidad superior al 95% cuando el ensayo se utiliza para reincorporar donantes descartados debido a los resultados de la prueba de HBV. Un resultado reactivo en 1 de las 2 réplicas como mínimo indica que la muestra es reactiva para el ADN de HBV.

Tabla 2.
Resumen de sensibilidad analítica: estándar internacional de la OMS para HIV-1 (97/650)

Concentración de ARN de HIV-1 grupo M (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactivos	Límite inferior del intervalo de confianza (unilateral) al 95%
100,00	180	180	100,0%	98,4%
75,00	182	183	99,5%	97,4%
50,00	176	183	96,2%	92,9%
25,00	148	183	80,9%	75,5%
12,50	119	183	65,0%	58,8%
7,50	65	183	35,5%	29,6%
2,50	23	183	12,6%	8,7%

Tabla 3.
Resumen de sensibilidad analítica: estándar principal de Roche para el HIV-1 grupo O

Concentración de ARN de HIV-1 grupo O (copias/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactivos	Límite inferior del intervalo de confianza (unilateral) al 95%
54,00	177	177	100,0%	98,3%
36,00	178	178	100,0%	98,3%
18,00	172	179	96,1%	92,8%
9,00	145	178	81,5%	76,0%
5,50	101	180	56,1%	49,7%
1,75	45	178	25,3%	20,0%

Tabla 4.
Resumen de sensibilidad analítica: estándar Primario de Roche para HIV-2

Concentración de ARN de HIV-2 (copias/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactivos	Límite inferior del intervalo de confianza (unilateral) al 95%
184,00	184	184	100,0%	98,4%
123,00	183	184	99,5%	97,4%
91,50	182	182	100,0%	98,4%
61,00	172	184	93,5%	89,6%
31,00	153	184	83,2%	77,9%
18,50	133	185	71,9%	65,9%
6,00	52	185	28,1%	22,7%

Tabla 5.
Resumen de sensibilidad analítica: estándar internacional para HIV-2 (08/150)

Concentración de ARN de HIV-2 (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactivos	Límite inferior del intervalo de confianza (unilateral) al 95%
17,50	90	90	100,0%	96,7%
12,30	89	90	98,9%	94,8%
7,00	86	90	95,6%	90,1%
3,50	68	90	75,6%	67,0%
2,10	36	90	40,0%	31,3%
0,70	13	90	14,4%	8,8%

Tabla 6.
Resumen de sensibilidad analítica: estándar internacional de la OMS para HCV (96/798)

Concentración de ARN de HCV (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactivos	Límite inferior del intervalo de confianza (unilateral) al 95%
32,00	180	180	100,0%	98,4%
25,00	182	183	99,5%	97,4%
16,00	183	183	100,0%	98,4%
8,00	179	183	97,8%	95,1%
4,00	158	183	86,3%	81,4%
2,50	127	183	69,4%	63,3%
1,00	79	183	43,2%	37,0%

Tabla 7.
Resumen de sensibilidad analítica: estándar internacional de la OMS para HBV (97/746)

Concentración de ADN de HBV (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactivos	Límite inferior del intervalo de confianza (unilateral) al 95%
6,00	180	180	100,0%	98,4%
5,00	183	183	100,0%	98,4%
3,00	178	183	97,3%	94,3%
1,50	155	183	84,7%	79,6%
1,00	147	183	80,3%	74,9%
0,50	92	183	50,3%	44,0%
0,25	53	183	29,0%	23,5%

Tabla 8.
Límites de detección del lote de reactivos 1

Lote de reactivos 1	Unidades	Conc. observada mínima con reactividad al 95%	LOD del 95% con PROBIT	Límite inferior 95%	Límite superior 95%
HIV-1 grupo M	UI/ml	75,0	48,4	38,3	65,6
HIV-1 grupo O	Copias/ml	36,0	21,7	16,7	31,2
HIV-2*	Copias/ml	91,5	53,6	42,7	72,4
HIV-2*	UI/ml	12,3	8,0	6,0	12,4
HCV	UI/ml	8,0	7,2	5,5	10,8
HBV	UI/ml	3,0	2,9	2,3	4,1

Tabla 9.
Límites de detección del lote de reactivos 2

Lote de reactivos 2	Unidades	Conc. observada mínima con reactividad al 95%	LOD del 95% con PROBIT	Límite inferior 95%	Límite superior 95%
HIV-1 grupo M	UI/ml	50,0	48,3	29,1	127,5
HIV-1 grupo O	Copias/ml	18,0	18,8	14,6	26,8
HIV-2*	Copias/ml	91,5	62,6	49,5	85,3
HIV-2*	UI/ml	7,0	8,9	6,5	14,4
HCV	UI/ml	8,0	7,0	5,4	10,1
HBV	UI/ml	3,0	2,0	1,6	2,9

Tabla 10.
Límites de detección del lote de reactivos 3

Lote de reactivos 3	Unidades	Conc. observada mínima con reactividad al 95%	LOD del 95% con PROBIT	Límite inferior 95%	Límite superior 95%
HIV-1 grupo M	UI/ml	50,0	41,6	33,1	56,2
HIV-1 grupo O	Copias/ml	18,0	14,3	8,6	50,4
HIV-2 ^a	Copias/ml	61,0	51,7	40,3	72,8
HIV-2 ^a	UI/ml	7,0	6,8	5,1	10,5
HCV	UI/ml	8,0	6,2	4,1	15,2
HBV	UI/ml	3,0	2,0	1,6	2,8

^a Los datos de HIV-2 que utilizan el estándar de Roche se expresan en copias/ml.

* Los datos de HIV-2 que utilizan el estándar internacional 08/150 se expresan en UI/ml.

Sensibilidad analítica – paneles del CBER para HIV-1 grupo M, HCV, HBV, HIV-1 grupo O y stock de panel HIV-2 del CBER

Se analizaron los paneles del CBER de la FDA para HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV y HBV con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Se analizó una réplica de cada miembro del panel del CBER de la FDA con tres lotes de reactivo. Para el panel de HIV-1 grupo M, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todos los miembros con títulos de 25 a 500 cp/ml, independientemente del lote de reactivos (Tabla 11). Para el panel de HIV-1 grupo O, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todos los miembros con títulos de 25 a 1.000 cp/ml, independientemente del lote de reactivos (Tabla 12). Para el panel de HIV-2, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todos los miembros con títulos de 5 a 100 cp/ml, independientemente del lote de reactivos (Tabla 13). Para el panel de HCV, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todos los miembros con títulos de 5 a 500 cp/ml, independientemente del lote de reactivos (Tabla 14). Para el panel de HBV, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todos los miembros con títulos de 10 a 500 cp/ml, independientemente del lote de reactivos (Tabla 15).

Tabla 11.
Resultados del panel del CBER para HIV-1 grupo M

Miembro del panel	Título (cp/ml)	Resultado esperado para HIV ^a	Resultado observado para HIVa		
			Lote de reactivos 1	Lote de reactivos 2	Lote de reactivos 3
HIV-1 M #1901	0	No reactivo	No reactivo	No reactivo	No reactivo
HIV-1 M #1902	10	-- ^b	No reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 M #1903	50	-- ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 M #1904	100	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 M #1905	500	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 M #1906	100	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 M #1907	25	-- ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 M #1908	5	-- ^b	Reactivo	No reactivo	Reactivo

^a Resultado esperado al analizar el panel con el título indicado y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

^b Se esperaba que los resultados obtenidos para este miembro del panel fueran reactivos o no reactivos y se incluían solamente con fines informativos.

Tabla 12.
Resultados del panel del CBER para HIV-1 grupo O

Miembro del panel	Título (cp/ml)	Resultado esperado para HIV ^a	Resultado observado para HIVa		
			Lote de reactivos 1	Lote de reactivos 2	Lote de reactivos 3
HIV-1 O #NC1	0	No reactivo	No reactivo	No reactivo	No reactivo
HIV-1 O #01	1000	Reactivo	Reactivo	Reactivo ^c	Reactivo
HIV-1 O #02	100	- - - ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-1 O #03	25	- - - ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo

^a Resultado esperado al analizar el panel con el título indicado y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

^b Se esperaba que los resultados obtenidos para este miembro del panel fueran reactivos o no reactivos y se incluían solamente con fines informativos.

^c La réplica obtuvo un resultado reactivo para HBV (canal 2). La repetición del análisis con la prueba COBAS[®] TaqMan[®] HBV para uso con el sistema High Pure generó un resultado no reactivo.

Tabla 13.
Resultados del panel del CBER para HIV-2

Miembro del panel	Título (cp/ml)	Resultado esperado para HIV ^a	Resultado observado para HIVa		
			Lote de reactivos 1	Lote de reactivos 2	Lote de reactivos 3
HIV-2 #1	0	No reactivo	No reactivo	No reactiva ^c	No reactivo
HIV-2 #2	5	- - - ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-2 #3	10	- - - ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-2 #4	50	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HIV-2 #5	100	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo

^a Resultado esperado al analizar el panel con el título indicado y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

^b Se esperaba que los resultados obtenidos para este miembro del panel fueran reactivos o no reactivos y se incluían solamente con fines informativos.

^c La réplica obtuvo un resultado reactivo para HCV (canal 3). La repetición del análisis con la prueba COBAS[®] TaqMan[®] HCV para uso con el sistema High Pure generó un resultado no reactivo.

Tabla 14.
Resultados del panel del CBER para HCV

Miembro del panel	Título (cp/ml)	Resultado esperado para HCV ^a	Resultado observado para HCV		
			Lote de reactivos 1	Lote de reactivos 2	Lote de reactivos 3
HCV #2	0	No reactivo	No reactivo	No reactiva ^c	No reactivo
HCV #6	500	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HCV #7	100	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HCV #8	50	-- ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HCV #9	10	-- ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HCV #10	5	-- ^b	Reactivo	Reactivo ^d	Reactivo

^a Resultado esperado al analizar el panel con el título indicado y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

^b Se esperaba que los resultados obtenidos para este miembro del panel fueran reactivos o no reactivos y se incluían solamente con fines informativos.

^c La réplica obtuvo un resultado reactivo para HBV (canal 2). La repetición del análisis con la prueba COBAS[®] TaqMan[®] HBV para uso con el sistema High Pure generó un resultado reactivo por debajo del límite de detección de la prueba (4,8 UI/ml).

^d La réplica obtuvo un resultado reactivo para HBV (canal 2). La repetición del análisis con la prueba COBAS[®] TaqMan[®] HBV para uso con el sistema High Pure generó un resultado no reactivo.

Tabla 15.
Resultados del panel del CBER para HBV

Miembro del panel	Título (cp/ml)	Resultado esperado para HBV ^a	Resultado observado para HBV		
			Lote de reactivos 1	Lote de reactivos 2	Lote de reactivos 3
HBV #1	0	No reactivo	No reactivo	No reactivo	No reactivo
HBV #2	10	-- ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HBV #3	100	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HBV #4	50	-- ^b	Reactivo	Reactivo	Reactivo
HBV #5	500	Reactivo	Reactivo	Reactivo	Reactivo

^a Resultado esperado al analizar el panel con el título indicado y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0.

^b Se esperaba que los resultados obtenidos para este miembro del panel fueran reactivos o no reactivos y se incluían solamente con fines informativos.

Inclusividad de genotipos/subtipos

HIV-1 grupo M

Se analizaron un total de 77 muestras clínicas sin diluir de HIV-1 grupo M y 81 muestras clínicas diluidas de HIV-1 grupo M con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. En el caso de las muestras de HIV-1 grupo M analizadas sin diluir, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó las 77 muestras (Tabla 16). En el caso de las muestras diluidas con una proporción 1:6, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todas las muestras de todos los subtipos, excepto una de las 10 muestras de subtipo B (Tabla 17).

Tabla 16.
Subtipos de muestras sin diluir de HIV-1 grupo M

Subtipo	Número total de muestras	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 Número de reactivos
A	7	7
AE	10	10
AG	10	10
B	10	10
C	10	10
D	3	3
E	8	8
F	7	7
G	10	10
G-BG	1	1
J	1	1

Tabla 17.
Subtipos de muestras diluidas de HIV-1 grupo M

Subtipo	Número total de muestras	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 Número de reactivos
A	7	7
AE	10	10
AG	10	10
B	10 ^a	9
C	10	10
D	3	3
E	8	8
F	10	10
G	10	10
G-BG	1	1
J	1	1
BF	1	1

^a Se confirmó que una muestra presentaba un título bajo al diluirla (por debajo del límite de detección de MPX v2.0) con la prueba COBAS[®] AmpliPrep/COBAS[®] TaqMan[®] HIV-1 v2.0.

HIV-1 grupo O y HIV-1 grupo N

Se analizaron un total de nueve aislados en cultivo de HIV-1 grupo O. Seis de estos aislados se expresaron en partículas/ml. De estos seis aislados de HIV-1 grupo O, todas las réplicas se detectaron con la concentración más elevada y como mínimo 1 réplica de cada uno de los 6 aislados se detectó a 10 partículas/ml (Tabla 18). Los tres aislados restantes de HIV-1 grupo O se expresaron solamente por dilución en serie. Todas las réplicas se detectaron con una dilución 1×10^{-6} , y como mínimo 1 réplica de cada uno de los aislados se detectó con una dilución 1×10^{-7} (Tabla 19).

Un aislado en cultivo de HIV-1 grupo N se analizó en 24 réplicas, cada una con concentraciones de aproximadamente $3 \times$ y $1 \times$ el límite de detección para HIV-1 grupo M. Todas las réplicas se detectaron con ambas concentraciones (Tabla 20).

Tabla 18.
Aislados de HIV-1 grupo O

Subtipo	Sobrenadantes de cultivo	Detectado a (partículas/ml)						
		0,001	0,01	0,1	1	10	100	1000
HIV-1 grupo O	6	33% (1/3)	100% (3/3)	22% (4/18)	44% (8/18)	89% (16/18)	83% (15/18)	100% (18/18)

Tabla 19.
Aislados adicionales de HIV-1 grupo O

Subtipo	Sobrenadantes de cultivo	Nivel de dilución				
		1×10^{-9}	1×10^{-8}	1×10^{-7}	1×10^{-6}	1×10^{-5}
HIV-1 grupo O	3	0% (0/9)	0% (0/9)	67% (6/9)	100% (9/9)	100% (9/9)

Tabla 20.
Aislados en cultivo de HIV-1 grupo N

Subtipo	Sobrenadantes de cultivo	Detectado a $\sim 0,3 \times$ LOD	Detectado a $\sim 1 \times$ LOD	Detectado a $\sim 3 \times$ LOD
HIV grupo N	1	100% (24/24)	100% (24/24)	100% (24/24)

HIV-2

Se analizaron un aislado en cultivo del HIV-2 subtipo A y un aislado en cultivo del HIV-2 subtipo B. El aislado en cultivo del HIV-2 subtipo A se diluyó en un pool de plasma humano negativo al virus y se detectó el 100% de las veces a 91,5 copias/ml ($\sim 12,9$ UI/ml tras la conversión a las unidades internacionales de la OMS) y se detectó con un nivel tan bajo como 6 copias/ml ($\sim 0,85$ UI/ml tras la conversión a las unidades internacionales de la OMS). Se prepararon diluciones logarítmicas del HIV-2 subtipo B en plasma humano normal negativo al virus y se detectaron 3 de 3 réplicas de cada dilución con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 en todas las diluciones a 1×10^{-5} . Para este estudio no se disponía de muestras clínicas.

HCV

Se analizaron un total de 91 muestras clínicas de HCV sin diluir y diluidas con una proporción de 1:6 con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. En el caso de las muestras de HCV analizadas sin diluir, la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó todas las muestras de todos los genotipos de HCV a excepción de una de las 10 de genotipo 1b de HCV (Tabla 21). En el caso de las muestras con una dilución de 1:6, la prueba MPX v2.0 detectó todas las muestras de todos los genotipos de HCV analizados (Tabla 22).

Tabla 21.
Genotipo de HCV en muestras sin diluir

Genotipo	Número total de muestras	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 Número de reactivos
1a	10	10
1b	10	9
2	10	10
2a	5	5
2b	10	10
3a	10	10
4	10	10
4a	5	5
4acd	4	4
4d	1	1
5a	10	10
6	5	5
6ab	3	3
6c	1	1

Tabla 22.
Genotipo de HCV en muestras diluidas

Genotipo	Número total de muestras	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 Número de reactivos
1a	10	10
1b	10	9
2	10	10
2a	5	5
2b	8	8
3a	10	10
4	10	10
4a	5	5
4acd	4	4
4d	1	1
5a	10	10
6	5	5
6ab	2	2
6c	1	1

HBV

Se analizaron un total de 51 muestras clínicas de HBV sin diluir y con una dilución de 1:6 con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 detectó cada genotipo de HBV analizado sin y con dilución (Tabla 23 y Tabla 24).

Tabla 23.
Genotipo de HBV en muestras sin diluir

Genotipo	Número total de muestras	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 Número de reactivos
A	10	10
B	8	8
C	10	10
D	10	10
E	3	3
F	4	4
Mutación pre-core	6	6

Tabla 24.
Genotipo de HBV en muestras diluidas

Genotipo	Número total de muestras	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 Número de reactivos
A	10	10
B	8	8
C	10	10
D	10	10
E	3	3
F	4	4
Mutación pre-core	6	6

Paneles de seroconversión

Se determinó el rendimiento de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 durante la seroconversión para el HIV-1 grupo M, el HCV y el HBV utilizando 32 paneles de seroconversión disponibles comercialmente. No se dispone de paneles de seroconversión para el HIV-1 grupo O y HIV-2.

Paneles de seroconversión del HIV-1

Se analizaron diez paneles de seroconversión disponibles comercialmente obtenidos de donantes de plasmaféresis que se seroconvirtieron a anticuerpos frente a HIV con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Cada muestra se analizó sin diluir y con una dilución de 1:6 para simular el análisis en pools de donantes. Se compararon los resultados de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 con los resultados obtenidos con el ensayo Abbott PRISM[®] HIV O Plus (EE.UU.) y el ensayo Abbott PRISM anti-HIV 1/2 (C.E.) (Tabla 25).

La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 en muestras sin diluir detectó ARN del HIV antes de detectar anticuerpos del HIV tanto con el ensayo Abbott PRISM HIV O Plus como con el ensayo Abbott PRISM anti-HIV 1/2 en 10 de 10 paneles en una media de 13,9 días respectivamente. La prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 utilizada en muestras con una dilución 6 veces mayor detectó el ARN de HIV con anterioridad a la detección de anticuerpos frente al HIV tanto con el ensayo Abbott PRISM HIV O Plus (EE.UU.) como con el ensayo Abbott PRISM anti-HIV 1/2 (C.E.) en 10 de los 10 paneles con un promedio de 13,4 días respecto a cada uno.

Tabla 25.
Rendimiento de la prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0 en los paneles de seroconversión del HIV

Paneles de seroconversión del HIV	Días de detección anticipada con la prueba cobas ® TaqScreen MPX v2.0 respecto a otras pruebas para anticuerpos de HIV-1/2			
	Abbott PRISM HIV O Plus: Sin diluir (EE.UU.)		Abbott PRISM anti-HIV 1/2: Sin diluir (C.E.)	
	Sin diluir	1:6	Sin diluir	1:6
1	14	9	14	9
2	14	14	14	14
3	12	12	12	12
4	14	14	14	14
5	11	11	11	11
6	14	14	14	14
7	9	9	9	9
8	14	14	14	14
9	15	15	15	15
10	22	22	22	22

Paneles de seroconversión del HCV

Se analizaron doce paneles de seroconversión disponibles comercialmente obtenidos de donantes de plasmaféresis que se seroconvirtieron a anticuerpos HCV con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0. Cada muestra se analizó sin diluir y con una dilución de 1:6 para simular el análisis en pooles de donantes. Se compararon los resultados de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 con los resultados obtenidos con el ensayo Abbott PRISM® HCV (EE.UU.) y el sistema de pruebas ORTHO® HCV versión 3.0 ELISA (Tabla 26).

La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 detectó ARN de HCV tanto en muestras sin diluir como en muestras diluidas en la primera extracción en 8 de los 12 paneles, como se indica más abajo. Por lo tanto, los valores que se muestran en dichos paneles, y el número promedio de días entre la detección mediante NAT y serología, representan un número mínimo de días del cierre del periodo ventana.

La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 utilizada con muestras sin diluir detectó el ARN de HCV con anterioridad a la detección de anticuerpos HCV tanto con el ensayo Abbott PRISM HCV (EE.UU.) como con el sistema de pruebas ORTHO HCV versión 3.0 ELISA (C.E.) en 12 de los 12 paneles con un promedio de como mínimo 21,6 días para cada uno. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 utilizada en muestras con una dilución 6 veces mayor detectó ARN de HCV con anterioridad a la detección de anticuerpos de HCV tanto con el ensayo Abbott PRISM HCV (EE.UU.) como con el sistema de pruebas ORTHO HCV versión 3.0 ELISA (C.E.) en 12 de los 12 paneles con un promedio de como mínimo 23,6 días para cada uno.

Tabla 26.
Rendimiento de la prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0 en los paneles de seroconversión del HCV

Paneles de seroconversión del HCV	Días de detección anticipada con la prueba MPX v2.0 respecto a otras pruebas para anticuerpos de HCV			
	Abbott PRISM HCV: Sin diluir (EE.UU.)		Sistema de pruebas ORTHO HCV versión 3.0 ELISA: Sin diluir (C.E.)	
	Sin diluir	1:6	Sin diluir	1:6
1 ^a	12	12	23	23
2 ^a	30	30	32	32
3	23	23	23	23
4 ^a	25	25	25	25
5 ^a	28	28	28	28
6 ^a	4	4	4	4
7 ^a	11	11	11	11
8 ^a	24	24	24	24
9	7	7	18	18
10	33	33	33	33
11	32	32	32	32
12	30	30	30	30

^a Los resultados de la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** en muestras sin diluir y con una dilución de 1:6 fueron reactivos en la primera extracción de la serie del panel.

Paneles de seroconversión del HBV

Se analizaron diez paneles de seroconversión disponibles comercialmente obtenidos de donantes de plasmaféresis que se seroconvirtieron a HBsAg con la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0**. Cada muestra se analizó sin diluir y con una dilución de 1:6 para simular el análisis en pooles de donantes. Se compararon los resultados de la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** con los resultados obtenidos con el ensayo Abbott PRISM® HBsAg y el sistema de pruebas ORTHO® HBsAg v3 ELISA (Tabla 27).

La prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** detectó el ADN de HBV en la primera extracción en 2 de los 10 paneles cuando el análisis se realizó con muestras sin diluir y en 1 de los 10 paneles cuando las muestras se analizaron con una dilución 6 veces mayor, sombreados más abajo. Por lo tanto, los valores que se muestran en dichos paneles, y el número promedio de días entre la detección mediante NAT y serología, representan un número mínimo de días del cierre del periodo ventana.

La prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** en muestras sin diluir detectó el ADN de HBV con anterioridad a la detección de HBsAg con el ensayo Abbott PRISM HBsAg en 9 de los 10 paneles con un promedio de como mínimo 13 días. En comparación con el sistema de pruebas ORTHO HBsAg v3 ELISA, la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** en muestras sin diluir detectó el ADN de HBV con anterioridad a la detección de HBsAg en 10 de los 10 paneles con un promedio de como mínimo 7,5 días.

La prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** en muestras con una dilución 6 veces mayor detectó el ADN de HBV con anterioridad a la detección de HBsAg con el ensayo Abbott PRISM HBsAg en 7 de los 10 paneles con un promedio de como mínimo 22,3 días. En comparación con el sistema de pruebas ORTHO HBsAg v3 ELISA, la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** en muestras con una dilución 6 veces mayor detectó el ADN de HBV con anterioridad a la detección de HBsAg en 10 de los 10 paneles con un promedio de como mínimo 16,8 días.

Tabla 27.
Rendimiento de la prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0 en paneles de seroconversión del HBV

Paneles de seroconversión del HBV	Días de detección anticipada con la prueba MPX v2.0 respecto a otras pruebas para HBsAg			
	Abbott PRISM HBsAg: Sin diluir (EE.UU.)		Sistema de pruebas ORTHO HBsAg ELISA 3: Sin diluir (C.E.)	
	Sin diluir	1:6	Sin diluir	1:6
1 ^a	3	0	25	22
2	12	12	19	19
3	8	0	19	11
4	-14	-14	14	14
5	22	13	22	13
6 ^{a, b}	7	7	23	23
7	20	8	20	8
8	11	11	11	11
9	28	14	30	16
10	33	24	40	31

^a El resultado sin diluir de la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** fue reactivo en la primera extracción de sangre de la serie de paneles.

^b El resultado con una dilución de 1:6 de la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** fue reactivo en la primera extracción de sangre de la serie de paneles.

Especificidad analítica: posibles microorganismos de reacción cruzada e interferentes

La especificidad analítica de la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** se evaluó mediante el análisis de un panel de 20 microorganismos, incluyendo 13 aislados víricos, 6 cepas bacterianas y 1 aislado de levadura (Tabla 28). Los microorganismos se añadieron a plasma humano normal negativo al virus y se analizaron con y sin HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV añadidos a una concentración de 3× el límite de detección de la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** para cada virus.

Se obtuvieron resultados no reactivos con la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** para todas las muestras de microorganismos a las que no se había añadido HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV.

Los microorganismos analizados no presentaron reactividad cruzada con la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0**. Se obtuvieron resultados reactivos en todas las muestras de microorganismos con HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV añadidos. Los microorganismos analizados no interfirieron con la prueba **cobas® TaqScreen MPX v2.0** según las condiciones del análisis.

Tabla 28.
Microorganismos analizados

Especificidad analítica (microorganismos analizados)		
Adenovirus 5	Virus del herpes humano tipo 6 A	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus humano	Virus linfotrófico T humano de tipo I	<i>Propionibacterium acnes</i>
Virus Epstein Barr	Virus de la gripe A	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Virus de la varicela zóster	Virus del Nilo Occidental	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
Virus del herpes simple tipo 1	Dengue tipo 1, cepa Hawaii	<i>Escherichia coli</i>
Virus del herpes simple tipo 2	Virus Chikungunya	<i>Streptococcus viridans</i>
Virus de la hepatitis G	<i>Staphylococcus aureus</i>	

Especificidad analítica: otros estados de enfermedad

Las muestras de plasma de cada una de las siguientes categorías de enfermedad (citomegalovirus humano, virus de Epstein-Barr, virus del herpes simple de tipo 1, virus del herpes simple tipo 2, virus linfotrófico humano de células T de tipo I, virus linfotrófico humano de células T de tipo II, virus linfotrófico de células T de tipo I/II, virus de la hepatitis A, virus del Nilo occidental y parvovirus B19) se analizaron con y sin HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV añadidos con una concentración de 3× el límite de detección de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para cada virus. Se obtuvieron resultados no reactivos con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para todas las muestras de estados de enfermedad sin añadir HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV. Se obtuvieron resultados reactivos con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para todas las muestras de estados de enfermedad a las que se añadió HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV, excepto para 1 de las 10 muestras HTLV I/II en las que HCV resultó no válido. Estos estados de enfermedad no interfirieron con la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 según las condiciones del análisis.

Posibles sustancias interferentes

Sustancias causantes de interferencias endógenas

Las muestras de plasma con niveles anómalamente elevados de triglicéridos (hasta 3.300 mg/dl), hemoglobina (hasta 500 mg/dl), bilirrubina no conjugada (hasta 50 mg/dl), albúmina (hasta 9,6 g/dl) o ADN humano (hasta 0,4 mg/dl) se analizaron con y sin HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV añadidos a una concentración de 3× el límite de detección de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para cada virus. Las sustancias indicadas no interfirieron con la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 según las condiciones del análisis.

Las muestras de plasma con glóbulos rojos añadidos a niveles anómalamente elevados (hasta el 10% v/v) se analizaron con y sin HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV añadidos a una concentración de 3× el límite de detección de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para cada virus. El plasma con glóbulos rojos añadidos a 2,5% (v/v) no interfirió con la sensibilidad o especificidad vírica de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. El plasma con glóbulos rojos añadidos a 5,0% (v/v) redujo la sensibilidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para la detección del HCV. El plasma con glóbulos rojos añadidos a 7,5% (v/v) interfirió en la sensibilidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para la detección del HBV y el HCV. La detección de dianas víricas de HIV fue del 100% en plasma con glóbulos rojos añadidos a 10%. En presencia de dianas víricas a 3X el límite de detección de la prueba, la sensibilidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para la detección del control interno (IC) no se vio reducida en plasma con glóbulos rojos añadidos a 1,0% (v/v). En ausencia de dianas víricas, la sensibilidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para la detección del control interno (IC) no se vio reducida en plasma con glóbulos rojos añadidos a 2,5% (v/v). El control interno (IC) supervisa todos los pasos del proceso de análisis (preparación, amplificación y detección de las muestras) y no funciona en condiciones que puedan incidir sobre el rendimiento del ensayo.

Sustancias causantes de interferencias exógenas

Se analizaron muestras de plasma humano normal con concentraciones muy elevadas de acetaminofeno (1.324 µmol/l), ácido acetilsalicílico (3,62 mmol/l), ácido ascórbico (342 µmol/l), atorvastatina (600 µg/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) y sertralina (1,96 µmol/l) con y sin el HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV añadidos a una concentración de 3× el límite de detección de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para cada virus. Estas sustancias exógenas no interfirieron con la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 según las condiciones del análisis.

MUESTRAS DE DONANTES CADAVÉRICOS

Nota: aunque en esta sección se incluye información sobre el ARN de HIV-1 grupo O y el ARN de HIV-2, la prueba se ha diseñado para ser utilizada como método de cribado de muestras sanguíneas de donantes cadavéricos (a corazón parado) para ARN de HIV-1 grupo M, ARN de HCV y ADN de HBV solamente.

Reproducibilidad

Se añadió HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV a veinte muestras de plasma individuales de donantes cadavéricos conservadas en EDTA utilizando muestras clínicas para HIV-1 grupo M, HBV y HCV y los estándares primarios de Roche para HIV-1 grupo O y HIV-2 hasta conseguir una concentración final de aproximadamente 3× el límite de detección (LOD), según fuese necesario para cada virus y el nivel de hemólisis de cada muestra. Los estándares principales de Roche para el ARN del HIV-1 grupo O y el ARN del HIV-2 son cultivos de virus conocidos comercializados, PN 2420 (Boston Biomedica, Inc.) y N.º de catálogo 10-27-000 (Advanced Biotechnologies, Inc.). Los estándares de Roche para el HIV-1 grupo O y el HIV-2 son rastreables al Lote O1 de CBER HIV-1 Subtype RNA Reference Panel #1 y CBER HIV-2 RNA Lot Release Panel ISD, respectivamente. Actualmente no hay ningún estándar internacional disponible para el ARN de HIV-1 grupo O.

El HIV-1 grupo M, el HCV y el HBV se formularon de forma conjunta mientras que el HIV-1 grupo O y el HIV-2 se formularon individualmente. Se utilizaron 16 muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas y 4 muestras cadavéricas altamente hemolizadas.

Además, se añadieron los mismos estándares al nivel de aproximadamente $3 \times \text{LOD}$ a veinte muestras de donantes vivos conservadas en EDTA. Las muestras cadavéricas se diluyeron con una proporción de 1:5 con diluyente para muestras cadavéricas **cobas**® TaqScreen hasta obtener una concentración final de aproximadamente $3 \times \text{LOD}$ y se analizaron según el procedimiento de análisis para muestras cadavéricas. Las muestras de donantes vivos se analizaron sin diluir. La prueba se realizó utilizando tres lotes de reactivo y tres instrumentos.

Se analizaron todos los datos de reproducibilidad válidos mediante la comparación de las tasas de reacción de las muestras de donantes vivos y cadavéricos a las que se añadió HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV o HBV entre lotes de kits (Tabla 29), instrumentos (Tabla 30) y días (Tabla 31). Se calculó el valor p bilateral exacto para calibrar la importancia estadística de la diferencia entre proporciones de tasas de reacción observadas con muestras de donantes cadavéricos y vivos. No se observaron diferencias significativas. Los valores p bilaterales exactos superiores a 0,05 no revisten importancia estadística.

Tabla 29.

Comparación de resultados de muestras de donantes cadavéricos frente a donantes vivos por lote de reactivo

Diana vírica	Tipo de donante	Lote n.º 1	Lote n.º 2	Lote n.º 3	Tasa de reacción global	Valor p bilateral de muestras de donantes vivos frente a cadavéricos por diana vírica
HIV-1 grupo M	Cadavérico	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	118/120 (98,3%)	357/360 (99,2%)	0,624
	Vivo	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	359/360 (99,7%)	
HIV-1 grupo O	Cadavérico	120/120 (100,0%)	118/120 (98,3%)	118/120 (98,3%)	356/360 (98,9%)	0,373
	Vivo	119/119 (100%)	119/120 (99,2%)	120/120 (100,0%)	358/359 (99,7%)	
HIV-2	Cadavérico	119/119 (100%)	119/120 (99,2%)	119/120 (99,2%)	357/359 (99,4%)	0,624
	Vivo	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	120/120 (100,0%)	359/360 (99,7%)	
HBV	Cadavérico	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	360/360 (100,0%)	0,062
	Vivo	116/120 (96,7%)	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	355/360 (98,6%)	
HCV	Cadavérico	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	359/360 (99,7%)	0,217
	Vivo	119/120 (99,2%)	118/120 (98,3%)	118/120 (98,3%)	355/360 (98,6%)	

Tabla 30.

Comparación de resultados de muestras de donantes cadavéricos frente a donantes vivos por instrumento

Diana vírica	Tipo de muestra	Instrumento 1	Instrumento 2	Instrumento 3	Tasa de reacción global	Valor p bilateral de muestras de donantes vivos frente a cadavéricos por diana vírica
HIV-1 grupo M	Cadavérico	119/120 (99,2%)	119/120 (99,2%)	119/120 (99,2%)	357/360 (99,2%)	0,624
	Donante vivo	119/120 (99,2%)	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	359/360 (99,7%)	
HIV-1 grupo O	Cadavérico	118/120 (98,3%)	119/120 (99,2%)	119/120 (99,2%)	356/360 (98,9%)	0,373
	Donante vivo	119/119 (100,0%)	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	358/359 (99,7%)	
HIV-2	Cadavérico	117/119 (98,3%)	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	357/359 (99,4%)	0,624
	Donante vivo	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	359/360 (99,7%)	
HBV	Cadavérico	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	360/360 (100,0%)	0,062
	Donante vivo	118/120 (98,3%)	118/120 (98,3%)	119/120 (99,2%)	355/360 (98,6%)	
HCV	Cadavérico	120/120 (100,0%)	120/120 (100,0%)	119/120 (99,2%)	359/360 (99,7%)	0,217
	Donante vivo	117/120 (97,5%)	118/120 (98,3%)	120/120 (100,0%)	355/360 (98,6%)	

Tabla 31.

Comparación de resultados de muestras de donantes cadavéricos frente a donantes vivos por día

Diana vírica	Tipo de muestra	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Tasa de reacción global	Valor p bilateral de muestras de donantes vivos frente a cadavéricos por diana vírica
HIV-1 grupo M	Cadavérico	59/60 (98,3%)	58/60 (96,7%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	357/360 (99,2%)	0,624
	Donante vivo	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	59/60 (98,3%)	359/360 (99,7%)	
HIV-1 grupo O	Cadavérico	58/60 (96,7%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	59/60 (98,3%)	59/60 (98,3%)	356/360 (98,9%)	0,373
	Donante vivo	59/59 (100,0%)	60/60 (100,0%)	59/60 (98,3%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	358/359 (99,7%)	
HIV-2	Cadavérico	59/59 (100,0%)	59/60 (98,3%)	59/60 (98,3%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	357/359 (99,4%)	0,624
	Donante vivo	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	59/60 (98,3%)	359/360 (99,7%)	
HBV	Cadavérico	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	360/360 (100,0%)	0,062
	Donante vivo	59/60 (98,3%)	58/60 (96,7%)	60/60 (100,0%)	59/60 (98,3%)	60/60 (100,0%)	59/60 (98,3%)	355/360 (98,6%)	
HCV	Cadavérico	59/60 (98,3%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	359/360 (99,7%)	0,217
	Donante vivo	58/60 (96,7%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	60/60 (100,0%)	58/60 (96,7%)	59/60 (98,3%)	355/360 (98,6%)	

Sensibilidad analítica para muestras cadavéricas

Se realizó un estudio de las diluciones límite de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para las dianas víricas de HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV y HBV en muestras cadavéricas utilizando los estándares siguientes: los estándares primarios de Roche para HIV-1 grupo O y HIV-2 y los estándares secundarios de Roche para HIV-1 grupo M, HBV y HCV. El estándar secundario de Roche para ADN de HBV es un cultivo de virus conocido comercializado (ADN de HBV, estándar n.º 1, genotipo A de Eurohep [adw2]) rastreable al estándar internacional de la OMS para ADN de HBV en NAT (NIBSC 97/746)³³. El HIV-1 grupo M, el HCV y el HBV se formularon de forma conjunta mientras que el HIV-1 grupo O y el HIV-2 se formularon individualmente.

Para cada diana, se prepararon siete miembros del panel mediante la dilución de los estándares de virus HIV-1 grupo M, HCV y HBV, HIV-1 grupo O o HIV-2 en tres pools únicos de muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas en EDTA utilizando tres lotes de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y dos pools únicos de muestras cadavéricas altamente hemolizadas en EDTA utilizando un lote de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Los pools moderadamente hemolizados estaban formados por pools individuales de muestras cadavéricas negativas al virus con un color entre el paja y el rosa. Los pools altamente hemolizados estaban formados por pools individuales de muestras cadavéricas negativas al virus con un color entre el rojo y el marrón. Los resultados se resumen en la Tabla 32 a la Tabla 41.

Tabla 32.
Resumen de la sensibilidad analítica para el HIV-1 grupo M en matriz de muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas

Concentración de HIV-1 grupo M (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
750	62	63	98,4%	92,7%
500	61	63	96,8%	90,3%
375	62	63	98,4%	92,7%
250	62	64	96,9%	90,5%
125	52	63	82,5%	72,8%
75	42	64	65,6%	54,7%
25	19	63	30,2%	20,7%

Tabla 33.
Resumen de la sensibilidad analítica para el HIV-1 grupo M en matriz de muestras cadavéricas altamente hemolizadas

Concentración de HIV-1 grupo M (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
750	40	40	100,0%	92,8%
500	40	40	100,0%	92,8%
375	39	40	97,5%	88,7%
250	40	40	100,0%	92,8%
125	26	40	65,0%	50,8%
75	23	41	59,1%	42,1%
25	17	43	39,5%	27,0%

Tabla 34.
Resumen de la sensibilidad analítica para el HCV en matriz de muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas

Concentración de HCV (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
120	62	63	98,4%	92,7%
80	58	63	92,1%	84,0%
60	61	63	96,8%	90,3%
40	52	63	82,5%	72,8%
20	41	63	65,1%	54,0%
12	22	63	34,9%	25,0%
4	9	63	14,3%	7,7%

Tabla 35.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HCV en matriz de muestras cadavéricas altamente hemolizadas

Concentración de HCV (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
120	40	40	100,0%	92,8%
80	39	40	97,5%	88,7%
60	39	41	95,1%	85,4%
40	37	40	92,5%	81,7%
20	21	40	52,5%	38,5%
12	17	40	42,5%	29,2%
4	6	41	14,6%	6,6%

Tabla 36.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HBV en matriz de muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas

Concentración de HBV (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
60	63	63	100,0%	95,4%
40	62	63	98,4%	92,7%
30	60	63	95,2%	88,2%
20	52	64	81,3%	71,4%
10	33	63	52,4%	41,3%
6	23	63	36,5%	26,4%
2	12	63	19,0%	11,4%

Tabla 37.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HBV en matriz de muestras cadavéricas altamente hemolizadas

Concentración de HBV (UI/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
150	40	40	100,0%	92,8%
100	40	40	100,0%	92,8%
75	41	41	100,0%	93,0%
50	39	40	97,5%	88,7%
25	33	40	82,5%	69,6%
15	21	41	51,2%	37,4%
5	13	44	29,5%	18,4%

Tabla 38.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HIV-1 grupo O en matriz de muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas

Concentración de HIV-1 grupo O (copias/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de reactividad	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
360	61	63	96,8%	90,3%
240	62	63	98,4%	92,7%
180	64	64	100,0%	95,4%
120	62	63	98,4%	92,7%
60	57	63	90,5%	82,1%
36	58	63	92,1%	84,0%
12	30	63	47,6%	36,7%

Tabla 39.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HIV-1 grupo O en matriz de muestras cadavéricas altamente hemolizadas

Concentración de HIV-1 grupo O (copias/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de positivos	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
360	40	40	100,0%	92,8%
240	38	40	95,0%	85,1%
180	40	40	100,0%	92,8%
120	38	40	95,0%	85,1%
60	38	40	95,0%	85,1%
36	34	40	85,0%	72,5%
12	8	40	20,0%	10,4%

Tabla 40.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HIV-2 en matriz de muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas

Concentración de HIV-2 (copias/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de positivos	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
600	63	63	100,0%	95,4%
400	63	64	98,4%	92,8%
300	61	63	96,8%	90,3%
200	60	63	95,2%	88,2%
100	34	63	54,0%	42,9%
60	28	63	44,0%	33,7%
20	12	63	19,0%	11,4%

Tabla 41.

Resumen de la sensibilidad analítica para el HIV-2 en matriz de muestras cadavéricas altamente hemolizadas

Concentración de HIV-2 (copias/ml)	Número de reactivos	Número de pruebas individuales	% de positivos	Límite inferior del intervalo de confianza exacto unilateral al 95%
600	43	43	100,0%	93,3%
400	40	40	100,0%	92,8%
300	38	40	95,0%	85,1%
200	39	40	97,5%	88,7%
100	27	40	67,5%	53,4%
60	17	40	42,5%	29,2%
20	10	40	25,0%	14,2%

Sensibilidad con muestras clínicas

HIV-1 grupo M, HCV, HBV

Sesenta muestras cadavéricas de plasma conservadas en EDTA seleccionadas aleatoriamente, no reactivas al ARN de HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2 y HCV ni al ADN de HBV y clasificadas como moderadamente hemolizadas (de color paja a rosa) o altamente hemolizadas (de color rojo a marrón) se dividieron de manera uniforme en 5 grupos de adición de muestras clínicas con 12 muestras por grupo. Se añadió cada muestra cadavérica de un grupo a una de las tres muestras clínicas individuales de donantes vivos infectadas únicamente con HIV-1 grupo M, HCV o HBV de título conocido hasta conseguir una concentración final de aproximadamente tres veces el límite de detección ($3 \times \text{LOD}$) para cada virus y nivel de hemólisis correspondiente. Las muestras cadavéricas se diluyeron manualmente con diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen en una proporción de 1:5 y se analizaron mediante el procedimiento de análisis para muestras cadavéricas. Se emplearon tres lotes de reactivos para el estudio y cada grupo se dividió entre cada lote para un total de 20 muestras por lote de kit de reactivos por diana. La tasa de reacción fue del 98,3% (IC al 95%: 91,1-100%) para el HIV-1 grupo M y del 100% (IC al 95%: 94-100%) para el HCV y el HBV con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. En la Tabla 42 se presenta un resumen de los resultados de esta prueba.

HIV-1 grupo O, HIV-2

Para las dianas víricas de HIV-1 grupo O y HIV-2 se utilizaron los estándares primarios de Roche para añadir a las muestras cadavéricas de plasma conservadas en EDTA una concentración aproximada de $3 \times \text{LOD}$ para cada virus y nivel de hemólisis correspondiente (moderadamente hemolizadas y altamente hemolizadas). En consecuencia, estas dianas víricas sólo poseían un grupo de incorporación. Las muestras cadavéricas se diluyeron manualmente con diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen en una proporción de 1:5 y se analizaron mediante el procedimiento de análisis para muestras cadavéricas. Se emplearon tres lotes de reactivos para el estudio y cada grupo se dividió entre cada lote para un total de 12 muestras por lote de kit de reactivos por diana. Para las doce muestras analizadas en busca de HIV-1 grupo O y HIV-2, la tasa de reacción fue del 91,7% (IC al 95%: 61,5-99,8%) con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. En la Tabla 42 se presenta un resumen de los resultados de esta prueba.

Se calculó el valor *p* bilateral exacto para calibrar la importancia estadística de la diferencia entre proporciones de tasas de reacción observadas para cada diana y reactividad teórica del 100%.

Tabla 42.
Resumen de sensibilidad de la prueba **cobas[®] TaqScreen MPX v2.0 con muestras cadavéricas moderadamente hemolizadas (MH) y altamente hemolizadas (AH)**

Lote de reactivos	Nivel de hemólisis	HIV-1 grupo M	HIV-1 grupo O	HIV-2	HBV	HCV
Lote 1	MH	13/14	4/4	3/3	14/14	14/14
	AH	6/6	NT	1/1	6/6	6/6
	Total	19/20	4/4	4/4	20/20	20/20
Lote 2	MH	15/15	3/3	3/3	15/15	15/15
	AH	5/5	1/1	1/1	5/5	5/5
	Total	20/20	4/4	4/4	20/20	20/20
Lote 3	MH	16/16	3/4	3/4	16/16	16/16
	AH	4/4	NT	NT	4/4	4/4
	Total	20/20	3/4	3/4	20/20	20/20
Sensibilidad	Reactividad (%)	98,3% ^a	91,7%	91,7%	100%	100%
	Intervalo de confianza al 95%	91,1-100%	61,5-99,8%	61,5-99,8%	94,0-100%	94,0-100%
	Valor <i>p</i> bilateral	0,5	0,5	0,5	1	1

NT indica que el virus no ha sido analizado en el nivel de hemólisis especificado. El total para el HIV-1 grupo O y el HIV-2 se mantuvo en 12 muestras para cada caso.

Especificidad

Plasma cadavérico

Sesenta muestras de plasma individuales seronegativas procedentes de donantes vivos (premortem) y sesenta muestras cadavéricas (39 moderadamente hemolizadas y 21 altamente hemolizadas) conservadas en EDTA se dividieron en tres grupos y cada grupo de muestras se analizó con uno de los tres lotes de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Las muestras cadavéricas se diluyeron manualmente con diluyente para muestras cadavéricas **cobas**[®] TaqScreen en una proporción 1:5 y se analizaron mediante el procedimiento de análisis para muestras cadavéricas.

Tanto para las muestras cadavéricas como para las de donantes vivos se analizaron sesenta réplicas válidas con los tres kits. Una de las muestras de donantes vivos fue inicialmente reactiva al HCV. Se realizó una prueba de confirmación con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX que resultó negativa, por lo que la muestra se apartó del análisis. Se calculó el valor *p* bilateral exacto para calibrar la importancia estadística de la diferencia entre proporciones de tasas de muestras no reactivas observadas con muestras de donantes cadavéricos y vivos. La Tabla 43 que aparece a continuación presenta un resumen de los resultados de especificidad de esta prueba.

Tabla 43.
Resumen de resultados de especificidad de muestras cadavéricas con la prueba MPX v2.0

Lote de reactivos	Muestras de donantes cadavéricos (Dilución de 1:5 con diluyente para muestras cadavéricas cobas® TaqScreen)		Muestras de donantes vivos (Sin diluir)	
	Número de resultados válidos	Número de resultados no reactivos	Número de resultados válidos	Número de resultados no reactivos
Lote n.º 1	20	20	20	20
Lote n.º 2	20	20	20	19
Lote n.º 3	20	20	20	20
Total	60	60	60	59
Especificidad	100%		98,3%	
Intervalo de confianza al 95%	94,0-100,0%		91,1-100,0%	
Valor p bilateral	0,5			

^a Resultado de HCV reactivo determinado como falso positivo. Dos réplicas analizadas con la prueba cobas TaqScreen MPX resultaron no reactivas.

Suero cadavérico

Sesenta muestras individuales de suero cadavérico (46 moderadamente hemolizadas y 14 altamente hemolizadas) se dividieron en tres grupos y cada grupo de muestras se analizó con uno de los tres lotes de la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0. Las muestras cadavéricas se diluyeron manualmente con diluyente para muestras cadavéricas **cobas®** TaqScreen en una proporción 1:5 y se analizaron mediante el procedimiento de análisis para muestras cadavéricas. Los resultados para todas las muestras de suero cadavéricas fueron no reactivos. El intervalo de confianza del 95% es de 94,0%-100,0%.

Correlación de muestras cadavéricas entre la prueba cobas® TaqScreen MPX y la prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0

El rendimiento de la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0 y la prueba **cobas®** TaqScreen MPX fue evaluado mediante 50 muestras cadavéricas de plasma conservado en EDTA moderadamente hemolizadas y 10 altamente hemolizadas a las que se añadieron los estándares primarios o secundarios (descritos anteriormente) a una concentración final de aproximadamente tres veces el límite de detección (3 × LOD) para cada virus, nivel de hemólisis correspondiente y prueba. Se añadió HIV-1 grupo M, HCV y HBV individualmente a las muestras cadavéricas para su análisis con un lote de reactivos de la prueba **cobas®** TaqScreen MPX. Se añadió conjuntamente HIV-1 grupo M, HCV y HBV y luego HIV-1 grupo O y HIV-2 individualmente a las muestras cadavéricas para su análisis con tres lotes de reactivo de la prueba **cobas®** TaqScreen MPX. Se calculó el valor p bilateral exacto para calibrar la importancia estadística de la diferencia entre proporciones de tasas de reacción observadas para cada diana con la prueba **cobas®** TaqScreen MPX y la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0. En la Tabla 44 se presenta un resumen de los resultados.

Tabla 44.
Comparación de la sensibilidad de la prueba cobas® TaqScreen MPX y la prueba cobas TaqScreen MPX v2.0 utilizando muestras cadavéricas individuales a ~3 × LOD

Diana	Reactividad (%)		Valor p bilateral de muestras cadavéricas por diana vírica
	Prueba cobas® TaqScreen MPX	Prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0	
HIV-1 grupo M	(60/60) 100%	(59/60) 98%	1
HIV-1 grupo O	(59/60) 98%	(60/60) 100%	1
HIV-2	(57/60) 95%	(59/60) 98%	0,6
HBV	(57/60) 95%	(59/60) 98%	0,5
HCV	(59/60) 98%	(59/60) 98%	1

Suero cadavérico frente a plasma cadavérico

La equivalencia del rendimiento de la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0 al analizar distintas matrices de muestras se evaluó mediante el análisis de veinte pares de muestras cadavéricas. Cada conjunto estaba formado por una muestra de suero cadavérico y una muestra de plasma cadavérico conservada en K2 EDTA de un único donante. Quince de los conjuntos de donantes eran moderadamente hemolizados y cinco de los conjuntos de donantes eran altamente hemolizados.

Se añadió ~3 × LOD de HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O o HIV-2 a cada par de muestras de suero y plasma cadavérico y a continuación se formularon de forma conjunta con ~3 × LOD de HBV y ~3 × LOD de HCV antes del análisis (10 réplicas por muestra) con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0. Se calculó el valor p bilateral exacto para calibrar la importancia estadística de la diferencia entre proporciones de tasas de reacción observadas con muestras de suero y plasma cadavérico. En la Tabla 45 se presenta un resumen de los resultados.

Tabla 45.

Resultados observados para muestras cadavéricas altamente o moderadamente hemolizadas de suero frente a plasma

Diana	Nivel de hemólisis	Tipo	Número de pruebas	Número de reactivos	Tasa de reacción	Valor p bilateral de hemólisis y tipo de muestras cadavéricas por diana vírica
HIV-1 grupo M	Altamente hemolizadas	Plasma	20	20	100%	1
		Suero	20	20	100%	
	Moderadamente hemolizadas	Plasma	100	98	98%	0,2
		Suero	100	100	100%	
HIV-1 grupo O	Altamente hemolizadas	Plasma	10	10	100%	1
		Suero	10	10	100%	
	Moderadamente hemolizadas	Plasma	30	30	100%	1
		Suero	30	30	100%	
HIV-2	Altamente hemolizadas	Plasma	20	20	100%	1
		Suero	20	20	100%	
	Moderadamente hemolizadas	Plasma	20	20	100%	1
		Suero	20	20	100%	
HBV	Altamente hemolizadas	Plasma	50	50	100%	1
		Suero	50	50	100%	
	Moderadamente hemolizadas	Plasma	150	150	100%	1
		Suero	150	150	100%	
HCV	Altamente hemolizadas	Plasma	50	50	100%	1
		Suero	50	50	100%	
	Moderadamente hemolizadas	Plasma	150	149	99,3%	0,5
		Suero	150	150	100%	

La tasa promedio de lotes no válidos en diferentes estudios con muestras cadavéricas fue del 2,7% tras una dilución de 1:5, incluidos los estudios de estabilidad para muestras clínicas cadavéricas y diluyente de muestras cadavéricas.

RENDIMIENTO CLÍNICO

MUESTRAS DE DONANTES VIVOS

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 para uso en el sistema **cobas s** 201 se estableció mediante el análisis de un panel de 32 miembros compuesto por 2 muestras de plasma negativo y 2 muestras de plasma positivo para HIV-1 grupo M, HIV-1 grupo O, HIV-2, HCV y HBV en concentraciones de aproximadamente 0,5×, 1,0× y 3,0× el límite de detección (LOD) de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 para cada virus.

Los usuarios de cada uno de los 3 centros con 1 sistema **cobas s** 201 por centro realizaron pruebas durante 5 días con cada uno de los 3 lotes de reactivos de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 y se llevaron a cabo dos series del panel válidas por día para obtener hasta 180 pruebas por tipo de virus de miembro del panel.

Se analizaron todas las series válidas y los resultados de las pruebas mediante el cálculo del porcentaje de resultados de pruebas reactivas para cada miembro del panel y el porcentaje de resultados no reactivos para el miembro del panel de control negativo (Tabla 46). Este estudio demostró que la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 para uso en el sistema **cobas s** 201 muestra un rendimiento reproducible entre las variables analizadas (kit, centro, lote de reactivo, día y serie) y para los cinco analitos analizados.

Tabla 46.
Prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0 – resultados de reproducibilidad

Analito	Concentración vírica	N.º de pruebas	N.º de resultados correctos	Porcentaje de concordancia	Intervalo de confianza exacto al 95%
Negativo	0	168	167	99,4%	(96,7%, 100,0%)
HIV-1 grupo M	0,5 × LOD	173	143	82,7%	(76,2%, 88,0%)
	1,0 × LOD	172	162	94,2%	(89,6%, 97,2%)
	3,0 × LOD	176	174	98,9%	(96,0%, 99,9%)
HIV-1 grupo O	0,4 × LOD	172	119	69,2%	(61,7%, 76,0%)
	0,7 × LOD	168	145	86,3%	(80,2%, 91,1%)
	1,7 × LOD	171	170	99,4%	(96,8%, 100,0%)
HIV-2	0,5 × LOD	178	149	83,7%	(77,4%, 88,8%)
	1,0 × LOD	173	170	98,3%	(95,0%, 99,6%)
	3,0 × LOD	178	178	100,0%	(97,9%, 100,0%)
HCV	0,5 × LOD	176	142	80,7%	(74,1%, 86,2%)
	1,0 × LOD	171	161	94,2%	(89,5%, 97,2%)
	3,0 × LOD ^a	175	175	100,0%	(97,9%, 100,0%)
HBV	0,5 × LOD	178	131	73,6%	(66,5%, 79,9%)
	1,0 × LOD	177	168	94,9%	(90,6%, 97,6%)
	3,0 × LOD	174	172	98,9%	(95,9%, 99,9%)

^a Una prueba también resultó reactiva para HBV.

Especificidad clínica

Reactividad en poblaciones de donantes de sangre total

Las muestras se obtuvieron de donantes de sangre que dieron su consentimiento reclutados de 5 centros de pruebas. Los ensayos con la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0 se realizaron según dos algoritmos de pruebas: uno para pools de 1 (requiere un único nivel de ensayo) y otro para pools de 6 (requiere un único nivel de ensayo para pools primarios no reactivos y 2 niveles de ensayo –análisis de pool primario y análisis de resolución de donantes individuales– para pools primarios reactivos).

Especificidad en pruebas de donantes individuales

Para el análisis de las donaciones individuales se analizaron un total de 13.306 donaciones de sangre total. De estas, se excluyeron 29 muestras del resto de los cálculos porque provenían de donantes sospechosos de ser positivos para la infección debido a repetidos resultados reactivos para las pruebas de serología (13.306-29=13.277). De las restantes 13.277 donaciones, 17 resultaron reactivas con la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0 (13.277-17=13.260). Tres de estas 17 donaciones provenían de donantes que posteriormente resultaron positivos para el estado de infección, por lo que estas tres muestras se excluyeron del cálculo de especificidad (13.277-3=13.274) (Tabla 47). La especificidad clínica para las donaciones individuales en este estudio fue del 99,895% (13.260/13.274; IC del 95%: entre 99,823% y 99,937%). No se identificaron casos de resultados positivos para NAT durante el estudio.

Tabla 47.
Reactividad de donaciones individuales en donantes de sangre total

Categoría	N.º de muestras	Porcentaje de muestras analizadas
Donaciones individuales analizadas	13.277	100,00
Donaciones individuales no reactivas	13.260	99,87
Donaciones individuales reactivas	17	0,13
Donaciones reactivas con estado de donante positivo (positivo verdadero)	3	0,02
Donaciones reactivas con estado de donante negativo (falso positivo)	14	0,11

Especificidad en pruebas de pooling

Las donaciones de sangre total también se analizaron en pools de alícuotas iguales de máximo seis donaciones individuales. De los 10.500 pools analizados con la prueba **cobas®** TaqScreen MPX v2.0, 10.471 resultaron negativos. De los 29 pools reactivos (10.500-10.471=29), 15 contenían muestras de donantes que resultaron positivos para la infección (es decir, muestras de donantes positivos verdaderos en el pool), por lo que se excluyeron del cálculo para la especificidad. Los 14 pools reactivos restantes contenían muestras de donaciones individuales que resultaron no reactivas en el análisis para la resolución de los pools; por lo

tanto, el resultado de la prueba en los 14 pooles resultó falso positivo (10.471+14=10.485) (Tabla 48). Según estos datos, la especificidad para el análisis de pooles es del 99,866% (10.471/10.485, IC del 95%; entre 99,78% y 99,92%).

Tabla 48.
Reactividad del pool en donantes de sangre voluntarios

Categoría	N.º de pooles	Porcentaje de pooles analizados
Pooles analizados	10.500	100,00
Pooles no reactivos	10.471	99,72
Pooles reactivos	29	0,28
Pooles reactivos con estado de donante positivo	15	0,14
Pooles reactivos con estado de donante negativo (falso positivo)	14	0,13

Especificidad en pruebas de donaciones individuales y en pruebas de resolución de pooles

En este estudio se analizaron un total de 64.030 donaciones. De estas, 372 muestras se excluyeron de los cálculos posteriores debido al estado de donante positivo o sin resolver para la infección. De las 63.658 donaciones restantes (64.030-372=63.658), seis donaciones resultaron falsos positivos con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 tras la resolución mediante el análisis de las donaciones individuales de los pooles reactivos (63.658-6=63.652). La especificidad clínica para las donaciones individuales en pooles de 6 como máximo en este estudio fue del 99,991% (63.652/63.658; IC del 95%: entre 99,979% y 99,996%).

La tasa de lotes no válidos para la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 a partir del análisis inicial de donaciones en pooles de hasta seis muestras de donantes y de donaciones individuales fue de 4,8% y 5,3%, respectivamente.

Especificidad en muestras de donantes de plasma de origen

A partir de 14.776 donantes se obtuvieron un total de 103.981 donaciones de plasma de origen válidas que resultaron negativas individualmente para anti-HCV, anti-HIV-1 y HBsAg que se analizaron en pooles de 96 tanto con la prueba MPX v2 como con la prueba MPX y también de forma individual con las pruebas COBAS[®] AmpliScreen (CAS) para HBV, HCV y HIV. El estado de donante inicial se asignó según los resultados de la prueba MPX, las pruebas CAS y un estado negativo en las pruebas serológicas.

Se identificaron un período de ventana de infección por HIV-1, diez períodos de ventana de infección por HCV y una posible infección oculta por HBV en los 14.776 donantes únicos analizados en este estudio. El único resultado reactivo para NAT del estudio fue de 1:14.776, 1:1.478 y 1:14.776 para HIV-1, HCV y HBV, respectivamente, en donaciones de plasma de origen.

De los 14.776 donantes únicos analizados, 14.762 presentaron un estado de infección de donante negativo y 19 obtuvieron resultados de falsos reactivos (14.762-19=14.743), lo que representa una especificidad (en el nivel del donante) de 14.743/14.762=99,871% (IC del 95%: entre 99,799% y 99,918%).

Especificidad en pruebas de pooling de plasma de origen

Se analizaron un total de 1.100 pooles válidos con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0, de los cuales 1.049 (95,4%) fueron no reactivos y 51 (4,6%) fueron reactivos. De los 1.049 pooles no reactivos, 1.048 eran pooles que contenían todas las donaciones con estado de infección de donante negativo y 1 era un pool que contenía una donación con estado de infección de donante positivo para HBV (Tabla 49).

Para esta donación con estado de donante positivo para HBV, el pool provenía de una donación reactiva con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX confirmada mediante una prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 adicional y con la prueba COBAS[®] AmpliScreen HBV, pero el donante rechazó someterse a un seguimiento, por lo que potencialmente podría representar un donante con una infección de HBV oculta. El pool que contenía la donación con estado de infección positivo se excluyó del cálculo de especificidad.

Veintiuno de los 51 pooles reactivos de 96 muestras se consideraron falsos positivos con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 porque su resolución determinó que contenían todas las donaciones no reactivas con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 tras la prueba de resolución mediante el algoritmo de pruebas de pooling o de seguimiento de los donantes (es decir, pooles falsos positivos) (1.048+21=1.069). Los 30 pooles reactivos restantes que contenían como mínimo una donación de un donante con estado de infección positivo se excluyeron del cálculo de la especificidad. La especificidad clínica (en el nivel del pool) de la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 para los pooles de plasma de origen de hasta 96 fue de 1.048/1.069=98,04% (IC del 95%: entre 97,02% y 98,71%) en este estudio.

Tabla 49.

Reactividad de la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 con pools de hasta 96 donaciones de plasma de origen

Categoría	Número de pools	Porcentaje de pools analizados
Pools totales de 96 ^a analizados:	1.100	100,0
Pools no reactivos ^b	1.049	95,4
Pools no reactivos con estado de donante negativo en todos los casos	1.048	95,3
Pools no reactivos con al menos una donación con estado de donante positivo	1	0,1
Pools reactivos ^b	51	4,6
Pools reactivos con al menos una donación con estado de donante positivo	30	2,7
Pools reactivos con estado de donante negativo en todos los casos (pools falsos reactivos)	21	1,9

^a 299 de 1.100 pools incluían menos de 96 donaciones. El 97% (1.071) de estos pools incluían 90 donaciones o más.

^b El estado de la donación se asignó a partir de los resultados iniciales de las pruebas *cobas*[®] TaqScreen MPX y COBAS[®] AmpliScreen Test y/o en las pruebas de seguimiento adicionales.

Especificidad en pruebas de donaciones individuales a partir de pruebas para resolución de pools

De las 103.981 donaciones analizadas, se asignó un estado de donación negativo a 103.950, de las que 103.931 resultaron no reactivas con la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0, lo que supone una especificidad clínica (en el nivel de donación) de 103.931/103.950=99,982% (IC del 95%: entre 99,971% y 99,988%) en este estudio.

Estudios en poblaciones de alto riesgo

Las muestras fueron recopiladas por un proveedor externo a partir de sujetos con alto riesgo de infección por HIV, HCV, y/o HBV. Los factores de alto riesgo incluían, entre otros, los tatuajes y *piercings* corporales, el uso de drogas inyectadas, tener múltiples compañeros sexuales, accidentes de pinchazos con agujas, transfusiones de sangre o hemoderivados, historial de enfermedades de transmisión sexual y diálisis. Se distribuyeron un total de 570 muestras de población de alto riesgo de forma equitativa entre los 4 centros donde se iban a realizar las pruebas *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 y *cobas*[®] TaqScreen MPX.

Todas las muestras se prepararon como paneles en RMS: las muestras diluidas se diluyeron manualmente con plasma humano en pools confirmados como negativos para HIV-1/2, HCV y HBV. En los centros de pruebas, las muestras se analizaron sin diluir y diluidas (1:6) con la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0, y sin diluir y diluidas (1:6) con la prueba autorizada *cobas*[®] TaqScreen MPX. Las pruebas de resolución de dianas de las muestras reactivas con la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX se realizaron mediante las pruebas COBAS[®] AmpliScreen (HIV-1, HCV y HBV) según el procedimiento de proceso para muestras estándar recomendado en el boletín técnico de la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX.

Había 567 muestras sin diluir con resultados de la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 y la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX. La prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 identificó un total de 99 muestras reactivas (8 para HIV, 87 para HCV y 4 para HBV) en comparación con las 87 identificadas con la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX, (5 para HIV, 71 para HCV y 0 para HBV, además de 11 sin resolver). En esta población, la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 identificó más muestras que la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX. Había 570 muestras diluidas (1:6) con resultados de la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 y la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX. La prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX v2.0 identificó un total de 80 muestras reactivas (4 para HIV, 74 para HCV y 2 para HBV) en comparación con las 78 identificadas con la prueba *cobas*[®] TaqScreen MPX (4 para HIV, 69 para HCV, 0 para HBV y 5 sin resolver). No se observaron muestras reactivas verdaderas de individuales infectados por HBV en este estudio, ni en las muestras sin diluir ni en las muestras diluidas.

Tabla 50.
Análisis de la prueba cobas® TaqScreen MPX v2.0 con muestras de poblaciones de alto riesgo

Nivel de análisis	Resultado por diana	Prueba cobas ® TaqScreen MPX v2.0	Prueba cobas ® TaqScreen MPX
Sin diluir	No reactivo	468	480
	Total de reactivos	99*	87*
	HIV	8	5
	HCV	87	71
	HBV	4 ¹	0
	Sin resolver	0	11
	Pruebas totales	567	567
Dilución 1:6	No reactivo	490	492
	Total de reactivos	80**	78**
	HIV	4	4
	HCV	74	69
	HBV	2 ²	0
	Sin resolver	0	5
	Pruebas totales	570	570

* 82 muestras resultaron reactivas tanto con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 como con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX.

** 73 muestras resultaron reactivas tanto con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 como con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX.

¹ Un reactivo para HBV con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0, reactivo con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX, negativo con la prueba COBAS® AmpliScreen HIV 1, HCV, HBV y no reactivo con la determinación NAT alternativa y 3 reactivos para HBV con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0, no reactivos con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX, negativos con la prueba COBAS® AmpliScreen HIV 1, HCV, HBV y no reactivos con la determinación NAT alternativa.

² Dos reactivos para HBV con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0, no reactivos con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX y no reactivos con la determinación NAT alternativa.

Estudios en poblaciones seropositivas y positivas mediante pruebas NAT

Se analizaron un total de 2.799 muestras positivas conocidas para HIV, HCV y HBV mediante NAT según carga vírica y/o muestras de ensayos cualitativos en 4 centros de pruebas con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 (3 lotes de reactivos) y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX y COBAS® AmpliScreen HIV 1 v1.5; la prueba COBAS® HCV v2.0; y COBAS® AmpliScreen HBV. Estas 2.799 muestras conocidas como seropositivas para HIV (n=1.158), HCV (n=1.137) o HBV (n=504) se analizaron sin diluir y diluidas (1:6) con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX. Solamente se analizaron muestras sin diluir con las pruebas autorizadas COBAS® AmpliScreen HIV 1, HCV y HBV según el procedimiento de proceso para muestras estándar recomendado en el boletín técnico de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX en 2 centros de pruebas.

Población seropositiva para el HIV y positiva para el HIV NAT

Había 1.106 y 1.123 muestras con resultados de pruebas respectivamente para muestras de HIV sin diluir y diluidas a 1:6. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 fue reactiva para 1.098 (99,3%) muestras sin diluir y 1.086 (96,7%) muestras diluidas. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX fue reactiva para 1.095 (99,0%) muestras sin diluir y 1.078 (96,0%) muestras diluidas (Tabla 51).

Población seropositiva para el HCV y positiva para el HCV NAT

Había 1.137 y 1.122 muestras con resultados de pruebas evaluables para muestras de HCV sin diluir y diluidas a 1:6, respectivamente. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 fue reactiva para 1.117 (98,2%) muestras sin diluir y 1.106 (98,6%) muestras diluidas. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX fue reactiva para 1.118 (98,3%) muestras sin diluir y 1.106 (98,6%) muestras diluidas (Tabla 51).

Población seropositiva para el HBV y positiva para el HBV NAT

Había 491 y 498 muestras con resultados de pruebas para muestras de HBV sin diluir y diluidas 1:6, respectivamente. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX v2.0 fue reactiva para 491 (100,0%) muestras sin diluir y 493 (99,0%) muestras diluidas. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX fue reactiva para 491 (100,0%) muestras sin diluir y 489 (98,2%) muestras diluidas (Tabla 51).

Tabla 51.
Resumen de resultados de la prueba para muestras positivas conocidas mediante NAT

Diana	Dilución	Pruebas totales	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 (reactivos)	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX (reactivos)
HIV-1 grupo M	Sin diluir	1.106	1.098	1.095
	Dilución 1:6	1.123	1.086	1.078
HCV	Sin diluir	1.137	1.117	1.118
	Dilución 1:6	1.122	1.106	1.106
HBV	Sin diluir	491	491	491
	Dilución 1:6	498	493	489
HIV-1 grupo O*	Seropositiva, diluida	11	8	8
	En cultivo, diluida	9	9	9
HIV-2*	Seropositiva, sin diluir	312	181	172
	Seropositiva, diluida	318	137	137

* Los resultados para HIV-1 grupo O y HIV-2 se explican a continuación.

Sensibilidad clínica para la población seropositiva para el HIV-1 grupo O y el HIV-2

Población seropositiva para el HIV-1 grupo O

Se analizaron un total de 11 muestras seropositivas para el HIV-1 grupo O tras una dilución de 1:6 con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Un total de 8 de las 11 muestras resultaron reactivas. Las 3 muestras no reactivas presentaban cargas víricas inferiores al límite de detección de la prueba Abbot Real Time HIV-1 (< 60 copias/ml) y ninguna de las tres resultaron reactivas con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX. Además, se diluyeron un total de nueve aislados en cultivo de HIV-1 grupo O y se analizaron con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0. Todas las muestras fueron reactivas con ambas pruebas (Tabla 52, Tabla 53).

Tabla 52.
Resultados de la prueba para muestras seropositivas para HIV-1 grupo O

ID de muestra_Dilución	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX
BSE191_1:6	R	R
HJ1230_1:6	R	R
HJ1357_1:6	NR	NR
HJ162_1:6	R	R
HJ1977_1:6	R	R
HJ367_1:6	NR	NR
HJ736_1:6	NR	NR
HJ2044_1:6	R	R
K1043_1:6	R	R
HJ100_1:6	R	R
HJ1322_1:6	R	R

Nota: R = reactivo; NR = no reactivo

Tabla 53.
Resultados de la prueba para aislado en cultivo de HIV-1 grupo O

ID de cultivo_Dilución	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX
60736_1:1000	R	R
BCF02_1:1.000	R	R
MVP 5180_1:1.000	R	R
BV5003_1:2.000	R	R
BV 5051_1:1.000	R	R
BV 5024_1:1.000	R	R
BCF11_1:2.000	R	R
BCF01_1:2.000	R	R
BCF06_1:2.000	R	R

Nota: R = reactivo; NR = no reactivo

Población seropositiva para el HIV-2

Se analizaron un total de 312 muestras seropositivas para el HIV-2 con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX. Un total de 181 de las 312 muestras fueron reactivas con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 en comparación con las 172 que lo fueron con la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX (Tabla 54). De las 131 muestras no reactivas, ninguna resultó reactiva al utilizar un método NAT cuantitativo alternativo (prueba para uso exclusivo de investigación desarrollada por Dr. Florence Damond, del Hôpital Bichat Claude Bernard, París, Francia).³⁹

Tabla 54.
Resultados de la prueba para muestras seropositivas para HIV-2 sin diluir

Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 (sin diluir)	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX (sin diluir)		Total
	Reactivas	No reactivas	
Positivas	145	36	181
Negativo	27	104	131
Total	172	140	312

También se estableció una tasa de detección similar entre la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 y la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX para HIV-2 al diluir 318 muestras seropositivas para HIV-2 con una proporción 1:6 antes del análisis con ambas pruebas. Tanto la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX v2.0 como la prueba **cobas**[®] TaqScreen MPX detectaron 137 de las 318 muestras diluidas (Tabla 55).

Tabla 55.
Resultados de la prueba para muestras seropositivas para HIV-2 diluidas 1:6

Prueba cobas [®] TaqScreen MPX v2.0 (1:6)	Prueba cobas [®] TaqScreen MPX (1:6)		Total
	Reactivas	No reactivas	
Positivas	107	30	137
Negativas	30	151	181
Total	137	181	318

BIBLIOGRAFÍA

1. Kahn JO, Walker BD. Current Concepts: acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1998; **339**:33-39.
2. McCutchan FE. Global Epidemiology of HIV. *Journal of Medical Virology*, **78**:S7-S12 (2006).
3. Centers for Disease Control and Prevention (www.cdc.gov). Fact Sheet – Human Immunodeficiency Virus Type 2. October 2002.
4. Reeves JD and Doms WR. Human Immunodeficiency Virus Type 2. *Journal of General Virology* (2002), **83**:1253-1265.
5. Choo Q-L, Weiner AJ, Overby LR, et al. Hepatitis C virus: the major causative agent of viral non-A, non-B hepatitis. *Br Med Bull.* 1990; **46(2)**:423-441.
6. Alter HJ. Descartes before the horse: I clone, therefore I am: the hepatitis C virus in current perspective. *Ann Intern Med.* 1991; **115(8)**:644-649.
7. Chisari FV, Ferrari C. Viral Hepatitis. In: Nathanson N et al., eds. *Viral Pathogenesis*, Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997: 745-748.
8. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B Virus. In: Knipe DM et al., eds. *Fields Virology*, 4th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 2971-3036.
9. Mahoney FJ, Kane M. Hepatitis B Vaccine. In: Plotkin SA and Orenstein WA, eds. *Vaccines*, 3rd ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1999: 158-182.
10. Viral Hepatitis Prevention Board. *Prevention and Control of Hepatitis B in the Community*. Communicable Disease Series, 1996, 1.
11. World Health Organization. *Introduction of Hepatitis B Vaccine into Childhood Immunization Services*. Geneva, WHO, 2001 (unpublished document WHO/V&B/01.31 available on request from Department of Vaccines and Biologicals, World Health Organization, 1211 Geneva 27, Switzerland).
12. Murthy KK, Henrard DR, Eichberg JW, et al. Redefining the HIV-infectious window period in the chimpanzee model: evidence to suggest that viral nucleic acid testing can prevent blood-borne transmission. *Transfusion.* 1999; **39**:688-693.
13. Stramer SL, Glynn SA, Kleinman SH, et al. Detection of HIV-1 and HCV infections among antibody-negative blood donors by nucleic acid-amplification testing. *N Engl J Med.* 2004; **351**:760-768.
14. Busch MP, Glynn SA, Stramer SL, et al. A new strategy for estimating risks of transfusion-transmitted viral infections based on rates of detection of recently infected donors. *Transfusion.* 2005; **45**:254-264.
15. Offergeld R, Faensen D, Ritter S, Hamouda O. Human immunodeficiency virus, hepatitis C and hepatitis B infections among blood donors in Germany 2000-2002: risk of virus transmission and the impact of nucleic acid amplification testing. *Euro Surveill.* 2005; **10(2)**:8-11.
16. Hitzler WE, Runkel S. Routine HCV PCR screening of blood donations to identify early HCV infection in blood donors lacking antibodies to HCV. *Transfusion.* 2001; **41**:333-337.
17. Roth WK, Weber M, Petersen D, et al. NAT for HBV and anti-HBc testing increase blood safety. *Transfusion.* 2002; **42**:869-875.
18. Biswas R, Tabor E, Hsia CC, et al. Comparative sensitivity of HBV NATs and HBsAg assays for detection of acute HBV infection. *Transfusion.* 2003; **43**:788-798.
19. Minegishi K, Yoshikawa A, Kishimoto S, et al. Superiority of minipool nucleic acid amplification technology for hepatitis B virus over chemiluminescence immunoassay for hepatitis B surface antigen screening. *Vox Sang.* 2003; **84**:287-291.
20. Kleinman SH, Strong DM, Tegtmeier GE, et al. Hepatitis B virus (HBV) DNA screening of blood donations in minipools with the COBAS® AmpliScreen HBV test. *Transfusion.* 2005; **45**:1247-1257.
21. Busch MP, Lee LL, Satten GA, et al. Time course of detection of viral and serologic markers preceding human immunodeficiency type 1 seroconversion: implications for screening blood and tissue donors. *Transfusion.* 1995; **35**:91-97.
22. Yoshikawa A, Gotanda Y, Itabashi M, et al. Hepatitis B NAT virus-positive blood donors in the early and late stages of HBV infection: analyses of the window period and kinetics of HBV DNA. *Vox Sang.* 2005; **88**:77-86.
23. Comanor L and Holland P. Hepatitis B virus blood screening: unfinished agendas. *Vox Sanguinis* (2006) **91**:1-12.
24. 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.
25. 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.

26. 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.
27. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (NY)*. 1992; **10**:413-417.
28. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996; **6**:986-994.
29. Richmond JY, McKinney RW, eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication Number (CDC) 99-8395, 1999.
30. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA:CLSI, 2005.
31. International Air Transport Association, Dangerous Goods Regulations. 41st ed. Quebec, Canada. 2000.
32. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, Dawson P, Heermann K, Heath A & The WHO Collaborative Study Group: An international collaborative study to establish a World Health Organization international standard for hepatitis B virus DNA nucleic acid amplification techniques. *Vox Sang*. 2001; **80**:63-71.
33. Saldanha J, Heath A, Aberham C, Albrecht J, Gentili G, Gessner M and Pisani G: WHO Collaborative Study to Establish a Replacement WHO International Standard for HCV RNA NAT Assays. WHO/BS/03.1958 Expert Committee on Biological Standardization, Geneva, 17 to 21 February 2003.
34. Palla P, Vatteroni M L, Vacri L, Maggi F and Baicchi U. HIV-1 NAT minipool during pre-conversion window period: detection of a repeat blood donor. *Vox Sanguinis* (2006) **90**:59-62.
35. Pawlotsky J M. Use and interpretation of virological tests for Hepatitis C. *Hepatology* (2002) **36**:S65-S73.
36. Garson J A, Grant P R, Ayliff U et al, Real-time PCR quantitation of hepatitis B virus DNA using automated sample preparation and murine cytomegalovirus internal control. *J. Virol. Methods* (2005) **126**:207-213.
37. Holmes H et al, WHO ECBS Report, 1999; *J. Virol. Meth.* (2001) **92**:141-150.
38. Damond F, Collin G, Descamps D, et al., Improved Sensitivity of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Subtype B Plasma Viral Load Assay. *Journal of Clinical Microbiology*, 2005; **43**:4234-4236.
39. HIV-2 RNA International Standard (NIBSC code 08/150):
http://www.nibsc.ac.uk/products/biological_reference_materials/product_catalogue/detail_page.aspx?catid=08/150
40. BD Vacutainer[®] PPT[™] Plasma Preparation Tube Package Insert 5/2012 VPD40162-01web.

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 3.0 09/2017	Se ha incluido información serológica complementaria restringida. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.
Doc Rev. 4.0 09/2018	Se han actualizado las advertencias de peligro. Se han actualizado las descripciones de la página de símbolos armonizada y se le ha añadido el símbolo Rx Only y su descripción. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

U.S. License No. 1636



Distribuido por

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

Marcas registradas y patentes

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

©2018 Roche Molecular Systems, Inc.

09/2018
Doc Rev. 4.0

06457258001-01

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



Software auxiliar



Distribuido por



Representante autorizado en la Comunidad Europea



Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*



Código de lote



Fabricante



Riesgo biológico



Almacenar en la oscuridad



Número de catálogo



Límite de temperatura



Consulte las instrucciones de uso



Archivo de definición de pruebas



Suficiente para <n> pruebas



Fecha de caducidad



Contenido del kit



Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)

Rx Only

Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos sólo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.



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