Rx Only

cobas® MPX

Prueba multiplex para ácidos nucleicos de VIH, VHC y VHB para uso en los cobas® 6800/8800 Systems

Para diagnóstico *in vitro*

cobas® MPX – 96	P/N: 06997708190
cobas® MPX – 480	P/N: 06997716190
cobas® MPX Control Kit	P/N: 06997724190
cobas® NHP Negative Control Kit	P/N: 07002220190
cobas omni MGP Reagent	P/N: 06997546190
cobas omni Specimen Diluent	P/N: 06997511190
cobas omni Lysis Reagent	P/N: 06997538190
cobas omni Wash Reagent	P/N: 06997503190

Tabla de contenido

Uso previsto **4**

Resumen y explicación de la prueba **4**

Reactivos y materiales **7**

Reactivos y controles de **cobas**® MPX 7

Reactivos **cobas omni** para la preparación de muestras 11

Requisitos de almacenamiento y manipulación 12

Material adicional necesario 13

Instrumentos y software necesarios 13

Precauciones y requisitos de manipulación **14**

Advertencias y precauciones 14

Manipulación de reactivos 15

Buenas prácticas de laboratorio 15

Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras **15**

Muestras de sangre de donantes vivos 16

Muestras de sangre cadavéricas 18

Instrucciones de uso **19**

Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional) 19

Notas sobre el procedimiento 19

Realización de la prueba **cobas**® MPX 19

Resultados **20**

Control de calidad y validez de los resultados 20

Interpretación de los resultados 20

Repetición de pruebas de muestras individuales 21

Limitaciones del procedimiento 21

Evaluación no clínica del rendimiento **22**

Características clave de rendimiento 22

Muestras de donantes vivos 22

Límite de detección (LoD) 22

Reproducibilidad 26

Verificación del genotipo 29

Paneles de seroconversión 33
Especificidad analítica 36
Especificidad analítica: sustancias interferentes 37
Correlación 38
Fallo de todo el sistema 39
Contaminación por arrastre 39
Muestras cadavéricas 40
Sensibilidad 40
Especificidad 41
Reproducibilidad 42

Evaluación clínica del rendimiento 44

Reproducibilidad 44
Especificidad clínica 47
Reactividad en la población de donantes de sangre 47
Reactividad en la población de donantes de plasma de origen 48
Estudios en poblaciones de alto riesgo 49
Sensibilidad clínica 51
Estudios en poblaciones positivas mediante pruebas NAT 51
Sensibilidad clínica de la población seropositiva para el VIH-1 grupo O y el VIH-2 53
Población seropositiva para el VIH-1 grupo O 53
Población seropositiva para el VIH-2 53
Confirmación de los resultados serológicos 54

Información adicional 55

Características principales de la prueba 55
Símbolos 56
Asistencia técnica 57
Fabricante y distribuidores 57
Marcas registradas y patentes 57
Copyright 57
Bibliografía 58
Revisión del documento 60

Uso previsto

La prueba **cobas**® MPX, para uso en los **cobas**® 6800 y los **cobas**® 8800 Systems, es una prueba cualitativa *in vitro* para la detección directa del ARN del grupo M del virus de inmunodeficiencia humano tipo 1 (VIH-1), ARN del grupo O del virus de inmunodeficiencia humano tipo 1, ARN del virus de inmunodeficiencia humano tipo 2 (VIH-2), ARN del virus de la hepatitis C (VHC) y el ADN del virus de la hepatitis B (VHB) en plasma y suero humanos.

Esta prueba se ha diseñado como cribado de muestras de donantes para detectar ARN de VIH-1 grupo M, ARN de VIH-1 grupo O, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB en muestras de plasma y suero de donantes de sangre individuales, incluidos los donantes de sangre total, componentes sanguíneos y otros donantes vivos. Esta prueba también se ha concebido para el cribado de donantes de órganos y tejidos cuando las muestras se obtienen a corazón latiente del donante y en análisis de muestras de donantes cadavéricos (a corazón parado). El plasma y el suero de todos los donantes se pueden cribar como muestras individuales. En el caso de las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos, las muestras de plasma y suero se pueden analizar individualmente o el plasma en pooles compuestos por alícuotas de muestras individuales. En el caso de los donantes cadavéricos de órganos y tejidos (a corazón parado), las muestras solamente se pueden cribar como muestra individual.

En el caso de las muestras individuales, la detección y discriminación de los resultados se realiza simultáneamente para VIH, VHC y VHB.

La prueba **cobas**® MPX puede considerarse una prueba complementaria para confirmar la infección por VIH en muestras que han generado repetidamente resultados reactivos en una prueba con marcado CE-IVD para anticuerpos del VIH y reactivos en la prueba **cobas**® MPX.

La prueba **cobas**® MPX puede considerarse una prueba complementaria para confirmar la infección por VHC en muestras que han generado repetidamente resultados reactivos en una prueba con marcado CE-IVD para anticuerpos del VHC y reactivos en la prueba **cobas**® MPX.

La prueba **cobas**® MPX puede considerarse una prueba complementaria para confirmar la infección por VHB en muestras que han generado repetidamente resultados reactivos en una prueba con marcado CE-IVD para el antígeno de superficie de la hepatitis B y reactivos en la prueba **cobas**® MPX.

Esta prueba no está diseñada para utilizarse como ayuda para el diagnóstico de infección por VIH, VHC o VHB.

Resumen y explicación de la prueba

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

Uno de los principales problemas de la transfusión de sangre o componentes sanguíneos es la posible transmisión de infecciones virales, especialmente la del virus de inmunodeficiencia humano tipo 1 (VIH-1) y tipo 2 (VIH-2), el virus de la hepatitis C (VHC) y el de la hepatitis B (VHB). 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 VIH-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).[1] Las personas infectadas con el VIH-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. Actualmente existen tres grupos genéticos principales del VIH-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 se divide en 9 subtipos, además de varias formas recombinantes circulantes (FRC).[2-4]

El VIH-2 se aisló por primera vez en 1986 en pacientes de África occidental. Tanto el VIH-1 como el VIH-2 poseen los mismos mecanismos de transmisión y se asocian a las mismas infecciones oportunistas y al Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).[5, 6] La prevalencia del VIH-2 en algunos países africanos supera el 1% y el VIH-2 representa un problema creciente en algunas partes de Europa e India.[7-11]

Se estima que el VHC es el principal agente etiológico responsable del 90% al 95% de los casos de hepatitis no A no B posteriores a una transfusión.[12-14] La prevalencia del VHC varía entre un 0,5 y un 2,0% en Europa occidental[15] y entre un 6% y un 40% en Egipto.[16]

En la actualidad, más de dos mil millones de personas han sufrido infección por VHB en algún momento de sus vidas. De estos, unos 350 millones han desarrollado una infección crónica y se han convertido en portadores del virus.[17-19] Tanto el VHC como el VHB pueden provocar enfermedades crónicas del hígado y ambos virus constituyen la principal causa de cirrosis hepática y cáncer de hígado, lo que supone un 78% del total.[20]

Motivos para el uso de las pruebas NAT

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. Las pruebas de sangre total y donaciones de plasma de origen en busca de VHB 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 VHB, las donaciones de sangre y plasma se analizan de forma rutinaria en busca de anticuerpos del VIH y el VHC mediante inmunoensayos enzimáticos (EIA).[21, 22] Existe un riesgo residual de transmisión en las donaciones de sangre realizadas durante el periodo de ventana de seroconversión, estimado en 19 días, 65 días y 36 días para el VIH-1, el VHC y el VHB, respectivamente.[23] Las pruebas de ácidos nucleicos víricos (ARN de VIH-1, ARN de VHC y ADN de VHB) realizadas mediante tecnología de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) permiten una reducción sustancial de este riesgo.[24, 25] Con la introducción de la tecnología NAT, el riesgo residual actual para las transfusiones en los EE.UU. es de 1:1,5 millones para el VIH-1, 1:1,2 millones para el VHC y de 1:280.000–1:355.000 para el VHB.[26, 27] Las estimaciones son similares en Alemania, país en el que las pruebas NAT se introdujeron en 1999, y donde el riesgo residual estimado de infecciones transmitidas mediante transfusión es de 1:4,3 millones, 1:10,9 millones y 1:360.000 para el VIH-1, el VHC y el VHB respectivamente.[24] Por último, para el caso de VHB, las pruebas NAT también prohíben donantes con una infección oculta por VHB en la que pueda detectarse ADN del VHB pero el HBsAg esté ausente[28] y, en donantes vacunados con un brote, una infección subclínica.[29-31]

Explicación de la prueba

La prueba **cobas**® MPX es una prueba multiplex cualitativa realizada en el **cobas**® 6800 System y en el **cobas**® 8800 System. La prueba **cobas**® MPX permite detectar y discriminar simultáneamente con una sola prueba ARN del VIH, ARN del VHC, ADN del VHB y el control interno de una donación individual infectada o de un pool de plasma de donaciones individuales. La prueba no discrimina entre los grupos M y O del VIH-1 ni VIH-2.

Principios del procedimiento

La prueba **cobas**® MPX se basa en la tecnología PCR a tiempo real en un sistema totalmente automático para la preparación de muestras (extracción y purificación de ácidos nucleicos), la amplificación y la detección mediante PCR. Los **cobas**® 6800/8800 Systems constan del módulo de suministro de muestras, el módulo de transferencia, el módulo de procesamiento y el módulo analítico. La gestión automática de los datos se realiza mediante el software **cobas**® 6800/8800, que asigna los resultados a las pruebas como no reactivos, reactivos o no válidos. Los resultados pueden revisarse directamente en la pantalla del sistema y luego imprimirse como informe o bien enviarse a un sistema de gestión de información del laboratorio (LIS) o a cualquier otro sistema de gestión de resultados.

Las muestras pueden analizarse de forma individual o, si lo desea, en pooles formados por varias muestras. Si va a realizarse un pooling, se puede utilizar el **cobas p** 680 instrument o el software **cobas**® **Synergy** con el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR IVD (**cobas**® **Synergy** Core) en el paso preanalítico.

Los ácidos nucleicos de la muestra y las moléculas de control interno (CI) de Armored RNA añadidas (utilizadas como control del proceso de preparación de muestras y amplificación/detección) se extraen simultáneamente. Además, la prueba utiliza cuatro controles externos: tres positivos y un control negativo. Los ácidos nucleicos víricos se liberan al añadir proteinasa y reactivo de lisis a la muestra. Los ácidos nucleicos liberados se unen a la superficie de sílice de las partículas de vidrio magnéticas añadidas. Las sustancias sin unir y las impurezas, como las proteínas desnaturalizadas, los restos celulares y potenciales inhibidores de la PCR (como la hemoglobina) se eliminan en los siguientes pasos de reactivo de lavado y los ácidos nucleicos purificados se eluyen de las partículas de vidrio magnéticas mediante el buffer de elución a temperatura elevada.

Para llevar a cabo la amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra del donante se utilizan cebadores que van en un sentido y en sentido contrario específicos del virus que se seleccionan de regiones altamente conservadas de los ácidos nucleicos víricos. Para los procesos de transcripción inversa y amplificación se utiliza una enzima ADN polimerasa termoestable. El reactivo de Master Mix incluye trifosfato de deoxiuridina (dUTP), en lugar de trifosfato desoxitimidina (dTTP), que se incorpora al ADN recién sintetizado (amplicón).[32-34] La enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa), que se incluye en la Master Mix para PCR cuando se calienta durante la primera ciclación térmica, elimina los amplicones contaminados de las series de PCR anteriores. Sin embargo, no se eliminan los amplicones nuevos porque la enzima AmpErase se inactiva cuando se expone a temperaturas superiores a los 55 °C.

El reactivo de Master Mix de **cobas**® MPX contiene sondas de detección específicas para ácidos nucleicos de VIH-1 (grupos M y O), VIH-2, VHC, VHB o CI. Cada una de las sondas de detección específicas para VIH, VHC, VHB e CI se etiqueta con uno de los cuatro marcadores fluorescentes únicos que actúan como emisores. Además, cada sonda dispone de un quinto marcador que actúa como silenciador. Los cuatro marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, lo que permite la detección y discriminación simultáneas de los fragmentos objetivo amplificados de VIH, VHC, VHB e CI.[35, 36] Cuando no se une a la secuencia objetivo, la señal fluorescente de las sondas intactas se elimina mediante el marcador silenciador. Durante el paso de amplificación de la PCR, la hibridación de las sondas con la plantilla específica de ADN monocatenario provoca la escisión de la actividad de la nucleasa 5' a 3' de la ADN polimerasa, lo que produce la separación de los marcadores emisores y silenciadores y la emisión de una señal fluorescente. Con cada ciclo de PCR, se generan cantidades crecientes de sondas escindidas y la señal acumulada del marcador emisor aumenta concomitantemente. Dado que los cuatro marcadores emisores se miden en longitudes de onda definidas, es posible detectar y discriminar simultáneamente los fragmentos objetivo amplificados del VIH, VHC, VHB e CI.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® MPX

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

Tabla 1 Prueba **cobas**® MPX

Prueba cobas® MPX
Almacenar a 2-8 °C
Casete para 96 pruebas (P/N 06997708190)
Casete para 480 pruebas (P/N 06997716190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	
		96 pruebas	480 pruebas
Solución de proteinasa (PASE)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, cloruro de calcio, acetato de calcio, 8% (p/v) de proteinasa EUH210: Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad. EUH208: Contiene subtilisina. Puede provocar una reacción alérgica.	13 ml	38 ml
Control interno (CI)	Buffer Tris, < 0,05% de EDTA, < 0,001% de constructo de Armored RNA como control interno (ARN no infeccioso encapsulado en bacteriófago MS2), < 0,002% de ARN Poli rA (sintético), < 0,1% de azida sódica	13 ml	38 ml
Buffer de elución (EB)	Buffer Tris, 0,2% de metil-4-hidroxibenzoato	13 ml	38 ml
Reactivo 1 de Master Mix (MMX-R1)	Acetato de manganeso, hidróxido potásico, < 0,1% de azida sódica	5,5 ml	14,5 ml
Reactivo 2 de MPX Master Mix (MPX MMX-R2)	Buffer Tricina, acetato de potasio, glicerol, 18% de sulfóxido de dimetilo, Tween 20, EDTA, < 0,06% de dATP, dGTP, dCTP, < 0,14% de dUTP, < 0,01% de cebadores ascendente y descendente para grupo M de VIH-1, grupo O de VIH-1, HIV-2, VHC, VHB y cebadores de control interno, < 0,01% de sondas marcadas con fluorescente para VIH, VHC y VHB, < 0,01% de sonda de control interno marcada con fluorescente, < 0,01% de aptámero oligonucleótido, < 0,01% de polimerasa de ADN Z05D, < 0,01% de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana), < 0,1% de azida sódica	6 ml	17,5 ml

Tabla 2 **cobas**® MPX Control Kit

cobas® MPX Control Kit

Almacenar a 2-8 °C
(P/N 06997724190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control positivo múltiple de MPX (MPX M (+) C)	< 0,001 % de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo M encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001 % de ARN (Armored) sintético de VHC encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, < 0,001 % de ADN (plásmido) sintético de VHB encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago Lambda, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos frente al VHC y el VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. 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 Masa de reacción 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).
Control positivo para VIH-1 O de MPX (MPX O (+) C)	< 0,001 % de ARN (Armored) sintético de VIH-1 grupo O encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. 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 Masa de reacción 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).

Tabla 2 **cobas**® MPX Control Kit

cobas® MPX Control Kit

Almacenar a 2-8 °C
(P/N 06997724190)

Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control positivo para VIH-2 de MPX (MPX 2 (+) C)	< 0,001 % de ARN (Armored) sintético de VIH-2 encapsulado en proteína recubierta de bacteriófago MS2, plasma humano normal, no reactivo según las pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR 0,1 % de conservante ProClin® 300**	4 ml (4 × 1 ml)	  **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. 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 Masa de reacción 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).

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

** Sustancia peligrosa.

Tabla 3 **cobas**® NHP Negative Control Kit

cobas® **NHP Negative Control Kit**

Almacenar a 2-8 °C
(P/N 07002220190)

Componentes del kit	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia*
Control negativo para plasma humano normal (NHP-NC)	Plasma humano normal, no reactivo según pruebas autorizadas para anticuerpos del VHC, anticuerpos del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc; ARN de VIH-1, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB no detectables mediante métodos de PCR < 0,1% de conservante ProClin® 300**	16 ml (16 × 1 ml)	  **ADVERTENCIA** H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel. P261: Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/ la niebla/los vapores/el aerosol. P272: Las prendas de trabajo contaminadas no podrán sacarse del lugar de trabajo. P280: Utilice guantes protectores. 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)

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

** Sustancia peligrosa.

Reactivos cobas omni para la preparación de muestras

Tabla 4 Reactivos **cobas omni** para la preparación de muestras*

Reactivos	Ingredientes del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia**
cobas omni MGP Reagent (MGP) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997546190)	Partículas de vidrio magnéticas, tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	480 pruebas	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent (SPEC DIL) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997511190)	Tampón Tris, 0,1% de metil-4 hidroxibenzoato, < 0,1% de azida sódica	4 × 875 ml	No aplicable
cobas omni Lysis Reagent (LYS) Almacenar a 2-8 °C (P/N: 06997538190)	42,56% (p/p) de tiocianato de guanidina***, 5% (p/v) de polidocanol***, 2% (p/v) de ditiotreitol, citrato de sodio dihidratado	4 × 875 ml	  **PELIGRO** H302 + H332: Nocivo en caso de ingestión o inhalación. H314: Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. 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: Evítese su liberación al medio ambiente. P280: Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección. P303 + P361 + P353: EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua. P304 + P340 + P310: EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. P305 + P351 + P338 + P310: EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico. 593-84-0 Tiocianato de guanidina 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutano-2,3-diol
cobas omni Wash Reagent (WASH) Almacenar a 15-30 °C (P/N: 06997503190)	Citrato de sodio dihidratado, 0,1% de metil-4-hidroxibenzoato	4,2 l	No aplicable

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

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

*** Sustancia peligrosa.

Requisitos de almacenamiento y manipulación

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

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

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

Reactivo	Temperatura de almacenamiento
cobas® MPX – 96	2-8 °C
cobas® MPX – 480	2-8 °C
cobas® MPX Control Kit	2-8 °C
cobas® NHP Negative Control Kit	2-8 °C
cobas omni Lysis Reagent	2-8 °C
cobas omni MGP Reagent	2-8 °C
cobas omni Specimen Diluent	2-8 °C
cobas omni Wash Reagent	15-30 °C

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

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

Reactivo	Fecha de caducidad del kit	Estabilidad del kit abierto	Series en las que se puede utilizar el kit	Período de estabilidad (horas acumuladas de carga fuera de la nevera)
cobas® MPX – 96	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 10 series	Máx. 8 horas
cobas® MPX – 480	No caducado	30 días desde el primer uso	Máx. 20 series	Máx. 20 horas
cobas® MPX Control Kit	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 8 horas
cobas® NHP Negative Control Kit	No caducado	No aplicable	No aplicable	Máx. 10 horas
cobas omni Lysis Reagent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni MGP Reagent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni Specimen Diluent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable
cobas omni Wash Reagent	No caducado	30 días desde la carga*	No aplicable	No aplicable

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

Material adicional necesario

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

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

Instrumentos y software necesarios

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

Tabla 8 Instrumentos

cobas® **6800/8800 Systems**	**P/N**
cobas® 6800 System (opción móvil)	05524245001 y 06379672001
cobas® 6800 System (fijo)	05524245001 y 06379664001
cobas® 8800 System	05412722001
Módulo de suministro de muestras	06301037001
Opciones de pipeteo y pooling	**P/N**
cobas p 680 instrument	06570577001
Llave del software **cobas**® **Synergy** (opcional)	07788339001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001

Consulte el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems y el Manual de usuario del **cobas p** 680 instrument o bien la Asistencia al usuario del software **cobas**® **Synergy** para obtener información adicional sobre los tubos primarios y secundarios compatibles con cada instrumento.

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

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

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

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Todas las muestras deben tratarse como si fueran infecciosas, utilizando los procedimientos de laboratorio recomendados descritos en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories y en el documento M29-A4 del CLSI.[37,38] Este procedimiento solamente debería llevarlo a cabo personal experto en la manipulación de material biopeligroso y en el uso de la prueba **cobas**® MPX, los **cobas**® 6800/8800 Systems y, opcionalmente, el **cobas p** 680 instrument o el pipeteador Hamilton MICROLAB® STAR IVD con el **cobas**® **Synergy** Core.
- Todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos y manipularse teniendo en cuenta las precauciones generales. En caso de que se produzca un derrame, desinfecte de inmediato con una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10) o siga los procedimientos apropiados del laboratorio.
- El **cobas**® MPX Control Kit y el **cobas**® NHP Negative Control Kit contienen plasma procedente de sangre humana. Se ha analizado el material original mediante las pruebas para anticuerpos autorizadas y no se ha considerado reactivo para la presencia de anticuerpos del VHC, del VIH-1/2, HBsAg y anticuerpos anti-HBc. En el análisis del plasma humano normal con métodos de PCR no se ha detectado ARN de HIV-1 (grupos M y O), ARN de HIV-2, ARN de HCV y ADN de HBV. Ningún método de prueba conocido puede garantizar totalmente que un producto derivado de la sangre humana no transmita agentes infecciosos.
- No congele la sangre total.
- Se recomienda la utilización de pipetas estériles desechables y puntas de pipetas sin nucleasa. Utilice solo el material fungible suministrado o que se requiera expresamente para garantizar el óptimo rendimiento de la prueba.
- Siga al pie de la letra los procedimientos y las directrices que se suministran para garantizar la correcta realización de la prueba. Cualquier variación de dichos procedimientos y directrices podría afectar al rendimiento óptimo de la prueba.
- Podrían producirse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante la manipulación y el procesamiento de las mismas.

Manipulación de reactivos

- Manipule todos los reactivos, controles y muestras de acuerdo con las prácticas de laboratorio recomendadas para evitar la contaminación por arrastre de las muestras o los controles.
- Antes de utilizarlos, revise cada casete de reactivo, diluyente, reactivo de lisis y reactivo de lavado para asegurarse de que no hay signos de fugas. No utilice el material si hay alguna evidencia de fuga.
- El **cobas omni** Lysis Reagent contiene tiocianato de guanidina, una sustancia química potencialmente peligrosa. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras.
- Los kits de la prueba **cobas**® MPX, el **cobas omni** MGP Reagent y el **cobas omni** Specimen Diluent contienen azida sódica como conservante. Evite el contacto de reactivos con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua para evitar quemaduras. Si se producen salpicaduras de reactivos, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- No permita que el **cobas omni** Lysis Reagent, que contiene tiocianato de guanidina, entre en contacto con la solución de hipoclorito de sodio (lejía). Tales mezclas pueden producir gases de alta toxicidad.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- Elimine todos los materiales que hayan estado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la reglamentación nacional, estatal y local.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Utilice guantes, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Es necesario cambiarse los guantes entre la manipulación de las muestras y de los kits de la prueba **cobas**® MPX y los reactivos **cobas omni** para evitar la contaminación. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles.
- Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit, y cuando se saque los guantes.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida a 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70%.
- Si se produce algún derrame sobre el **cobas**® 6800/8800 instrument, siga las instrucciones descritas en el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems para limpiar y descontaminar correctamente la superficie de los instrumentos.

Recogida, transporte, almacenamiento y pooling de muestras

Nota: manipule todas las muestras y los controles como si pudieran transmitir agentes infecciosos.
Almacene todas las muestras de donantes a las temperaturas especificadas.
La estabilidad de las muestras se ve afectada por las temperaturas elevadas.

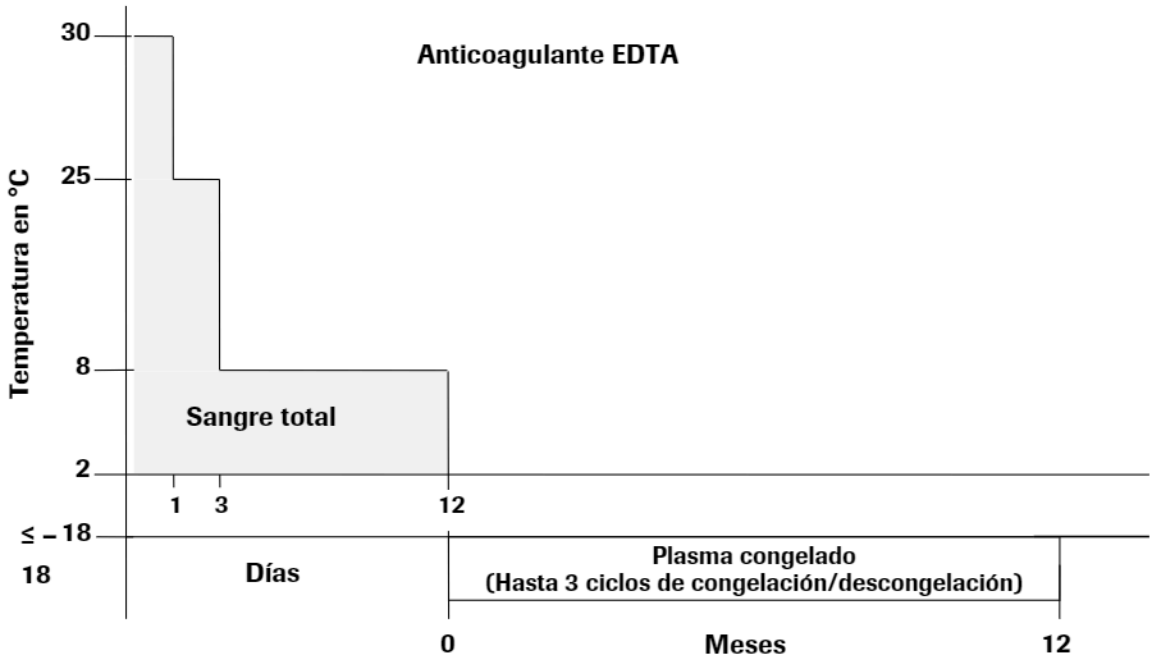
- Se recomienda analizar las muestras de suero dentro de las 8 horas siguientes a la centrifugación a 1.600 × g durante 20 minutos o dentro de las 24 horas siguientes a la centrifugación a alta velocidad (p. ej., 2.600 × g durante 20 minutos).

Muestras de sangre de donantes vivos

- Puede utilizarse plasma recogido en anticoagulante EDTA, CPD, CPDA1, CP2D y citrato de sodio al 4% y suero recogido en tubos para coágulos de suero para la prueba **cobas**® MPX. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos/las bolsas de recogida de muestras para conocer los procesos de manipulación y centrifugación.
- La sangre recogida en anticoagulante EDTA puede almacenarse hasta 12 días en las siguientes condiciones:
    - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el plasma separado de las células se puede almacenar hasta 12 meses a una temperatura de ≤ –18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 1.

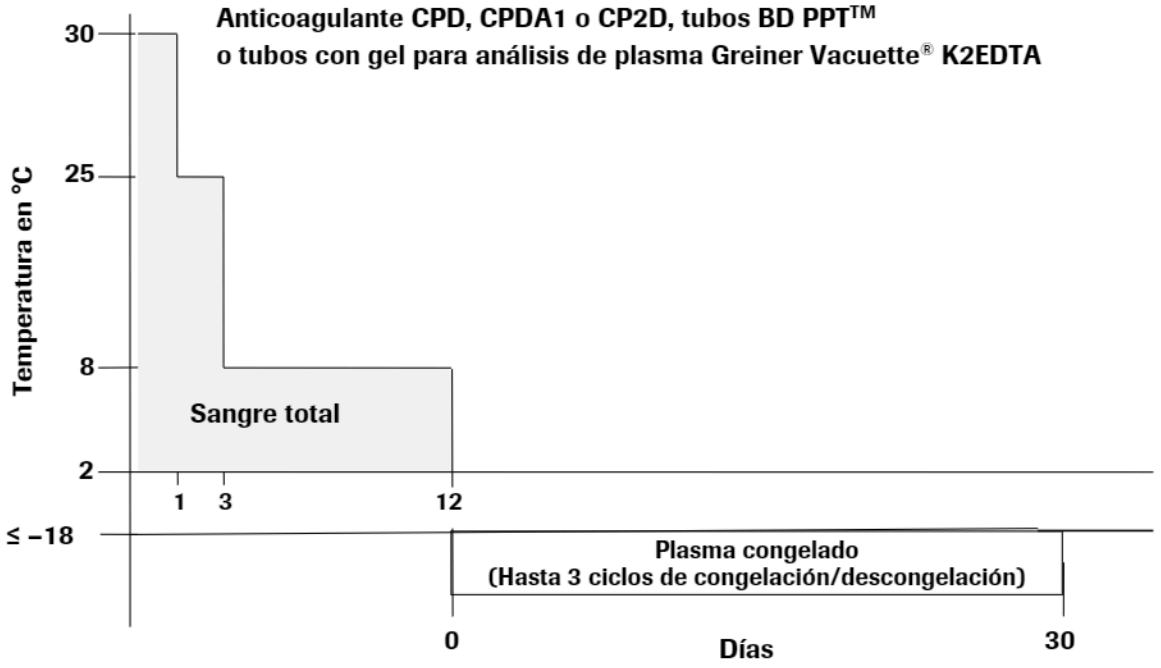
Ilustración 1 Condiciones de almacenamiento de muestras de donantes vivos conservadas en anticoagulante EDTA



- La sangre recogida en anticoagulante CPD, CPDA1 o CP2D, los tubos para preparación de plasma con EDTA Becton-Dickinson (BD PPT™) o los tubos con gel para análisis de plasma Greiner Vacuette® K2EDTA pueden almacenarse durante un máximo de 12 días en las condiciones siguientes:
    - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

  En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el plasma separado de las células se puede almacenar hasta 30 días a una temperatura ≤ –18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación. Consulte la Ilustración 2.

Ilustración 2 Condiciones de almacenamiento de muestras de donantes vivos



- La sangre recogida en tubos para coágulos de suero se puede almacenar hasta 7 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
    - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

  En casos distintos a los anteriores, las muestras se almacenan a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Asimismo, el suero separado de las células se puede almacenar hasta 30 días a una temperatura ≤ –18 °C con tres ciclos de congelación/descongelación.

- El plasma obtenido en citrato de sodio al 4% puede almacenarse hasta 30 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

  Asimismo, el plasma obtenido en anticoagulante de citrato de sodio al 4% puede almacenarse hasta 12 meses a una temperatura de ≤ –18 °C con hasta dos ciclos de congelación/descongelación, o
- El plasma obtenido en anticoagulante de citrato de sodio al 4% puede almacenarse hasta 18 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a una temperatura máxima de 25 °C y hasta los 30 °C durante 24 de las 72 horas.

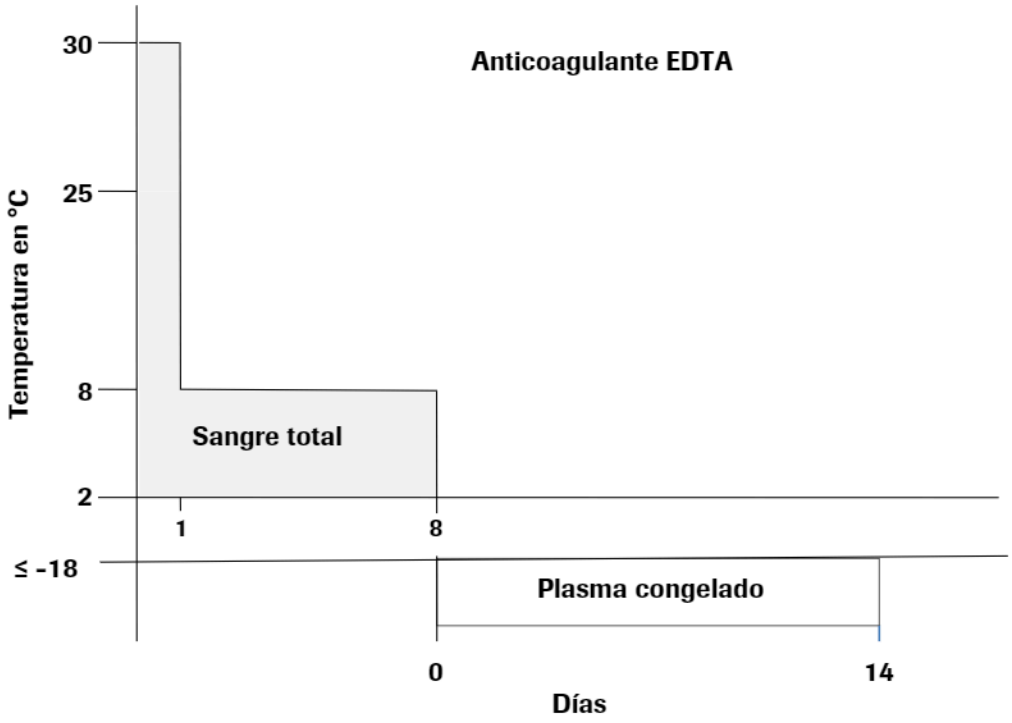
  Asimismo, el plasma obtenido en anticoagulante de citrato de sodio al 4% puede almacenarse hasta 12 meses a una temperatura de ≤ –18 °C con hasta tres ciclos de congelación/descongelación.

Muestras de sangre cadavéricas

- Las muestras de sangre cadavéricas recogidas en tubos con anticoagulante EDTA y/o en tubos para coágulos de suero pueden utilizarse con la prueba **cobas**® MPX. Siga las instrucciones del fabricante de los tubos/las bolsas de recogida de muestras para conocer los procesos de manipulación y centrifugación.
- La sangre cadavérica recogida en anticoagulante EDTA puede almacenarse hasta 8 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
    - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse a una temperatura máxima de 30 °C durante 24 de las 72 horas.

  En casos distintos a los anteriores, el plasma cadavérico conservado en EDTA separado de las células puede almacenarse hasta 14 días a una temperatura ≤–18 °C. Consulte la Ilustración 3.

Ilustración 3 Condiciones de almacenamiento de muestras cadavéricas



- Las muestras de sangre cadavéricas en tubos para coágulos de suero se pueden almacenar hasta 5 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C en las siguientes condiciones:
    - Las muestras deben centrifugarse en el plazo de 72 horas desde el momento de la extracción.
    - Para un almacenamiento superior a 8 °C, las muestras pueden almacenarse durante 24 horas a una temperatura máxima de 30 °C durante las 72 horas.

- Si las muestras de donantes vivos y/o cadavéricos se van a transportar, es recomendable empaquetarlas y etiquetarlas de acuerdo con la reglamentación estatal y/o internacional relativa al transporte de muestras y agentes etiológicos.

Instrucciones de uso

Pipeteo y pooling de muestras automatizado (opcional)

Tanto el **cobas p** 680 instrument como el **cobas**® **Synergy** Core se pueden utilizar como componente opcional de los **cobas**® 6800/8800 Systems para el pipeteo y el pooling automatizados de alícuotas de varias muestras primarias en un pool de muestras.

Si desea obtener más información, consulte el Manual de usuario del **cobas p** 680 instrument o la Asistencia al usuario del software **cobas**® **Synergy**.

Notas sobre el procedimiento

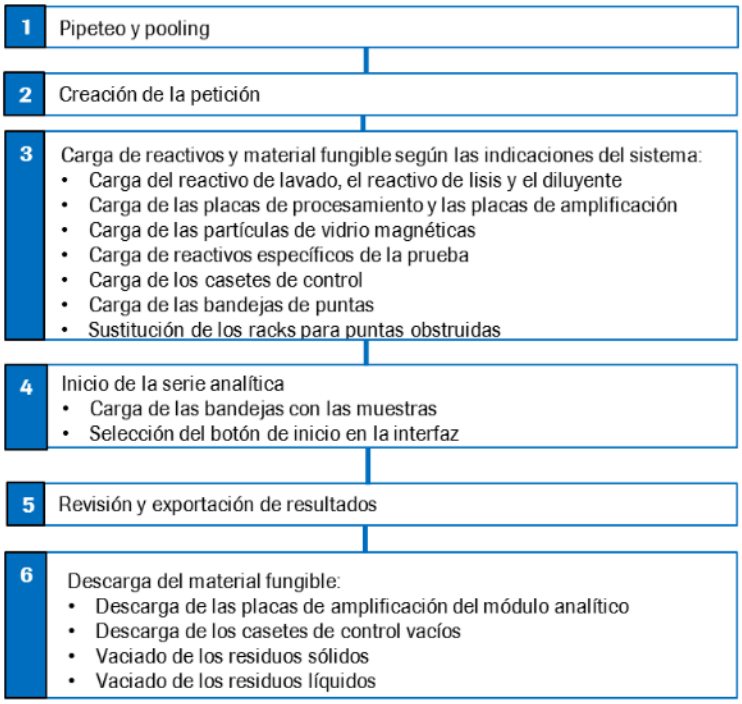
- No utilice los reactivos de la prueba **cobas**® MPX, el **cobas**® MPX Control Kit, el **cobas**® NHP Negative Control Kit o los reactivos **cobas omni** después de la fecha de caducidad.
- No reutilice el material fungible. Es de un solo uso.
- Consulte el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800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

Realización de la prueba cobas® MPX

El procedimiento de la prueba se describe con detalle en el Manual de usuario de los **cobas**® 6800/8800 Systems; consulte el Manual de usuario del **cobas p** 680 instrument o la Asistencia al usuario del software **cobas**® **Synergy** según corresponda para obtener información detallada sobre los procedimientos de pooling opcionales.

En la Ilustración 4 se resume el procedimiento.

Ilustración 4 Procedimiento de la prueba **cobas**® MPX



Resultados

Los **cobas**® 6800/8800 Systems detectan y diferencian automáticamente el ARN del VIH, el ARN del VHC y el ADN del VHB de forma simultánea para muestras y controles.

Control de calidad y validez de los resultados

- Con cada serie se procesa un control negativo [(–) C] y tres controles positivos [MPX M (+) C, MPX O (+) C y MPX 2 (+) C].
- Compruebe los avisos y los resultados asociados tanto en el software **cobas**® 6800/8800 como en el informe para garantizar la validez de la serie.
- La serie se considera válida cuando no hay avisos para ninguno de los cuatro controles.

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

Avisos de controles

Tabla 9 Avisos de controles para los controles negativo y positivo

Control negativo	Aviso	Resultado	Interpretación
(–) C	Q02	No válido	Toda la serie se considera inválida si el resultado del (–) C no es válido.
Control positivo	**Aviso**	**Resultado**	**Interpretación**
MPX M (+) C	Q02	No válido	Toda la serie se considera no válida si el resultado del MPX M (+) C es inválido.
MPX O (+) C	Q02	No válido	Toda la serie se considera no válida si el resultado del MPX O (+) C es inválido.
MPX 2 (+) C	Q02	No válido	Toda la serie se considera no válida si el resultado del MPX 2 (+) C es inválido.

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

Interpretación de los resultados

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

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

Para cada muestra se miden simultáneamente cuatro parámetros: el VIH, el VHC, el VHB y el control interno. El software informa de los resultados finales de las muestras obtenidos con la prueba **cobas**® MPX. Además de los resultados globales, el software **cobas**® 6800/8800 también muestra los resultados individuales para cada fragmento objetivo, que deberían interpretarse como se indica a continuación:

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

Resultados de fragmento objetivo	Interpretación
No reactivo para VIH	No se ha detectado ninguna señal del fragmento objetivo para el VIH y se ha detectado señal del CI.
Reactivo para VIH	Se ha detectado señal del fragmento objetivo para el VIH y la señal del CI puede detectarse o no.
No reactivo para VHC	No se ha detectado ninguna señal del fragmento objetivo para el VHC y se ha detectado señal del CI.
Reactivo para VHC	Se ha detectado señal del fragmento objetivo para el VHC y la señal del CI puede detectarse o no.
No reactivo para VHB	No se ha detectado ninguna señal del fragmento objetivo para el VHB y se ha detectado señal del CI.
Reactivo para VHB	Se ha detectado señal del fragmento objetivo para el VHB y la señal del CI puede detectarse o no.
No válido	No se ha detectado señal del fragmento objetivo ni del control interno.

Repetición de pruebas de muestras individuales

Es necesario repetir las pruebas para los tubos de muestra cuyo resultado final no es válido para uno de los fragmentos objetivo, independientemente de los resultados finales del resto de los fragmentos objetivo.

Limitaciones del procedimiento

- La prueba **cobas**® MPX se ha evaluado para ser utilizada únicamente en combinación con el **cobas**® MPX Control Kit, el **cobas**® NHP Negative Control Kit, el **cobas omni** MGP Reagent, el **cobas omni** Lysis Reagent, el **cobas omni** Specimen Diluent y el **cobas omni** Wash Reagent y exclusivamente en los **cobas**® 6800/8800 Systems.
- La obtención de resultados fiables depende de que los procedimientos de recogida, almacenamiento y manipulación de muestras sean adecuados.
- No utilice plasma heparinizado con esta prueba porque se ha demostrado que la heparina inhibe la PCR.
- La detección de ARN del VIH-1 grupo M, ARN del VIH-1 grupo O, ARN de VIH-2, ARN de VHC y ADN de VHB depende del número de partículas víricas presentes en la muestra y se puede ver influida por la recogida, el almacenamiento y la manipulación de las muestras, circunstancias del paciente (tales como edad, presencia de síntomas, etc.) y/o la fase de infección y el tamaño del pool.
- Aunque es poco probable, las mutaciones en regiones muy conservadas de un genoma vírico cubiertas por la prueba **cobas**® MPX pueden afectar la unión de cebadores y/o sondas y causar errores en la detección de la presencia del virus.
- Debido a las diferencias específicas entre tecnologías, se recomienda a los usuarios que realicen estudios de correlación en el laboratorio para determinar las diferencias tecnológicas antes de cambiar de una a otra. Los usuarios deberán adherirse a las políticas y los procedimientos específicos.

Evaluación no clínica del rendimiento

Características clave de rendimiento

Muestras de donantes vivos

Límite de detección (LoD)

Estándares internacionales de la OMS/Estándares primarios de Roche

Los límites de detección (LoD) de la prueba **cobas**® MPX para el ARN del VIH-1 grupo M, el ARN del VIH-1 grupo O, el ARN del VIH-2, el ARN del VHC y el ADN del VHB se han determinado a partir de los siguientes estándares:

- Tercer estándar internacional de la OMS para el ARN del VIH-1 grupo M (código NIBSC 10/152)
- Estándar internacional de la OMS para el ARN del VIH-2 (código NIBSC 08/150)[39]
- Estándares primarios de Roche para el ARN del VIH-1 grupo O
- Segundo estándar internacional de la OMS para el ARN del VHC (código NIBSC 96/798)
- Tercer estándar internacional de la OMS para el ADN del VHB (NIBSC 10/264)

Actualmente no hay ningún estándar internacional disponible para el ARN del VIH-1 grupo O. El estándar de Roche para el ARN del VIH-1 grupo O puede encontrarse en el Lote 01 del panel de referencia 1 del ARN para el subtipo VIH-1 de CBER. Los estándares primarios de Roche para el ARN del VIH-1 grupo O son cultivos de virus conocidos comercializados, P/N 2420 (n.º de catálogo 500493, SeraCare Life Sciences).

Para los estándares internacionales de la OMS para VIH-1 grupo M, VHC y VHB, VIH-2 y los estándares primarios de Roche para VIH-1 grupo O, se prepararon 3 series de diluciones independientes con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC) para cada estándar vírico coformulado de los miembros VIH-1 grupo M, VHC, VHB y de los miembros formulados individualmente VIH-1 grupo O y VIH-2. Cada serie de dilución se analizó con 3 lotes distintos de kits de la prueba **cobas**® MPX, con unas 63 réplicas por lote, lo que supone un total aproximado de 189 réplicas por concentración. Para el estándar internacional de la OMS para el VIH-2, se analizaron 33 réplicas por lote de 3 diluciones independientes y 3 lotes de reactivos, lo que constituye un total de 99 réplicas por concentración. Para estimar el límite de detección (LoD) de cada virus se utilizó el análisis PROBIT 95% (Tabla 11) y PROBIT 50% (Tabla 12) con los datos combinados de series de dilución y lotes de reactivos, junto con el límite inferior y superior de los intervalos de confianza del 95%. En la Tabla 13 a la Tabla 17 se resumen las tasas de reactividad observadas en los estudios de LoD para cada virus.

Tabla 11 Resultados del análisis PROBIT 95% con datos del LoD obtenidos para los estándares víricos en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Analito	Unidades de medición	LoD	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
Plasma conservado en EDTA	VIH-1 grupo M	UI/ml	25,7	21,1	32,8
	VIH-1 grupo O	copias/ml	8,2	7,0	10,0
	VIH-2	UI/ml	4,0	3,3	5,2
	VHC	UI/ml	7,0	5,9	8,6
	VHB	UI/ml	1,4	1,2	1,7
Suero	VIH-1 grupo M	UI/ml	23,7	20,0	29,1
	VIH-1 grupo O	copias/ml	12,2	10,3	14,9
	VIH-2	UI/ml	4,4	3,5	5,8
	VHC	UI/ml	8,1	6,8	10,1
	VHB	UI/ml	1,3	1,1	1,5

Tabla 12 Resultados del análisis PROBIT 50% con datos del LoD obtenidos para los estándares víricos en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Analito	Unidades de medición	LoD	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
Plasma conservado en EDTA	VIH-1 grupo M	UI/ml	3,8	3,4	4,3
	VIH-1 grupo O	copias/ml	1,7	1,5	1,9
	VIH-2	UI/ml	0,9	0,8	1,1
	VHC	UI/ml	1,3	1,1	1,4
	VHB	UI/ml	0,3	0,3	0,3
Suero	VIH-1 grupo M	UI/ml	4,6	4,1	5,1
	VIH-1 grupo O	copias/ml	2,5	2,2	2,7
	VIH-2	UI/ml	0,9	0,8	1,1
	VHC	UI/ml	1,4	1,3	1,6
	VHB	UI/ml	0,3	0,3	0,3

Tabla 13 Resumen de las tasas de reactividad para VIH-1 grupo M en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Concentración de ARN del VIH-1 grupo M (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
Plasma conservado en EDTA	30	186	188	98,9%	96,7%
	15	170	189	89,9%	85,6%
	7,5	124	189	65,6%	59,5%
	4,5	96	189	50,8%	44,6%
	1,5	50	189	26,5%	21,2%
Suero	30	186	189	98,4%	95,9%
	15	170	189	89,9%	85,6%
	7,5	123	189	65,1%	59,0%
	4,5	85	189	45,0%	38,8%
	1,5	31	189	16,4%	12,1%

Tabla 14 Resumen de las tasas de reactividad para VIH-1 grupo O en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Concentración de ARN de VIH-1 grupo O (copias/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
Plasma conservado en EDTA	18	187	187	100,0%	98,4%
	9	181	187	96,8%	93,8%
	4,5	162	189	85,7%	80,8%
	2,7	117	189	61,9%	55,7%
	0,9	57	189	30,2%	24,7%
Suero	18	186	187	99,5%	97,5%
	9	173	188	92,0%	88,0%
	4,5	142	189	75,1%	69,4%
	2,7	79	189	41,8%	35,8%
	0,9	39	189	20,6%	15,9%

Tabla 15 Resumen de las tasas de reactividad para VIH-2 en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Concentración de ARN de VIH-2 (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
Plasma conservado en EDTA	10	98	98	100,0%	97,0%
	5	98	99	99,0%	95,3%
	2,5	80	98	81,6%	74,0%
	1,5	71	99	71,7%	63,3%
	0,5	26	99	26,3%	19,1%
Suero	10	98	98	100,0%	97,0%
	5	98	99	99,0%	95,3%
	2,5	81	99	81,8%	74,2%
	1,5	63	98	64,3%	55,6%
	0,5	28	98	28,6%	21,1%

Tabla 16 Resumen de las tasas de reactividad para VHC en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Concentración de ARN de VHC (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
Plasma conservado en EDTA	12	187	188	99,5%	97,5%
	6	178	189	94,2%	90,6%
	3	148	189	78,3%	72,8%
	1,8	112	189	59,3%	53,0%
	0,6	50	189	26,5%	21,2%
Suero	12	186	189	98,4%	95,9%
	6	173	189	91,5%	87,4%
	3	139	189	73,5%	67,7%
	1,8	112	189	59,3%	53,0%
	0,6	41	189	21,7%	16,9%

Tabla 17 Resumen de las tasas de reactividad para el VHB en suero y plasma conservado en EDTA

Matrices	Concentración de ADN de VHB (UI/ml)	Número de reactivos	Número de réplicas válidas	% de reactividad	Límite inferior de confianza (unilateral) del 95%
Plasma conservado en EDTA	3,40	188	188	100,0%	98,4%
	1,70	184	189	97,4%	94,5%
	0,85	165	189	87,3%	82,6%
	0,51	126	189	66,7%	60,6%
	0,17	58	189	30,7%	25,2%
Suero	3,40	189	189	100,0%	98,4%
	1,70	184	189	97,4%	94,5%
	0,85	166	189	87,8%	83,2%
	0,51	140	189	74,1%	68,3%
	0,17	52	189	27,5%	22,2%

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba **cobas**® MPX en los **cobas**® 6800/8800 Systems se ha determinado a partir de los estándares siguientes:

- Estándares secundarios de Roche para el VIH-1 grupo M, el VHC y el VHB
- Estándares primarios de Roche para el VIH-1 grupo O y el VIH-2

Este estudio se basó en el análisis de 3 paneles de miembros coformulados del VIH-1 grupo M, el VHC y el VHB, y miembros formulados individualmente del VIH-1 grupo O y el VIH-2 en concentraciones de aproximadamente 0,5 ×, 1 × y 2 × el LoD de la prueba **cobas**® MPX para cada virus. Las pruebas se han realizado para determinar los siguientes componentes de variabilidad:

- Variabilidad entre días durante 3 días
- Variabilidad entre lotes con 3 lotes de reactivos diferentes de la prueba **cobas**® MPX
- Variabilidad entre instrumentos con 3 **cobas**® 8800 Systems diferentes

Se analizaron aproximadamente 21 réplicas con cada uno de los 3 paneles, lo que supone un total de 63 réplicas con cada lote de reactivos. Todos los datos de reproducibilidad válidos se evaluaron calculando el porcentaje de resultados reactivos para cada nivel de concentración en todos los componentes variables.

Se calcularon los límites de los intervalos de confianza del 95% bilaterales de cada tasa de reactividad para cada uno de los tres niveles de VIH-1 grupo M, VIH-1 grupo O, VIH-2, VHC y VHB analizados durante 3 días, con 3 lotes de reactivos y 3 **cobas**® 8800 Systems distintos. La prueba **cobas**® MPX ofrece reproducibilidad durante varios días, en varios lotes de reactivos y en diferentes equipos. En la Tabla 18 se resumen los resultados de la variabilidad entre lotes.

Tabla 18 Resumen de la reproducibilidad entre lotes de reactivos de la prueba **cobas**® MPX

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
VIH-1 grupo M	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	0,5 × LoD	1	85,7% (54/63)	74,6%	93,3%
		2	95,2% (60/63)	86,7%	99,0%
		3	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
VIH-1 grupo O	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	92,1% (58/63)	82,4%	97,4%
		2	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
	0,5 × LoD	1	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
		2	76,2% (48/63)	63,8%	86,0%
		3	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%

Analito	Concentración	Lote de reactivos	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%
VIH-2	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	1 × LoD	1	82,5% (52/63)	70,9%	90,9%
		2	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
		3	87,3% (55/63)	76,5%	94,4%
	0,5 × LoD	1	74,6% (47/63)	62,1%	84,7%
		2	71,4% (45/63)	58,7%	82,1%
		3	73,0% (46/63)	60,3%	83,4%
VHC	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
	0,5 × LoD	1	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%
		2	98,4% (62/63)	91,5%	100,0%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
VHB	2 × LoD	1	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		2	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
		3	100,0% (63/63)	94,3%	100,0%
	1 × LoD	1	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		2	90,5% (57/63)	80,4%	96,4%
		3	93,7% (59/63)	84,5%	98,2%
	0,5 × LoD	1	84,1% (53/63)	72,7%	92,1%
		2	76,2% (48/63)	63,8%	86,0%
		3	77,8% (49/63)	65,5%	87,3%

Verificación del genotipo

El rendimiento de la prueba **cobas**® MPX para la detección de los subtipos del VIH-1 grupo M (A-H, J, K, BF, BG) y las formas recombinantes circulantes (CRF01_AE y CRF02_AG), el VIH-1 grupo O, el VIH-1 grupo N y los subtipos del VIH-2 (A y B), los genotipos del VHC (1-6) y los genotipos del VHB (A-H y mutación pre-core) se ha determinado mediante el análisis de muestras clínicas exclusivas y/o cultivos aislados de cada subtipo o genotipo que se especifican de la Tabla 19 a la Tabla 23.

VIH-1 grupo M

Se cuantificaron un total de 115 muestras clínicas exclusivas del VIH-1 grupo M con subtipo conocido de VIH-1 para determinar su concentración de VIH-1 mediante la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1, v2.0. Las 115 muestras se analizaron tras la dilución con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC) añadido a una concentración de 5 × LoD de la prueba **cobas**® MPX. Del total de muestras, 102 se analizaron también sin diluir. Las 115 muestras clínicas con subtipos conocidos se detectaron sin diluir y/o con una concentración de 5 × LoD (Tabla 19).

Tabla 19 Muestras clínicas del VIH-1 grupo M

Subtipo	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) sin diluir	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a 5 × LoD
A	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
CRF01_AE	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
CRF02_AG	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
B	100,0% (11/11)	100,0% (11/11)
C	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
D	100,0% (11/11)	100,0% (11/11)
F	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
G	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
H	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
BF	No analizado*	100% (3/3)
BG	No analizado*	100% (4/4)
J	No analizado*	100% (2/2)
K	No analizado*	100% (4/4)

* Volumen insuficiente para el análisis sin dilución

VIH-1 grupo O y VIH-1 grupo N

Se analizaron un total de 7 aislados en cultivo del VIH-1 grupo O y 2 del VIH-1 grupo N tras la preparación de diluciones logarítmicas en plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC). Para los aislados del VIH-1 grupo O, se analizaron un total de 28 réplicas en 7 aislados con 4 réplicas de cada dilución. Para los aislados del VIH-1 grupo N, se analizaron dos aislados. Se analizaron un total de 4 réplicas para un aislado con una dilución de 1:1,00E+02 a 1:1,00E+03 y 1 réplica para el segundo aislado con una dilución de 1:1,00E+04. Se detectaron aislados en cultivo del VIH-1 grupo O en diluciones de hasta 1:1,00E+07, mientras que los aislados en cultivo del grupo N se detectaron en diluciones de hasta 1:1,00E+04 (Tabla 20).

Tabla 20 Aislados en cultivo del VIH-1 grupo O y el VIH-1 grupo N

Dilución de muestras	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	
	VIH-1 grupo O	VIH-1 grupo N
1:1,00E+02	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1,00E+03	100,0% (28/28)	100,0% (4/4)
1:1,00E+04	89,3% (25/28)	20% (1/5)
1:1,00E+05	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1,00E+06	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)
1:1,00E+07	71,4% (20/28)	0,0% (0/4)

VIH-2

Se analizaron un total de 5 aislados en cultivo del VIH-2 subtipo A (4) y B (1) tras la preparación de diluciones logarítmicas en plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC). Para el subtipo A, se analizaron un total de 16 réplicas en 4 aislados para cada dilución. Para un aislado del subtipo B, se analizaron un total de 4 réplicas para cada dilución. También se analizaron un total de 11 muestras clínicas del VIH-2 subtipo A (5) y B (6) tras la preparación de diluciones logarítmicas en plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus. Para el subtipo A, se analizaron un total de 20 réplicas en 5 muestras clínicas y, para el subtipo B, un total de 24 réplicas en 6 muestras clínicas con 4 réplicas para cada dilución. La prueba **cobas**® MPX detectó todos los aislados en cultivo. La prueba **cobas**® MPX detectó muestras clínicas en diluciones de hasta 1:1,00E+03 para los subtipos A y B. Los resultados generales se resumen en la Tabla 21.

Tabla 21 Muestras clínicas y aislados en cultivo del VIH-2

Dilución de muestras	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)			
	Aislado en cultivo		Muestra clínica	
	Subtipo A	Subtipo B	Subtipo A	Subtipo B
1:1,00E+02	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	100,0% (20/20)	100,0% (24/24)
1:1,00E+03	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	65,0% (13/20)	50,0% (12/24)
1:1,00E+04	100,0% (15/15)	100,0% (4/4)	25,0% (5/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+05	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	5,0% (1/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+06	100,0% (16/16)	100,0% (4/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)
1:1,00E+07	81,2% (13/16)	0% (0/4)	0,0% (0/20)	0,0% (0/24)

VHC

Se cuantificaron un total de 96 muestras clínicas exclusivas del VHC con genotipo conocido del VHC para determinar su concentración de VHC mediante la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HCV, v2.0. Las 96 muestras clínicas del VHC con genotipos conocidos se analizaron tras la dilución con plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC) añadido a una concentración de 5 x LoD de la prueba **cobas**® MPX. De ellas, 95 muestras también se analizaron sin diluir. Todas las muestras se analizaron en una sola réplica. Las 96 muestras clínicas positivas para el VHC se detectaron sin diluir y/o diluidas, tal como se resume en la Tabla 22.

Tabla 22 Muestras clínicas del VHC

Genotipo	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) sin diluir	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a 5 × LoD
1a	100,0% (9/9)	100,0% (9/9)
1b	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
1	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
2b	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
2	100,0% (13/13)	100,0% (13/13)
3a	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
3	100,0% (1/1)	100,0% (1/1)
4	100,0% (13/13)	100,0% (13/13)
5a	100,0% (10/10)	100,0% (10/10)
5	100,0% (2/2)	100,0% (2/2)
6	100,0% (10/10)	100,0% (11/11)

VHB

Se cuantificaron un total de 94 muestras clínicas exclusivas del VHB con genotipo conocido del VHB y mutaciones pre-core para determinar su concentración de VHB mediante la prueba COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HBV. Las 94 muestras clínicas del VHB con genotipos conocidos se analizaron sin diluir y/o diluidas con plasma normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC) añadido a una concentración de 5 × LoD de la prueba **cobas**® MPX. Todas las muestras se analizaron con una sola réplica. Las 94 muestras clínicas positivas para el VHB se detectaron sin diluir y/o diluidas, tal como se resume en la Tabla 23.

Tabla 23 Muestras clínicas del VHB

Genotipo	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) sin diluir	% de reactividad (muestras reactivas/analizadas) diluidas a 5 × LoD
A	100,0% (15/15)	100,0% (15/15)
B	100,0% (12/12)	100,0% (11/11)
C	100,0% (10/10)	100,0% (9/9)
D	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
E	100,0% (12/12)	100,0% (11/11)
F	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)
G	No analizado*	100% (1/1)
H	100,0% (8/8)	100,0% (8/8)
Mutación pre-core	100,0% (12/12)	100,0% (12/12)

* Volumen insuficiente para el análisis sin dilución

Paneles de seroconversión

El rendimiento de la prueba **cobas**® MPX se evaluó mediante paneles de seroconversión comercializados para VIH-1 grupo M, VHC y VHB. Se compararon los resultados de la prueba **cobas**® MPX con los resultados para los mismos paneles analizados con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX autorizada por la FDA en el sistema **cobas s** 201. También se compararon los resultados de cada fragmento objetivo obtenidos con la prueba **cobas**® MPX y con las pruebas serológicas con certificación CE-IVD y aprobadas por la FDA.

Paneles de seroconversión para VIH-1 grupo M

Se utilizaron diez paneles de seroconversión comercializados. Cada miembro del panel se analizó sin diluir y con una dilución de 1:6 y 1:96 para simular el análisis de pooles con las pruebas **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX. Se compararon los resultados obtenidos en la prueba **cobas**® MPX con los resultados obtenidos en la prueba **cobas**® TaqScreen MPX y con los resultados de las pruebas serológicas del VIH con certificación CE-IVD y autorizadas por la FDA analizadas sin diluir. En la Tabla 24 se muestran los resultados de rendimiento generales.

Tabla 24 Rendimiento de la prueba **cobas**® MPX en los paneles de seroconversión del VIH

Paneles de seroconversión del VIH	Días previos a la detección de anticuerpos/antígenos del VIH o ARN del VIH								
	Abbott ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo: sin diluir			Abbott PRISM HIV Ag/Ab Combo: sin diluir			Prueba cobas® TaqScreen MPX: sin diluir, 1:6, 1:96		
	Días previos a la detección con la prueba cobas® MPX								
	Sin diluir	1:6	1:96	Sin diluir	1:6	1:96	Sin diluir	1:6	1:96
1	3	3	3	3	3	3	0	0	0
2	7	2	2	12	7	7	5	0	0
3	7	5	5	7	5	5	2	0	0
4	15	15	8	15	15	8	0	0	0
5	7	7	7	7	7	7	0	0	2
6	10	3	3	10	3	3	2	0	0
7	9	9	7	9	9	7	0	0	0
8	11	11	9	11	11	9	0	0	0
9	2	2	2	2	2	2	0	0	0
10	7	7	7	7	7	7	0	0	2
Mínimo	2	2	2	2	2	2	0	0	0
Medio	7,8	6,4	5,3	8,3	6,9	5,8	0,9	0	0,4
Máximo	15	15	15	15	15	9	5	0	2

Paneles de seroconversión del VHC

Se utilizaron diez paneles de seroconversión comercializados. Cada miembro del panel se analizó sin diluir y con una dilución de 1:6 y 1:96 para simular el análisis con pooles de las pruebas **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX. Se compararon los resultados obtenidos en la prueba **cobas**® MPX con los resultados obtenidos en la prueba **cobas**® TaqScreen MPX y con los resultados de las pruebas serológicas del VHC con certificación CE-IVD y autorizadas por la FDA analizadas sin diluir. En la Tabla 25 se muestran los resultados de rendimiento generales.

Tabla 25 Rendimiento de la prueba **cobas**® MPX en los paneles de seroconversión del VHC

Paneles de seroconversión del VHC	Días previos a la detección de anticuerpos/antígenos del VHC o ARN del VHC								
	Sistema de pruebas ORTHO HCV ELISA versión 3.0: sin diluir			Abbott PRISM HCV: sin diluir			Prueba cobas® TaqScreen MPX: sin diluir, 1:6, 1:96		
	Días previos a la detección con la prueba cobas® MPX								
	Sin diluir	1:6	1:96	Sin diluir	1:6	1:96	Sin diluir	1:6	1:96
1	13	13	13	13	13	13	0	0	0
2	23	23	23	23	23	23	0	0	0
3	33	33	33	33	33	33	–6	0	0
4	32	32	32	32	32	32	0	0	0
5	38	38	38	38	38	38	–24**	0	0
6	34	34	34	34	34	34	0	0	0
7*	11	11	11	11	11	11	0	0	0
8	65	65	65	65	65	65	0	0	0
9*	13	13	13	16	16	16	0	0	0
10*	21	21	21	21	21	21	0	0	0
Mínimo	13	13	13	13	13	13	–24	0	0
Media con exclusiones*	34	34	34	34	34	34	–3	0	0
Máximo	65	65	65	65	65	65	0	0	0

* Los paneles con resultados reactivos repetidos con la prueba **cobas**® MPX ya en la primera extracción de sangre se excluyeron del resumen de cálculos para el número mínimo, medio y máximo de días previos a la detección de anticuerpos del VHC.

** Intervalo de 24 días entre extracciones.

Paneles de seroconversión del VHB

Se utilizaron diez paneles de seroconversión comercializados. Cada miembro del panel se analizó sin diluir y con una dilución de 1:6 y 1:96 para simular el análisis con pooles de las pruebas **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX. Se compararon los resultados obtenidos en la prueba **cobas**® MPX con los resultados obtenidos en la prueba **cobas**® TaqScreen MPX y con los resultados de las pruebas serológicas del VHB con certificación CE-IVD y autorizadas por la FDA analizadas sin diluir. En la Tabla 26 se muestran los resultados de rendimiento generales.

Tabla 26 Rendimiento de la prueba **cobas**® MPX en los paneles de seroconversión del VHB

Paneles de seroconversión del VHB	Días previos a la detección de HBsAg o ADN del VHB								
	Sistema de pruebas ORTHO HBsAg ELISA 3: sin diluir			Abbott PRISM HBsAg: sin diluir			Prueba cobas® TaqScreen MPX: sin diluir, 1:6, 1:96		
	Días previos a la detección con la prueba cobas® MPX								
	Sin diluir	1:6	1:96	Sin diluir	1:6	1:96	Sin diluir	1:6	1:96
1	36	19	7	29	12	0	17	0	0
2	19	11	7	8	0	–4*	0	–3	0
3	24	24	0	24	24	0	–7	7	0
4	17	17	0	0	0	–17*	0	0	0
5	30	30	9	28	28	7	0	0	7
6	28	28	17	18	18	7	–8	4	10
7	16	13	5	11	8	0	9	0	5
8	30	28	14	0	–2*	–16*	2	12	0
9	24	24	13	17	17	6	0	2	6
10	38	42	27	29	33	18	–4	15	3
Mínimo	16	11	0	0	–2	–17	–8	–3	0
Medio	26,2	23,6	9,9	16,4	13,8	0,1	0,9	3,7	3,1
Máximo	38	42	27	29	33	18	17	15	10

* Las concentraciones bajas de ADN de VHB detectadas en los miembros del panel diluidos se detectaron más tarde con la prueba **cobas**® MPX que con la prueba serológica; 0,6 UI/m en el panel 2 con una dilución de 1:96, 2,0 UI/ml en el panel 4 con una dilución de 1:96 (más un resultado serológico anormalmente temprano pero con un índice S/Co bajo), no detectadas en el panel 8 con una dilución de 1:6, y 0,5 UI/ml en el panel 8 con una dilución de 1:96 en la obtención donde se realiza una conversión NAT con la prueba **cobas**® MPX utilizando otras técnicas de cuantificación NAT.

Especificidad analítica

Se evaluó la especificidad analítica de la prueba **cobas**® MPX mediante la reactividad cruzada con 25 microorganismos a una concentración de 10^6 partículas, copias o UFP/ml, incluyendo 18 aislados víricos, 6 cepas bacterianas y 1 aislado de levadura (Tabla 27). Los microorganismos se añadieron a plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHC y VHB) y se analizaron con y sin virus del VIH-1 grupo M, VHC, VHB (coformulado), VIH-1 grupo O y VIH-2 añadido a una concentración de aproximadamente 3 × LoD de la prueba **cobas**® MPX para cada virus. Los microorganismos analizados no interfieren con la prueba **cobas**® MPX.

Tabla 27 Microorganismos analizados para la especificidad analítica

Virus	Flavivirus	Bacterias	Levadura
Adenovirus 5	Virus del Nilo Occidental	*Escherichia coli*	*Candida albicans*
Citomegalovirus	Virus del dengue tipo 1	*Propionibacterium acnes*	
Virus Epstein-Barr	Virus Usutu	*Staphylococcus aureus*	
Virus del herpes simple de tipo 1		*Staphylococcus epidermidis*	
Virus del herpes simple de tipo 2		*Streptococcus viridans*	
Virus de la hepatitis A		*Staphylococcus haemolyticus*	
Virus de la hepatitis E			
Virus de la hepatitis G			
Virus linfotrópico de células T humanas tipo I			
Virus linfotrópico de células T humanas tipo II			
Virus del herpes humano tipo 6			
Virus de la gripe A			
Parvovirus B19			
Virus Chikungunya			
Virus de la varicela zóster			

Se analizaron las muestras de plasma de cada uno de los estadios de la enfermedad (Tabla 28) con y sin VIH-1 grupo M, VHC, VHB (coformulado), VIH-1 grupo O y VIH-2 añadidos a una concentración de aproximadamente 3 × LoD de la prueba **cobas**® MPX para cada virus. Estos estadios de la enfermedad no interfieren con la prueba **cobas**® MPX.

Tabla 28 Muestras de cada estadio de la enfermedad analizadas para la especificidad analítica

Estadio de la enfermedad		
Adenovirus tipo 5	Virus del herpes simple tipo 1	Virus linfotrópico de células T humanas tipo I
Citomegalovirus	Virus del herpes simple de tipo 2	Virus linfotrópico de células T humanas tipo II
Virus del dengue	Virus de la hepatitis A	Parvovirus B19
Virus Epstein-Barr	Virus de la hepatitis E	Virus del Nilo Occidental

Especificidad analítica: sustancias interferentes

Sustancias endógenas causantes de interferencias

Se analizaron las muestras de plasma con niveles anormalmente elevados de triglicéridos (hasta 33,2 g/l), hemoglobina (hasta 2 g/l), bilirrubina no conjugada (hasta 0,236 g/l), albúmina (hasta 60 g/l) o ADN humano (hasta 0,002 g/l) con y sin VIH-1 grupo M, VHC, VHB (coformulado), VIH-1 grupo O y VIH-2 añadidos a una concentración de 3 × LoD de la prueba **cobas**® MPX. Las muestras que contienen estas sustancias endógenas no influyeron en la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas**® MPX.

Sustancias exógenas causantes de interferencias

Se analizaron muestras de plasma humano normal conservado en EDTA y negativo para el virus (VIH, VHC y VHB) con concentraciones anormalmente elevadas de fármacos (Tabla 29) con y sin VIH-1 grupo M, VHC, VHB (coformulado), VIH-1 grupo O y VIH-2 añadidos a una concentración de 3 × LoD de la prueba **cobas**® MPX para cada virus. Estas sustancias exógenas no influyeron en la sensibilidad o especificidad de la prueba **cobas**® MPX.

Tabla 29 Muestras clínicas analizadas con fármacos

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

Correlación

Evaluación del rendimiento de la prueba cobas® MPX mediante comparación con la prueba cobas® TaqScreen MPX, v2.0

Se comparó el rendimiento de la prueba **cobas**® MPX con el de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX, v2.0, mediante 100 muestras individuales de plasma seropositivas para cada conjunto de VIH-1 grupo M, VHC y VHB, analizadas sin diluir y con una dilución de 1:6. Para VIH-2, se analizaron 48 muestras seropositivas sin diluir y 99 muestras con una dilución de 1:6; para VIH-1 grupo O, se analizaron 13 muestras seropositivas con una dilución de 1:6. También se analizaron 103 muestras de plasma seronegativas sin diluir con ambos métodos.

Las muestras seronegativas mostraron una especificidad del 100% al generar 103 de 103 resultados no reactivos con ambos métodos.

En el caso de las muestras positivas para VIH-1 grupo M, VIH-1 grupo O, VIH-2, VHC y VHB, ambos métodos generaron resultados concordantes con la prueba McNemars, lo que demuestra que el rendimiento de la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX, v2.0 es equivalente (Tabla 30 y Tabla 31).

Tabla 30 Correlación de muestras seropositivas (sin diluir)

Métodos		Resultados para fragmentos objetivo víricos individuales			
Prueba cobas® TaqScreen MPX, v2.0	**cobas® MPX**	**VIH-1 grupo M**	**VHB**	**VHC**	**VIH-2**
No reactivo	No reactivo	0	0	0	4
Reactivo	No reactivo	0	0	0	4*
No reactivo	Reactivo	0	0	0	7
Reactivo	Reactivo	100	100	100	33
Total		100	100	100	48
Prueba de McNemar, valor p (bilateral, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,55

* Cuatro muestras discordantes no reactivas con la prueba **cobas**® MPX analizadas sin diluir generaron títulos inferiores al límite de cuantificación del ensayo de cuantificación mediante PCR para VIH-2 (< 100 copias/ml, Hopital Bichat-Claude Bernard) y resultaron no reactivas en ambos ensayos con una dilución de 1:6.

Tabla 31 Correlación de muestras seropositivas (dilución de 1:6)

Métodos		Resultados para fragmentos objetivo víricos individuales				
Prueba cobas® TaqScreen MPX, v2.0	**cobas® MPX**	**VIH-1 M**	**VHB**	**VHC**	**VIH-2**	**VIH-1 O**
No reactivo	No reactivo	0	0	0	39	0
Reactivo	No reactivo	0	0	0	6*	0
No reactivo	Reactivo	0	0	0	8	0
Reactivo	Reactivo	100	100	100	46	13
Total		100	100	100	99	13
Prueba de McNemar, valor p (bilateral, $\alpha = 0,05$)		1,0	1,0	1,0	0,79	1,0

* Seis muestras discordantes generaron resultados no reactivos con la prueba **cobas**® MPX. Tres de las seis muestras discordantes no reactivas con la prueba **cobas**® MPX con una dilución de 1:6 se situaron por debajo del límite de cuantificación (< 100 copias/ml) para el ensayo de cuantificación mediante PCR para VIH-2 (Hopital Bichat-Claude Bernard). Las 3 muestras restantes también presentaron títulos inferiores (27,7 UI/ml, por debajo del nivel de cuantificación de la prueba LDT del ARN del VIH-2 y 150 copias/ml para el ensayo de cuantificación mediante PCR para VIH-2) y las 3 resultaron reactivas en ambos ensayos cuando se analizaron sin diluir.

Fallo de todo el sistema

La tasa de fallo de todo el sistema para la prueba **cobas**® MPX se determinó mediante el análisis de 100 réplicas de plasma conservado en EDTA a las que se añadió VIH-1 grupo M, VHC, VHB (coformulado), VIH-1 grupo O y VIH-2 hasta conseguir un total de 300 réplicas. Estas muestras se analizaron con una concentración de fragmento objetivo de aproximadamente 3 × LoD y se ejecutaron en pooles de 1 (sin diluir). El estudio se realizó con el **cobas**® 8800 System y el **cobas p** 680 instrument (pipeteo y pooling).

Los resultados del estudio indican que todas las réplicas fueron reactivas para cada fragmento objetivo, lo que representa una tasa de fallo de todo el sistema del 0%. El intervalo de confianza bilateral exacto del 95% fue del 0% para el límite inferior y del 1,22% para el límite superior [0%: 1,22%].

Contaminación por arrastre

La tasa de contaminación por arrastre de la prueba **cobas**® MPX se determinó mediante el análisis de 240 réplicas de una muestra de plasma humano normal conservado en EDTA negativo al virus (VIH, VHB y VHC) y de 220 réplicas de una muestra del VHB con un título alto de 1,00E+08 UI/ml. El estudio se realizó mediante el **cobas**® 8800 System. En total, se realizaron 5 series con muestras positivas y negativas utilizando un método de ensayo con configuración de tablero de ajedrez.

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

Muestras cadavéricas

Sensibilidad

La sensibilidad clínica de la prueba **cobas**® MPX para el ARN del VIH-1 grupo M, el ARN del VIH-1 grupo O, el ARN del VIH-2, el ARN del VHC y el ADN del VHB se evaluó mediante el análisis de un total de 60 muestras cadavéricas individuales negativas para el virus. De ellas, 35 muestras individuales se clasificaron como moderadamente hemolizadas (de color paja a rosa) y 25 muestras individuales se clasificaron como altamente hemolizadas (de color rojo a marrón). En total, se analizaron un total de 60 muestras individuales de donantes vivos negativas para el virus. Todas las muestras de donantes vivos y cadavéricos se dividieron de manera uniforme en 3 lotes de reactivos y 5 grupos de adición de muestras clínicas (para VIH-1 M, VHC y VHB) con 12 muestras por grupo. A cada muestra de donante vivo y cadavérico se le añadió una coformulación de tres muestras clínicas únicas (VIH-1 grupo M, VHC y VHB) o los estándares primarios de Roche (VIH-1 grupo O y VIH-2 formulados individualmente) a aproximadamente 5 × LoD de los tipos de muestras respectivos. Cada muestra cadavérica se diluyó en una proporción de 1:5,6 con **cobas omni** Specimen Diluent en el equipo y se analizó mediante el procedimiento de análisis de muestras cadavéricas.

Todas las muestras de donantes vivos y cadavéricos presentaron una tasa de reactividad del 100% (intervalo de confianza del 95%: 94,0-100%). La sensibilidad clínica observada en las muestras cadavéricas fue equivalente a la sensibilidad observada en las muestras de donantes vivos, según el Test exacto de Fisher, tal como se resume en la Tabla 32.

Tabla 32 Resumen de la tasa de reactividad en muestras de donantes vivos y cadavéricos de plasma conservado en EDTA

Analito	Muestra cadavérica	Muestra de donante vivo
	% de reactividad (Muestras reactivas/Muestras analizadas)	% de reactividad (Muestras reactivas/Muestras analizadas)
VIH-1 grupo M	100% (60/60)	100% (60/60)
VIH-1 grupo O	100% (60/60)	100% (60/60)
VIH-2	100% (60/60)	100% (60/60)
VHC	100% (60/60)	100% (60/60)
VHB	100% (60/60)	100% (60/60)
Test Exacto de Fisher, valor p ($\alpha = 0,05$)	Sin diferencias significativas en las tasas de reactividad ($p = 1,000$)	

Especificidad

Se evaluó la especificidad de la prueba **cobas**® MPX en muestras de plasma y suero cadavérico conservadas en EDTA y se comparó con la especificidad de las muestras de donantes vivos mediante el análisis de réplicas únicas de 60 muestras de plasma cadavérico individuales conservadas en EDTA, de las cuales 37 muestras de donantes se clasificaron como moderadamente hemolizadas (de color paja a rosa) y 23 como altamente hemolizadas (de color rojo a marrón); 61 muestras de suero cadavérico individuales, de las cuales 42 muestras se clasificaron como moderadamente hemolizadas y 19 como altamente hemolizadas; 60 muestras de plasma individuales de donantes vivos seronegativos y 60 muestras de suero individuales. El estudio se llevó a cabo con 3 lotes de reactivos **cobas**® MPX independientes. Cada muestra cadavérica se diluyó en una proporción de 1:5,6 con **cobas omni** Specimen Diluent en el equipo y se analizó mediante el procedimiento de análisis de muestras cadavéricas. Todas las muestras de donantes vivos y cadavéricos de plasma y suero conservado en EDTA obtuvieron resultados no reactivos para una especificidad del 100%. La especificidad observada para muestras cadavéricas fue equivalente a la especificidad observada en las muestras de donantes vivos, según el Test exacto de Fisher ($\alpha = 0,05$), tal como se resume en la Tabla 33.

Tabla 33 Resumen de la especificidad en muestras de donantes vivos y cadavéricos de plasma y suero conservado en EDTA

Matrices	Tipo de muestra	Muestras no reactivas	Muestras analizadas	% de no reactividad	Intervalo de confianza bilateral del 95%
Plasma conservado en EDTA	Donante cadavérico	60	60	100%	94,0%-100%
	Donante vivo	60	60	100%	94,0%-100%
Suero	Donante cadavérico	61	61	100%	94,1%-100%
	Donante vivo	60	60	100%	94,0%-100%
Resultados globales con el Test exacto de Fisher ($\alpha = 0,05$)		La especificidad de las muestras cadavéricas y las muestras de donantes vivos es equivalente: Test Exacto de Fisher, $p = 1,000$			

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba **cobas**® MPX en **cobas**® 6800/8800 Systems se determinó a partir de 20 muestras cadavéricas (moderada y altamente hemolizadas) a las que se añadieron muestras clínicas de VIH-1 M, VHB y VHC, y los estándares primarios de Roche para el ARN del VIH-1 grupo O y el ARN del HIV-2 a aproximadamente 5 × LoD de la prueba **cobas**® MPX. Los resultados se compararon con la reproducibilidad obtenida con 20 muestras de donantes vivos a las que se añadieron los estándares primarios y secundarios de Roche a aproximadamente 5 × LoD de la prueba **cobas**® MPX.

Las pruebas se han realizado para determinar los siguientes componentes variables:

- Variabilidad entre días durante 6 días
- Variabilidad entre lotes con 3 lotes de reactivos diferentes de la prueba **cobas**® MPX

Se analizó una réplica con cada uno de los 3 lotes de reactivos durante 6 días para un total de 18 réplicas por muestra de donante vivo y cadavérico. Cada muestra cadavérica se diluyó en una proporción de 1:5,6 con **cobas omni** Specimen Diluent en el equipo y se analizó mediante el procedimiento de análisis de muestras cadavéricas. Todos los datos de reproducibilidad válidos se evaluaron comparando las tasas de reactividad de las muestras de donantes vivos y cadavéricos (intervalos de confianza bilaterales del 95%) en todos los componentes variables. Se calculó el valor p exacto de Fisher 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.

La prueba **cobas**® MPX ofrece reproducibilidad durante varios días y en varios lotes de reactivos para muestras de donantes vivos y cadavéricos. En la Tabla 34 se resumen los resultados de la variabilidad entre lotes.

Tabla 34 Resumen de la reproducibilidad entre lotes de los reactivos de la prueba **cobas**® MPX

Analito	Lote de reactivos	Tipo de muestra	% de reactividad (réplicas reactivas/válidas)	Límite inferior del intervalo de confianza del 95%	Límite superior del intervalo de confianza del 95%	Diferencias significativas con el Test exacto de Fisher (α = 0,05)
VIH-1 grupo M	1	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Cadavérico	100,0% (118/118)	96,9%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
VIH-1 grupo O	1	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Cadavérico	100,0% (117/117)	96,9%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Cadavérico	99,2% (118/119)	95,4%	100,0%	Valor p = 0,4979
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
VIH-2	1	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Cadavérico	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Valor p = 0,4979
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Cadavérico	99,2% (118/119)	95,4%	100,0%	Valor p = 0,4979
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
VHC	1	Cadavérico	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Valor p = 0,4979
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Cadavérico	98,3% (118/120)	94,1%	99,8%	Valor p = 0,4979
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Cadavérico	97,5% (115/118)	92,7%	99,5%	Valor p = 0,1203
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
VHB	1	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	2	Cadavérico	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	100,0% (120/120)	97,0%	100,0%	
	3	Cadavérico	100,0% (118/118)	96,9%	100,0%	Valor p = 1,0000
		Donante vivo	99,2% (119/120)	95,4%	100,0%	

Evaluación clínica del rendimiento

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba **cobas**® MPX para su uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems se determinó mediante el análisis de los miembros del panel que contenían VIH-1 del grupo M y grupo O, VIH-2, VHC, y/o VHB con tres concentraciones distintas de cada virus por lote, centro/instrumento, día y serie.

Los usuarios de cada centro con la prueba **cobas**® MPX llevaron a cabo cinco días de análisis con tres lotes de reactivos de **cobas**® MPX para obtener dos series analíticas válidas por día.

En la Tabla 35 se muestra el porcentaje de concordancia por centro/equipo, lote, día y serie a partir de los resultados de prueba válidos para los miembros del panel positivos. Este estudio demostró que la prueba **cobas**® MPX para uso en los **cobas**® 6800/8800 Systems muestra un rendimiento reproducible entre las variables analizadas (lote, centro/equipo, día y serie) y para los cinco analitos analizados.

Tabla 35 Resultados de la prueba resumidos por centro/equipo, lote, día y serie (miembros del panel positivos)

		Centro/Equipo		Lote		Día		Serie	
Diana vírica	**Concentración viral**	**ID**	**% de resultados positivos**	**ID**	**% de resultados positivos**	**ID**	**% de resultados positivos**	**ID**	**% de resultados positivos**
VIH-1 grupo M	~0,5 × LoD	1	81,7% (49/60)	1	81,7% (49/60)	1	91,7% (33/36)	1	84,3% (75/89)
		2	84,7% (50/59)	2	88,3% (53/60)	2	77,1% (27/35)	2	81,1% (73/90)
		3	81,7% (49/60)	3	78,0% (46/59)	3	83,3% (30/36)		
						4	83,3% (30/36)		
						5	77,8% (28/36)		
	~1 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	97,2% (35/36)	2	97,8% (88/90)
		3	96,7% (58/60)	3	96,7% (58/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

VIH-1 grupo O	~0,5 × LoD	1	78,3% (47/60)	1	83,3% (50/60)	1	72,2% (26/36)	1	73,3% (66/90)
		2	76,7% (46/60)	2	78,3% (47/60)	2	77,8% (28/36)	2	86,7% (78/90)
		3	85,0% (51/60)	3	78,3% (47/60)	3	77,8% (28/36)		
						4	86,1% (31/36)		
						5	86,1% (31/36)		
	~1 × LoD	1	98,3% (59/60)	1	98,3% (59/60)	1	94,4% (34/36)	1	95,6% (86/90)
		2	100,0% (60/60)	2	96,7% (58/60)	2	100,0% (36/36)	2	98,9% (89/90)
		3	93,3% (56/60)	3	96,7% (58/60)	3	97,2% (35/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	94,4% (34/36)		
	~3 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
VIH-2	~0,5 × LoD	1	74,1% (43/58)	1	73,3% (44/60)	1	77,8% (28/36)	1	69,7% (62/89)
		2	76,7% (46/60)	2	79,7% (47/59)	2	69,4% (25/36)	2	79,8% (71/89)
		3	73,3% (44/60)	3	71,2% (42/59)	3	75,0% (27/36)		
						4	71,4% (25/35)		
						5	80,0% (28/35)		
	~1 × LoD	1	96,7% (58/60)	1	100,0% (60/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	98,3% (59/60)	2	96,7% (58/60)	2	100,0% (36/36)	2	96,7% (87/90)
		3	100,0% (60/60)	3	98,3% (59/60)	3	97,2% (35/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	97,2% (35/36)		
	~3 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

VHC	~0,5 × LoD	1	75,0% (45/60)	1	80,0% (48/60)	1	66,7% (24/36)	1	79,8% (71/89)
		2	70,7% (41/58)	2	76,7% (46/60)	2	77,8% (28/36)	2	74,2% (66/89)
		3	85,0% (51/60)	3	74,1% (43/58)	3	69,4% (25/36)		
						4	91,2% (31/34)		
						5	80,6% (29/36)		
	~1 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	98,3% (59/60)	1	97,2% (35/36)	1	100,0% (90/90)
		2	96,7% (58/60)	2	98,3% (59/60)	2	100,0% (36/36)	2	97,8% (88/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	97,2% (35/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (59/59)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (89/89)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (59/59)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (35/35)		
						5	100,0% (36/36)		
VHB	~0,5 × LoD	1	80,0% (48/60)	1	80,0% (48/60)	1	80,6% (29/36)	1	72,2% (65/90)
		2	78,3% (47/60)	2	73,3% (44/60)	2	80,6% (29/36)	2	82,2% (74/90)
		3	73,3% (44/60)	3	78,3% (47/60)	3	75,0% (27/36)		
						4	77,8% (28/36)		
						5	72,2% (26/36)		
	~1 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		
	~3 × LoD	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (60/60)	1	100,0% (36/36)	1	100,0% (90/90)
		2	100,0% (60/60)	2	100,0% (60/60)	2	100,0% (36/36)	2	100,0% (90/90)
		3	100,0% (60/60)	3	100,0% (60/60)	3	100,0% (36/36)		
						4	100,0% (36/36)		
						5	100,0% (36/36)		

Especificidad clínica

Reactividad en la población de donantes de sangre

Se obtuvieron muestras de donantes de sangre que habían dado su consentimiento seleccionados de cuatro centros de análisis. El análisis con la prueba **cobas**® MPX se llevó a cabo mediante dos algoritmos de análisis: uno para el análisis de donaciones individuales, que precisa un único nivel de análisis, y uno para el análisis de pooles de seis, que precisa un único nivel de análisis para pooles primarios no reactivos y dos niveles de análisis (pool primario y análisis de resolución de donaciones individuales) para pooles primarios reactivos (Tabla 36). La especificidad del pool fue del 99,91% (10,524/10,534; 99,83%-99,95%) (Tabla 37). Diez pooles reactivos contenían donaciones con estado de donante negativo en todos los casos. La especificidad clínica para las donaciones individuales fue del 99,95% (IC del 95%: entre 99,88% y 99,98%). La tasa de lotes no válidos para la prueba **cobas**® MPX fue del 3,5% (18/509) para donaciones iniciales analizadas en pooles de seis, mientras que para las donaciones individuales fue del 6,8% (16/219). Durante el estudio se identificaron dos casos de positivos para VHC por medio de NAT.

Tabla 36 Especificidad clínica de **cobas**® MPX – Global

Tamaño del pool	Frecuencia (n/N)	Estimación de porcentaje (intervalo de confianza exacta del 95% de Clopper Pearson)
Individual (plasma)	5.523/5.528	99,91% (entre 99,79% y 99,986%)
Individual (suero)	5.669/5.670	99,98% (entre 99,90% y 100,00%)
Individual (plasma/suero)	11.192/11.198	99,95% (entre 99,88% y 99,98%)
Pooles de 6 (plasma)	62.982/62.982	100,00% (entre 99,99% y 100,00%)

N = Número total de donaciones con estado de donante negativo; n = donaciones no reactivas de **cobas**® MPX

Tabla 37 Reactividad del pool de **cobas**® MPX en donantes de sangre voluntarios

Categoría	N.º de pooles	Porcentaje de pooles analizados
Pooles analizados	10563	100
Pooles no reactivos	10524	99,63
Pooles reactivos	39	0,37
Pooles reactivos con estado de donante positivo	29	0,27
Pooles reactivos con estado de donante negativo (falso positivo)*	10	0,10

* De los 10 pooles falsos reactivos, uno fue falso reactivo para VIH, cuatro pooles fueron falsos reactivos para VHC y cinco pooles fueron falsos reactivos para VHB.

Reactividad en la población de donantes de plasma de origen

Se analizaron un total de 108.306 donaciones evaluables procedentes de 24.514 donantes únicos en pooles de 96 tanto con la prueba **cobas**® MPX como con una prueba NAT autorizada por la FDA. 108.297 donaciones resultaron negativas para anti-VIH, anti-VHC y HBsAg (Tabla 38). El estado de la donación se asignó en función de la concordancia de dos pruebas específicas del virus (p. ej., dos resultados NAT o NAT y serología) realizadas a partir de la donación inicial o de los resultados de los análisis de seguimiento. Se analizaron un total de 1.106 pooles evaluables con la prueba **cobas**® MPX, de los cuales 1.092 (98,7%) resultaron no reactivos y 14 (1,3%), reactivos. De los 1.092 pooles no reactivos, 1.090 contenían donaciones con estado de donante negativo en todos los casos y dos contenían al menos una donación con estado de donante positivo. De los 1.106 pooles analizados, dos resultaron ser pooles no reactivos con una donación con estado de donante positivo como mínimo y siete resultaron pooles reactivos con una donación con estado de donante positivo como mínimo (Tabla 39).

Tabla 38 Especificidad clínica de **cobas**® MPX respecto a las donaciones

Parámetro	Número total de donaciones con estado de donante negativo	Resultado de la prueba cobas® MPX		Estimación del porcentaje (IC exacto del 95%)
		Reactivo	No reactivo	
Especificidad clínica	108297	6	108291	99,99 (99,99, 100,00)
Especificidad clínica para VIH	108297	3	108294	100,00 (99,99, 100,00)
Especificidad clínica para VHC	108297	1	108296	100,00 (100,00, 100,00)
Especificidad clínica para VHB	108297	2	108295	100,00 (99,99, 100,00)

Tabla 39 Reactividad del pool en donaciones de plasma de origen

Categoría	Número de pooles	Porcentaje de pooles analizados
Pooles totales de 96[a] analizados:	1106	100
Pooles no reactivos[b]	1092	98,7
Pooles no reactivos con estado de donante negativo en todos los casos	1090	98,6 (1.090/1.106)
Pooles no reactivos con al menos una donación con estado de donante positivo	2[c]	0,2 (2/1.106)
Pooles reactivos[b]	14	1,3
Pooles reactivos con al menos una donación con estado de donante positivo	7	0,6 (7/1.106)
Pooles reactivos con estado de donante negativo (pooles falsos reactivos)	7	0,6 (7/1.106)

[a] 479/1106 pooles tenían < 96 donaciones

[b] El estado de la donación se asignó en función de la concordancia de dos pruebas específicas del virus (p. ej., dos resultados NAT o NAT y serología) a partir de la donación inicial o los resultados de los análisis de seguimiento.

[c] Estos dos pooles no reactivos contenían donaciones de un donante positivo para VHB. La donación inicial del donante era positiva para VHB con la prueba **cobas**® MPX pero negativa con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX y se confirmó su positividad para VHB mediante una prueba NAT alternativa de alta sensibilidad. Este donante realizó tres donaciones posteriores que resultaron no reactivas con los dos ensayos de cribado NAT. Una de estas donaciones estaba incluida en un pool positivo para VHC.

Once donantes únicos aportaron 12 donaciones reactivas (seis para VHC, seis para VIH y tres para VHB). Siete donantes finalizaron el programa de análisis de seguimiento: tres de ellos no presentaron muestras de infección en el seguimiento y cuatro fueron confirmados como infectados durante el seguimiento, dos de los cuales se seroconvirtieron (VHC) durante el seguimiento (Tabla 40). Uno de los tres donantes de VHB se identificó como portador de VHB mediante NAT.

Tabla 40 Patrones observados de reactividad del análisis a partir de las pruebas iniciales con donaciones evaluables

Resultado de la prueba cobas® MPX	Estado de la donación[a]	Número de donaciones
VHC+	Positivo	5
VHB+	Negativo	2
VHB+	Positivo	4[b]
VHC+	Negativo	1
VIH+	Negativo	3
No reactivo	Negativo	108291
	Total	108306

[a] El estado de la donación se asignó en función del patrón de reactividad de la prueba ("concordancia" de dos pruebas específicas del virus [p. ej., dos resultados NAT o NAT y serología] realizadas a partir de la donación inicial o los resultados de los análisis de seguimiento).

[b] Todas estas donaciones se obtuvieron del mismo donante, cuya donación inicial fue VHB+ y cuyas tres donaciones posteriores se clasificaron con estado positivo a pesar de que el resultado de la prueba **cobas**® MPX fue no reactivo para VHB.

Nota: en esta tabla de resumen solamente se incluyen las donaciones evaluables; + = Reactivo/Positivo

La especificidad clínica de la prueba **cobas**® MPX para pooles de plasma de origen se determinó mediante el análisis de 108.306 donaciones evaluables de 24.514 donantes únicos. Las donaciones evaluables presentaron resultados válidos con las pruebas **cobas**® MPX, **cobas**® TaqScreen MPX y CAS (COBAS AmpliScreen) cuando se analizaron en pooles, y resultados de serología válidos (con todos los analitos) para el análisis de las donaciones individuales. De las 108.306 donaciones evaluables, se asignó un estado de donante negativo a 108.297, de las que 108.291 resultaron no reactivas con las prueba **cobas**® MPX, lo que supone una especificidad clínica del 99,994% (intervalo de confianza del 95%: entre 99,988% y 99,997%). Los siete pooles falsos reactivos con la prueba **cobas**® MPX (del total de 96) resultaron serlo por contener donaciones con estado de donante negativo en todos los casos. De los 24.514 donantes únicos sometidos a análisis, 24.509 contribuyeron solamente donaciones con estado de donante negativo, de las que 24.503 obtuvieron un resultado no reactivo con la prueba **cobas**® MPX y seis arrojaron resultados falsos reactivos, lo que se traduce en una especificidad (del nivel de donante) de 99,976% (intervalo de confianza del 95%: entre 99,947% y 99,989%).

Estudios en poblaciones de alto riesgo

Los proveedores externos obtuvieron muestras de sujetos con un alto riesgo de infección por VIH, VHC o VHB. Entre los factores de alto riesgo figuran, entre otros, antecedentes de encarcelamiento, el historial de diagnóstico de enfermedad de transmisión sexual, el historial de múltiples parejas sexuales, el consumo de drogas inyectables y el diagnóstico de VIH o hepatitis o el tratamiento de las mismas. Algunos donantes de muestras presentaban más de un factor de riesgo. Se distribuyeron un total de 510 muestras obtenidas de una población de alto riesgo de manera equilibrada entre tres centros de análisis y se analizaron con la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX con CAS.

Todas las muestras se prepararon como paneles. Las muestras diluidas se diluyeron manualmente con plasma humano en pooles confirmados como negativos para VIH-1/2, VHC y VHB. En los centros de análisis, las muestras se analizaron sin

diluir con la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen con CAS (para la resolución de fragmentos objetivo) siguiendo el procedimiento estándar para el procesamiento de las muestras recomendado en el boletín técnico de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX. Las muestras también se analizaron diluidas para simular pooles de seis tanto con la prueba **cobas**® MPX como con la prueba **cobas**® TaqScreen. El procedimiento CAS no se llevó a cabo con las muestras diluidas.

Las 510 muestras sin diluir generaron resultados con la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX, siendo 179 de ellas reactivas (para uno o más fragmentos objetivo) con **cobas**® MPX (35,1%) y 181 reactivas con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX (35,5%). 488 (95,7%) muestras presentaron resultados concordantes entre **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX, mientras que 22 muestras (4,3%) generaron resultados discordantes entre la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX.

De las 510 muestras sin diluir de alto riesgo, la prueba **cobas**® MPX identificó correctamente la presencia o ausencia del fragmento vírico en un 97,0% (495/510) de las ocasiones, en comparación con los resultados de las pruebas CAS o las pruebas NAT alternativas (según el NGI, el instituto nacional de genética). Con relación al 3% de muestras para las que la prueba **cobas**® MPX no logró identificar correctamente la presencia o ausencia del fragmento objetivo vírico, **cobas**® MPX detectó erróneamente un fragmento objetivo vírico en muestras que no contenían un fragmento objetivo vírico en un 1,8% (9/510) de los casos (resultado falso reactivo) y no logró detectar ningún fragmento objetivo vírico en muestras que sí contenían un fragmento objetivo en un 1,2% (6/510) de las ocasiones (resultado falso no reactivo). Los resultados se resumen en la Tabla 41.

Tabla 41 Comparación entre la identificación correcta e incorrecta del virus – muestras sin diluir

	Resultado de la prueba cobas® MPX[a]	%	Total de correctos
Reactivos verdaderos	**170**	**97,0%**	**495**
No reactivos verdaderos	**325**		
Falsos reactivos	9	1,8%	15
Falsos no reactivos	6	1,2%	
Total	510	100,0%	510

[a] Estado final (en comparación con los resultados de CAS o las pruebas NAT alternativas [análisis del NGI]).

Nota: identificación correcta = resultados reactivos y no reactivos verdaderos (indicados en negrita).

De las 510 muestras diluidas analizadas, 153 muestras resultaron reactivas con la prueba **cobas**® MPX (30,0%), a diferencia de las 151 muestras que resultaron reactivas con la prueba **cobas**® TaqScreen MPX (29,6%). De las 510 muestras diluidas, 484 (94,9%) generaron resultados concordantes entre la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX, mientras que 26 muestras (5,1%) presentaron resultados discordantes entre la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX.

La prueba **cobas**® MPX logró un porcentaje de identificación correcta del fragmento objetivo vírico del 96,7% (492/509) (509 muestras diluidas excepto una muestra para la que no se obtuvo ningún resultado NGI). Con relación al 3,4% de muestras para las que la prueba **cobas**® MPX no logró identificar correctamente el fragmento objetivo vírico, **cobas**® MPX detectó erróneamente un fragmento objetivo vírico en muestras que no contenían ningún fragmento objetivo vírico en un 1,2% (6/509) de los casos (resultado falso reactivo) y no logró detectar ningún fragmento objetivo vírico en muestras que sí contenían un fragmento objetivo en un 2,2% (11/509) de las ocasiones (resultado falso no reactivo). Los resultados se resumen en la Tabla 42.

Tabla 42 Comparación entre la identificación correcta e incorrecta del virus – muestras diluidas

	Resultado de la prueba cobas® MPX[a]	%	Total de correctos
Reactivos verdaderos	**147**	**96,7**	**492**
No reactivos verdaderos	**345**		
Falsos reactivos	6	1,2	17
Falsos no reactivos	11	2,2	
Total	509[b]	100	509[b]

[a] Estado final (comparado con resultados CAS o de pruebas NAT alternativas [análisis del NGI]), realizado en una alícuota sin diluir.

[b] Salvo una muestra para la que no se obtuvo ningún resultado del NGI.

Nota: identificación correcta = resultados reactivos y no reactivos verdaderos (indicados en negrita).

Sensibilidad clínica

Estudios en poblaciones positivas mediante pruebas NAT

Se analizaron un total de 2.569 muestras positivas para VIH, VHC y VHB mediante NAT en cuatro centros de análisis con las pruebas **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX con CAS. Se utilizaron cuatro lotes de reactivos de **cobas**® MPX. Las 2.569 muestras positivas mediante NAT comprendían 1.015 muestras positivas para VIH, 1.016 muestras positivas para VHC y 538 muestras positivas para VHB. Se analizaron todas y cada una de estas muestras sin diluir y diluidas (1:6) con la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX. Solamente se analizaron muestras sin diluir con las pruebas CAS autorizadas según el proceso para muestras estándar recomendado en el boletín técnico de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX. En la Tabla 43 se comparan las sensibilidades de los resultados de las pruebas **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen para las muestras positivas conocidas para VIH, VHC y VHB.

La sensibilidad clínica global de la prueba **cobas**® MPX fue del 100,0% (2.549/2.549) para las muestras positivas conocidas sin diluir y del 100,0% (2.555/2.555) para las muestras positivas conocidas diluidas (1:6). La sensibilidad clínica global de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX fue del 99,9% (2.523/2.524) para las muestras positivas conocidas sin diluir y del 99,8% (2.559/2.563) para las muestras positivas conocidas diluidas (1:6). El porcentaje de concordancia de positivos (PCP) global para todas las muestras positivas conocidas de este estudio entre la prueba **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX fue del 100,0% tanto para las muestras sin diluir como para las muestras diluidas (Tabla 43).

Tabla 43 Comparación de las sensibilidades de los resultados de las pruebas **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen para muestras positivas conocidas para VIH, VHC y VHB

		Sensibilidad de muestras positivas conocidas[a]		Diferencia (Resultado de cobas® MPX – Prueba cobas® TaqScreen MPX)	
Dilución	**Frag. obj. vírico**	**Resultado de la prueba cobas® MPX**	**Prueba cobas® TaqScreen MPX**	**Estimación**	**Intervalo de confianza al 95%**
Sin diluir	**Global**	100,00% (2.549/2.549)	99,96% (2.523/2.524)	0,04%	(-0,04%, 0,12%)
	VIH	100,00% (1.006/1.006)	99,90% (1.007/1.008)	0,10%	(-0,10%, 0,29%)
	VHC	100,00% (1.015/1.015)	100,00% (1.014/1.014)	0,00%	No aplicable
	VHB	100,00% (528/528)	100,00% (502/502)	0,00%	No aplicable
1:6	**Global**	100,00% (2.555/2.555)	99,84% (2.559/2.563)	0,16%	(0,00%, 0,31%)
	VIH	100,00% (1.006/1.006)	99,60% (1.005/1.009)	0,40%	(0,01%, 0,78%)
	VHC	100,00% (1.016/1016)	100,00% (1.016/1.016)	0,00%	No aplicable
	VHB	100,00% (533/533)	100,00% (538/538)	0,00%	No aplicable

[a] El análisis de sensibilidad se llevó a cabo solamente con muestras positivas conocidas con resultados válidos para la prueba.

Población positiva para VIH mediante NAT

Las 1.015 muestras sin diluir positivas para VIH generaron 1.006 resultados evaluables de la prueba con **cobas**® MPX y 1.008 resultados evaluables de la prueba con **cobas**® TaqScreen MPX con CAS. 1.015 muestras diluidas positivas para VIH generaron 1.006 resultados evaluables de la prueba con **cobas**® MPX y 1.009 resultados evaluables para la prueba **cobas**® TaqScreen MPX (aunque no se realizaron pruebas CAS con las muestras diluidas).

cobas® MPX fue reactiva para 1.006 de las 1.006 (100,0%) muestras sin diluir positivas para VIH y para 1.006 de las 1.006 (100,0%) muestras diluidas positivas para VIH. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX con pruebas CAS resultó reactiva para 1.007 de las 1.008 (99,90%) muestras sin diluir positivas para VIH. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX (sin prueba CAS) resultó reactiva para 1.005 de las 1.009 (99,60%) muestras diluidas positivas para VIH. El PCP entre **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX para las muestras sin diluir y diluidas positivas para VIH fue del 100,0% y el 100,0% respectivamente.

Población positiva para VHC mediante NAT

cobas® MPX fue reactiva para 1.015 de las 1.015 (100,0%) muestras sin diluir positivas para VHC y para 1.016 de las 1.016 (100,0%) muestras diluidas positivas para VHC. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX con pruebas CAS también resultó reactiva para 1.014 de las 1.014 (100,0 %) muestras sin diluir. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX (sin prueba CAS) resultó reactiva para 1.016 de las 1.016 (100,0%) muestras diluidas. El PCP entre **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX para las muestras sin diluir y diluidas positivas para VHC fue del 100,0% y el 100,0% respectivamente.

Población positiva para VHB mediante NAT

Las 538 muestras sin diluir positivas para VHB generaron 528 resultados evaluables de la prueba con **cobas**® MPX y 502 resultados evaluables de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX con CAS. Las 538 muestras diluidas positivas para VHB generaron 533 resultados evaluables de la prueba con **cobas**® MPX y 538 resultados evaluables de la prueba **cobas**® TaqScreen MPX (aunque no se realizaron pruebas CAS con las muestras diluidas).

cobas® MPX fue reactiva para 528 de las 528 (100,0%) muestras sin diluir positivas para VHB y para 533 de las 533 (100,0%) muestras diluidas positivas para VHB. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX con pruebas CAS resultó reactiva para 502 de las 502 (100,0 %) muestras sin diluir positivas para VHB. La prueba **cobas**® TaqScreen MPX (sin prueba CAS) resultó reactiva para 538 de las 538 (100,0%) muestras diluidas positivas para VHB. El PCP entre **cobas**® MPX y la prueba **cobas**® TaqScreen MPX para las muestras sin diluir y diluidas positivas para VHB fue del 100,0% y el 100,0% respectivamente.

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

Población seropositiva para el VIH-1 grupo O

Se analizaron un total de 12 muestras seropositivas para VIH-1 grupo O diluidas con una proporción 1:6 mediante **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX. Las muestras se analizaron después de la dilución a 1:6 debido al volumen limitado. Todas las muestras VIH-1 grupo O fueron reactivas para VIH cuando se analizaron con **cobas**® MPX después de diluirlas a 1:6, tal como se resume en la Tabla 44, lo que supone una sensibilidad clínica del 100,0% para serología.

Tabla 44 Comparación de la reactividad global para muestras seropositivas para VIH-1 grupo O (dilución a 1:6)

Prueba cobas® TaqScreen MPX (dilución 1:6)	cobas® MPX (dilución 1:6)		Total
	Reactivas	No reactivo	
Reactivo	11	0	11
No reactivas	1	0	1
Total	12	0	12

Población seropositiva para el VIH-2

Se analizaron un total de 319 muestras seropositivas para VIH-2 con la prueba **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX. De las 319 muestras seropositivas, 184 se analizaron sin diluir y tras diluirlas a 1:6 con **cobas**® MPX y **cobas**® TaqScreen MPX, mientras que las 135 restantes solamente se analizaron tras diluirlas a 1:6 debido al volumen limitado.

Un total de 137 muestras de las 184 muestras analizadas sin diluir resultaron reactivas, tal como se resumen en la Tabla 45, lo que supone una sensibilidad clínica del 74,5% para serología cuando se utiliza **cobas**® MPX. También se demostró una sensibilidad comparable de la prueba **cobas**® MPX al VIH-2 cuando las muestras se diluyeron a 1:6 antes de someterlas al análisis con ambos métodos. Un total de 198 muestras de las 319 diluidas a 1:6 resultaron reactivas con **cobas**® MPX, como se resume en la Tabla 46.

Tabla 45 Comparación de la reactividad global para muestras seropositivas para VIH-2 (sin diluir)

Prueba cobas® TaqScreen MPX (sin diluir)	cobas® MPX (sin diluir)		Total
	Reactivas	No reactivo	
Reactivo	118	7	125
No reactivo	19	40	59
Total	137	47	184

Tabla 46 Comparación de la reactividad global para muestras seropositivas para VIH-2 (dilución a 1:6)

Prueba cobas® TaqScreen MPX (dilución 1:6)	cobas® MPX (dilución 1:6)		Total
	Reactivas	No reactivo	
Reactivo	173	33	206
No reactivo	25	88	113
Total	198	121	319

Confirmación de los resultados serológicos

Los datos del estudio de positivos conocidos incluían 2.555 muestras positivas conocidas, cada una de ellas con infección confirmada mediante NAT (prueba de ácidos nucleicos) para VIH, VHC o VHB y con resultados para la prueba serológica. Los resultados de la prueba serológica complementaria también eran conocidos para 1.771 (69,3%) muestras. El resultado **cobas**® MPX correcto, definido como reactivo para el fragmento objetivo vírico para el que la muestra se sabía positiva (p. ej., VIH, VHC o VHB), se comparó con los resultados serológicos complementarios. Se calcularon los porcentajes de los resultados correctos (estimación de sensibilidad) para **cobas**® MPX tanto de cada fragmento objetivo vírico como globales, con intervalos de confianza al 95% (CI) asociados. **cobas**® MPX identificó correctamente 1.771 de 1.771 (100,0%) de las muestras con resultados de serología reactivos y resultados de serología complementarios. En la Tabla 47 se muestra la reactividad de **cobas**® MPX para cada analito de fragmento objetivo vírico, comparada con el resultado serológico para el fragmento objetivo vírico conocido y el resultado para la prueba serológica complementaria, así como una estimación de la sensibilidad y del CI al 95% CI tanto global como para cada fragmento objetivo vírico.

Tabla 47 Sensibilidad de **cobas**® MPX para muestras positivas sin diluir conocidas con resultados de serología de confirmación

Dilución	Prueba	Frag. obj. vírico	Total de muestras positivas conocidas*	Número de reactivos por prueba	Estimación de sensibilidad	IC con porcentaje del 95%
Sin diluir	**MPX8800**	**Global**	1771	1771	100,00%	(99,78%, 100,00%)
Sin diluir	**MPX8800**	**VIH**	496	496	100,00%	(99,23%, 100,00%)
Sin diluir	**MPX8800**	**VHC**	747	747	100,00%	(99,49%, 100,00%)
Sin diluir	**MPX8800**	**VHB**	528	528	100,00%	(99,28%, 100,00%)

* En el análisis de sensibilidad solamente se incluyen muestras positivas conocidas con resultados de **cobas**® MPX válidos para muestras sin diluir y resultados de serología de confirmación.

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Plasma y suero
Cantidad mínima de muestra requerida de un donante vivo	1.000 µl
Cantidad de muestra procesada de un donante vivo	850 µl
Cantidad mínima de muestra requerida de un donante cadavérico	300 µl
Cantidad de muestra procesada de un donante cadavérico	150 µl
Duración de la prueba	Los resultados están listos en menos de 3,5 horas desde la carga de la muestra en el sistema.

Símbolos

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

Tabla 48 Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de PCR para diagnóstico de Roche

Age/DOB	Edad o fecha de nacimiento		Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	QS IU/PCR	UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
SW	Software auxiliar		Dispositivo no apto para autoexamen		
Assigned Range [copies/mL]	Intervalo asignado (copias/ml)	D	Distribuidor	SN	Número de serie
Assigned Range [IU/mL]	Intervalo asignado (UI/ml)		No deben reutilizarse	Site	Centro
EC REP	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Mujeres	Procedure Standard	Procedimiento estándar
BARCODE	Hoja de datos del código de barras		Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	STERILE EO	Esterilizado con óxido de etileno
LOT	Código de serie	GTIN	Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)		Almacenar en la oscuridad
	Riesgo biológico	IVD	Producto sanitario para diagnóstico *in vitro*		Límite de temperatura
REF	Número de catálogo	LLR	Límite inferior del intervalo asignado	TDF	Archivo de definición de pruebas
CE	Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico *in vitro*.		Hombres		Este lado hacia arriba
			Fabricante	Procedure UltraSensitive	Procedimiento ultrasensible
Collect Date	Fecha de recogida	CONTROL –	Control negativo	UDI	Identificación exclusiva del dispositivo
	Consulte las instrucciones de uso	NON STERILE	Sin esterilizar	ULR	Límite superior del intervalo asignado
Σ	Suficiente para <*n*> pruebas		Nombre del paciente	Urine Fill Line	Línea de llenado de orina
CONTENT	Contenido del kit		Número del paciente	Rx Only	Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.
CONTROL	Control		Abrir aquí		
	Fecha de fabricación	CONTROL +	Control positivo		Fecha de caducidad
	Dispositivo para pruebas cerca del paciente	QS copies / PCR	Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.		
	Dispositivo para autoexamen				

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante y distribuidores

Tabla 49 Fabricante y distribuidores



Fabricado en los Estados Unidos

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany
www.roche.com

Fabricado en los EE. UU.

Distributed by

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics
9115 Hague Road
Indianapolis, IN 46250-0457 USA
(For Technical Assistance call the
Roche Response Center
toll-free: 1-800-800-5973)

Marcas registradas y patentes

Este producto está cubierto por una o más patentes de EE. UU. con n.º 8962293, 9102924, 8609340, 9234250, 8097717, 8192958, 10059993 y 10358675, y por las patentes equivalentes extranjeras.

COBAS, COBAS OMNI, COBAS P, AMPERASE, AMPLIPREP, TAQMAN y TAQSCREEN son marcas comerciales de Roche.

La marca comercial "Armored RNA®" es propiedad de Asuragen, Inc. y Cenetron Diagnostics, Ltd.

El resto de nombres de productos y marcas comerciales son propiedad de sus respectivos propietarios.

La tecnología de prevención de contaminación cruzada de la enzima AmpErase está protegida por la patente estadounidense 7,687,247 propiedad de Life Technologies y con licencia para Roche Molecular Systems, Inc.

Algunos componentes de este producto están cubiertos por una o varias patentes de EE. UU. y por sus equivalentes internacionales propiedad de Novartis Vaccines and Diagnostics, Inc. y con licencia para Roche Molecular Systems, Inc. y F. Hoffman-La Roche Ltd.

Consulte http://www.roche-diagnostics.us/patents

Copyright

©2021 Roche Molecular Systems, Inc.

CE 0123

IVD

08092613001-05ES

Bibliografía

1. Global report. UNAIDS Report on the global AIDS epidemic. 2012.
2. Tebit DM, Arts EJ. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. Lancet Infect Dis. 2011;11:45-56.
3. Papathanasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT. Evolution and diversity of HIV-1 in Africa--a review. Virus Genes. 2003;26:151-163.
4. McCutchan FE. Global epidemiology of HIV. J Med Virol. 2006;78 Suppl 1:S7-S12.
5. Barin F, M'Boup S, Denis F, et al. Serological evidence for virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of west Africa. Lancet. 1985;2(8469-70):1387-1389.
6. Clavel F, Guétard D, Brun-Vézinet F, Sinka K. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. Science. 1986;233(4761):343-346.
7. Dougan S, Patel B, Tosswill JH, et al. Diagnoses of HIV-1 and HIV-2 in England, Wales, and Northern Ireland associated with west Africa. Sex Transm Infect. 2005;81:338-341.
8. Matheron S, Mendoza-Sassi G, Simon F, Olivares R, Coulaud JP, Brun-Vezinet F. HIV-1 and HIV-2 AIDS in African patients living in Paris. AIDS. 1997;11:934-936.
9. Valadas E, Franc L, Sousa S, Antunes F. 20 years of HIV-2 infection in Portugal: trends and changes in epidemiology. Clin Infect Dis. 2009;48:1166-1167.
10. Dietrich U, Maniar JK, Rüubsamen-Waigmann H. The epidemiology of HIV in India. Trends Microbiol. 1995;3:17-21.
11. Solomon S, Kumarasamy N, Ganesh AK, et al. Prevalence and risk factors of HIV-1 and HIV-2 infection in urban and rural areas in Tamil Nadu, India. Int J STD AIDS. 1998;9:98-103.
12. Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. Science. 1989;244(4902):359-362.
13. Mohd Hanafiah K, Groeger J, Flaxman AD, Wiersma ST. Global epidemiology of hepatitis C virus infection: new estimates of age-specific antibody to HCV seroprevalence. Hepatology. 2013;57:1333-1342.
14. Averhoff FM, Glass N, Holtzman D. Global burden of hepatitis C: considerations for healthcare providers in the United States. Clin Infect Dis. 2012;55 Suppl 1:S10-S15.
15. Trepo C, Pradat P. Hepatitis C virus infection in Western Europe. J Hepatol. 1999:31 Suppl 1: 80-83.
16. Lehman EM, Wilson ML. Epidemic hepatitis C virus infection in Egypt: estimates of past incidence and future morbidity and mortality. J Viral Hepat. 2009;16:650-658.
17. Chisari FV, Ferrari C. Viral Hepatitis. In: Nathanson N, editor. Viral Pathogenesis. 1st ed. Philadelphia:Lippincott - Williams & Wilkins, 1997; pp. 745-778.
18. Hollinger FB, Liang TJ. Hepatitis B Virus. In: Knipe DM, Howley PM, Griffin DE, et al., editors. Fields' Virology, vol. 1. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001: pp. 2971-3036.
19. WHO, Global prevalence of Hepatitis B Virus Infection. 2013; www.who.int/csr/disease/hepatitis/whocdscsrlyo20022/en/index1.html
20. WHO campaigns, World Hepatitis Day, More must be done to stop this silent killer. Available at http://www.who.int/campaigns/hepatitis-day/2013/en/index.html
21. Perkins HA, Busch MP. Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. Transfusion. 2010;50:2080-2099.

22. Dwyre DM, Fernando LP, Holland PV. Hepatitis B, hepatitis C and HIV transfusion-transmitted infections in the 21st century. Vox Sang. 2011;100:92-98.
23. Kleinman SH, Lelie N, Busch MP. Infectivity of human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus and risk of transmission by transfusion. Transfusion. 2009;49:2454-2489.
24. Hourfar MK, Jork C, Schottstedt V, et al.; German Red Cross NAT Study Group. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid testing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. Transfusion. 2008;48:1558-1566.
25. Roth WK, Busch P, Schuller A, et al. International survey on NAT testing of blood donations: expanding implementation and yield from 1999 to 2009. Vox Sang. 2012;102:82-90.
26. Zou S, Stramer SL, Notari EP, et al. Current incidence and residual risk of hepatitis B infection among blood donors in the United States. Transfusion. 2009;49:1609-1620.
27. Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. Transfusion. 2010;50:1495-1504.
28. Raimondo G, Allain JP, Brunetto MR, et al. Statements from the Taormina expert meeting on occult hepatitis B virus infection. J Hepatol. 2008;49:652-657.
29. Linauts S, Saldanha J, Strong DM. PRISM hepatitis B surface antigen detection of hepatitis B virus minipool nucleic acid testing yield samples. Transfusion. 2008;48:1376-1382.
30. Phikulsod S, Oota S, Tirawatnapong T, et al.; Working Group for NAT Study in Thai Blood Donations. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. Transfusion. 2009;49:1126-1135.
31. Stramer SL, Wend U, Candotti D, et al. Nucleic acid testing to detect HBV infection in blood donors. N Engl J Med. 2011;364:236-247.
32. 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.
33. 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.
34. 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.
35. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (NY). 1992;10:413-417.
36. Heid CA, Stevens J, Livak JK, Williams PM. Real time quantitative PCR. Genome Res. 1996;6:986-994.
37. Center for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th ed. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health HHS Publication No. (CDC) 21-1112, revised December 2009.
38. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.
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.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 5.0 (Mfg-US) 05/2021	Se han actualizado las advertencias de peligro. Se ha actualizado el apartado **Marcas registradas y patentes**. Se ha actualizado la dirección del distribuidor. Se ha incluido el símbolo Rx Only en la primera página. Se ha incluido la declaración “Fabricado en”. Se ha actualizado la página de símbolos armonizados. Se ha incluido el apartado **Asistencia técnica**. Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.