

Ensayo Aptima™ HCV Quant Dx

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Para exportación de EE. UU. solamente

Información general	2
Uso indicado	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	3
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos	7
Recogida y almacenamiento de muestras	8
Muestras conservadas en el Panther System	12
Transporte de las muestras	12
Panther System	13
Reactivos y materiales suministrados	13
Material necesario que debe adquirirse por separado	15
Materiales opcionales	16
Procedimiento de prueba del Panther System	16
Notas de procedimiento	21
Control de calidad	22
Calibración del ensayo	22
Controles negativo y positivo	22
Calibrador interno/control interno	22
Interpretación de los resultados	23
Limitaciones	24
Eficacia	25
Límite de detección (LDD) utilizando el Segundo Patrón Internacional de la OMS	25
Límite de detección en distintos genotipos de HCV	26
Rango lineal	27
Linealidad en genotipos de HCV	28
Límite inferior de cuantificación de detección utilizando el 2º Patrón Internacional de la OMS para HCV	28
Determinación del límite inferior de cuantificación (LIDC) en distintos genotipos de HCV	30
Precisión	32
Substancias potencialmente interferentes	32
Especificidad	34
Especificidad analítica	35
Muestras clínicas que contienen virus distintos del HCV	36
Repetibilidad de las muestras clínicas	36
Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras	37
Correlación de métodos	39
Acuerdo diagnóstico	39
Contaminación por arrastre	40
Panel de seroconversión	40
Bibliografía	41

Información general

Uso indicado

El ensayo Aptima HCV Quant Dx es una prueba de amplificación mediada por transcripción en tiempo real. Este ensayo se utiliza tanto para la detección y cuantificación del RNA del virus de la hepatitis C (HCV) en suero humano fresco y congelado de personas infectadas con HCV.

El plasma puede prepararse en ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), solución anticoagulante de citrato dextrosa (ACD) y tubos de preparación de plasma (PPT). El suero puede prepararse en tubos de suero y tubos separadores de suero (PPT). Las muestras se han analizado con el Panther system, en el que se ha realizado el procesamiento, la amplificación, la detección y la cuantificación automáticos de las muestras. Las muestras que contienen genotipos del HCV 1 a 6 se han validado para la detección y cuantificación en el ensayo.

El ensayo Aptima HCV Quant Dx está indicado para utilizarse como ayuda en el diagnóstico de la infección por el HCV. El ensayo puede utilizarse para confirmar la infección activa por el HCV en pacientes con resultado positivo de anticuerpos del HCV. La detección del RNA del HCV indica que el virus se está reproduciendo y, por lo tanto, es una prueba de infección activa.

El ensayo Aptima HCV Quant Dx está indicado para utilizarse como ayuda en el tratamiento de pacientes infectados con HCV que reciben tratamiento farmacológico antiviral para el HCV. El ensayo mide los niveles de RNA del HCV en el estado inicial, durante el tratamiento y después del tratamiento para determinar la respuesta viral sostenida (RVS). Los resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio significativos.

El ensayo Aptima HCV Quant Dx no está concebido para utilizarse como una prueba de cribado para la presencia de HCV en la sangre o hemoderivados.

Resumen y explicación de la prueba

El HCV es un patógeno de transmisión sanguínea y un problema de salud pública en todo el mundo, con hasta 170 millones de personas infectadas en todo el mundo y 350.000 muertes anuales a causa de enfermedades relacionadas con el HCV, que incluyen cirrosis y cáncer de hígado.^{1,2} La transmisión de HCV se realiza a través de la exposición a la sangre, hemoderivados o actividades con potencial de exposición percutánea.^{3,4} Genéticamente, el HCV contiene un genoma de RNA de cadena positiva de 9.500 nucleótidos que codifican proteínas estructurales (núcleo, glicoproteínas E1 y E2, proteína de canal iónico p7) y proteínas no estructurales (NS2, NS3, NS4A/B, NS5A/B) que son proteínas de replicación y dianas de los antivirales de acción directa.^{4,5} Dos regiones no traducidas (RNT) del genoma, 5'UTR y 3'UTR, actúan en las funciones de traducción y replicación/empaquetado respectivamente.⁵ El 5'-UTR es la región genómica más conservada en los seis genotipos principales del HCV.⁶

Clínicamente, existe una alta prevalencia de infección por el HCV asintomática y, a pesar de los anticuerpos detectables (normalmente dentro de 5-12 semanas), la infección crónica por el HCV se produce en hasta el 75 % de los pacientes.² Las algoritmos de las pruebas de laboratorio para el HCV exigen un diagnóstico de infecciones activas por HCV en individuos positivos para anticuerpos a través de la detección del RNA del HCV en plasma o suero para permitir el tratamiento adecuado.^{7,8,9}

La cuantificación del RNA de HCV (carga viral) ha desempeñado un papel fundamental en la definición y la monitorización del tratamiento del HCV adecuado. La respuesta viral sostenida (RVS) definida como ARD del HCV no detectado después de un tratamiento correcto es un marcador principal de la cura del HCV.^{10,11} En el tratamiento con interferón, la respuesta viral precoz (RVP), definida como una disminución de 2 log o mayor de la carga viral del HCV después de 12 semanas de tratamiento, y una respuesta viral rápida (RVR), definida como niveles no detectables de RNA de HCV después de 4 semanas de tratamiento, eran predictores positivos de la RVS.^{10,12,13} Estos marcadores de cinética viral se utilizan en los métodos de respuesta guiada que adaptan las opciones de tratamiento para detener o extender la terapia para lograr la RVS.¹⁴ Por otra parte, los estudios de seguimiento a largo plazo demostraron la durabilidad de la RVS después del tratamiento adecuado, y la erradicación viral evita el desarrollo de la enfermedad hepática.¹⁰

En la época de antivirales de acción directa (AAD), las mediciones de carga viral del HCV se realizan antes del tratamiento para establecer la carga viral en el estado inicial, durante el tratamiento para conocer la respuesta durante el tratamiento y post-tratamiento para evaluar la RVS (o recaída). Casi todos los pacientes logran respuestas virales al tratamiento a los AAD definidos por debajo del límite inferior de cuantificación (<LIDC) para el ensayo, seguido de porcentajes superiores al 90 % de RVS a las 12 semanas después del tratamiento con la mayoría de regímenes.^{8,11} La detección y cuantificación del RNA del HCV seguirá desempeñando un papel fundamental en el diagnóstico del HCV y el tratamiento de los pacientes bajo tratamiento antiviral.

Principios del procedimiento

El ensayo Aptima HCV Quant Dx es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos que utiliza tecnología de amplificación mediada por transcripción en tiempo real (TMA) para detectar y cuantificar el RNA del HCV antes del tratamiento para facilitar el diagnóstico o para establecer la carga viral en el estado inicial, así como para la medición de las repuestas durante el tratamiento y post-tratamiento. El ensayo se aplica a una región conservada del genoma del HCV para la detección y cuantificación de los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6. El ensayo cumple el 2º Patrón Internacional de la OMS sobre el virus de la hepatitis C (norma NIBSC 96/798).¹²

En el ensayo Aptima HCV Quant Dx intervienen tres pasos principales, que tienen lugar en un solo tubo en el Panther system: captura de la diana, amplificación de la diana por TMA y detección de los productos de amplificación (amplicón) mediante las sondas marcadas con fluorescencia (sondas fluorescentes).

Durante la captura de la diana, el RNA viral se aísla de las muestras. La muestra se trata con un detergente para solubilizar la envoltura vírica, desnaturalizar las proteínas y liberar el RNA genómico vírico. Los oligonucleótidos de captura hibridan con regiones altamente conservadas de RNA de HCV, si las hay, de la muestra analítica. A continuación, la diana hibridada se captura sobre micropartículas magnéticas que se separan de la muestra en un campo magnético. Los pasos de lavado eliminan los componentes extraños del tubo de reacción.

La amplificación de la diana se produce por TMA, que es un método de amplificación de ácidos nucleicos basada en transcripción que utiliza dos enzimas, transcriptasa inversa de MMLV (virus de la leucemia murina de Moloney) y RNA polimerasa T7. La transcriptasa inversa se utiliza para generar una copia de DNA (que contiene una secuencia promotora para la RNA polimerasa T7) de la secuencia diana. La RNA polimerasa T7 genera varias copias del amplicón de RNA a partir del molde de copia de DNA. El ensayo Aptima HCV Quant Dx utiliza el método de TMA para amplificar una parte del 5'UTR del genoma del

HCV. La amplificación de esta región se logra utilizando cebadores específicamente diseñados para amplificar los genotipos del HCV 1, 2, 3, 4, 5 y 6.

La detección se lleva a cabo utilizando unas sondas fluorescentes de ácidos nucleicos monocatenarios que están presentes durante la amplificación de la diana e hibridan específicamente con el amplicón en tiempo real. Cada sonda fluorescente tiene un fluoróforo y un extintor de fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente no se hibrida con el amplicón, el extintor de fluorescencia está muy cerca del fluoróforo y suprime la fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente se une al amplicón, el extintor se aleja del fluoróforo y emite una señal a una longitud de onda específica cuando es excitado por una fuente luminosa. Cuantas más sondas de fluorescencia hibridan con el amplicón, mayor es la señal fluorescente generada. El tiempo que tarda la señal fluorescente en llegar a un umbral especificado es proporcional a la concentración inicial de HCV. Cada reacción tiene un calibrador interno/control interno (internal control, IC) que controla las variaciones del procesamiento, la amplificación y la detección de las muestras. La concentración de una muestra la determina el Panther System Software utilizando las señales del HCV e IC correspondientes a cada reacción y comparándolas con la información de la calibración.

Advertencias y precauciones

- A. Para reducir el riesgo de obtener resultados inválidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System) antes de realizar este ensayo.

Información para los laboratorios



- B. **PRECAUCIÓN:** Los controles de este ensayo contienen plasma humano. El plasma es negativo para antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos anti-HCV, anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV-2 y antígeno de HIV cuando se analiza con procedimientos aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos estadounidense. Además, el plasma es no reactivo para RNA de HCV y RNA de HIV-1 cuando se analiza con pruebas de ácidos nucleicos aprobadas utilizando muestras combinadas. Todo el material proveniente de sangre humana debe considerarse potencialmente infeccioso y manipularse según las precauciones universales.^{15,16,17}
- C. Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HCV Quant Dx y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente el lugar siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- D. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- E. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin talco, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- F. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).
- G. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa local, estatal y comunitaria.^{15,16,17,18} Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.

- H. Los controles contienen azida sódica como conservante. No utilice tubos de metal para transferir reactivos. Si se desechan soluciones que contengan compuestos de azida sódica en un sistema de tuberías, dichas soluciones se deben diluir y eliminar enjuagando el desagüe con agua corriente abundante. Se recomienda seguir estas precauciones para evitar la acumulación de depósitos en tuberías de metal, donde pueden darse las condiciones necesarias para una explosión.
- I. Las buenas prácticas estándar para laboratorios moleculares incluyen la vigilancia medioambiental. Para vigilar el entorno de un laboratorio, se sugiere el procedimiento siguiente:
1. Consiga una torunda con punta de algodón y emparéjela con un tubo de alícuotas de muestras (specimen aliquot tube, SAT).
 2. Etiquete adecuadamente cada SAT.
 3. Llene cada SAT con 1 ml de diluyente de muestras Aptima.
 4. Para recoger muestras de superficie, humedezca ligeramente una torunda con agua desionizada libre de nucleasas.
 5. Ponga en contacto la torunda con la superficie de interés utilizando un movimiento vertical de arriba abajo. Gire la torunda una media vuelta mientras la mantiene en contacto con el lugar.
 6. Coloque inmediatamente la muestra de la torunda en el tubo y agite suavemente la torunda en el diluyente para extraer el material absorbido. Exprima la torunda sobre un lado del tubo de transporte para extraer tanto líquido como sea posible. Deseche la torunda y tape el tubo.
 7. Repita los pasos con las muestras de las torundas restantes.
 8. Analice la torunda con un ensayo molecular.



Información para las muestras

- J. Las muestras pueden ser infecciosas. Siga las precauciones universales^{15,16,17} para realizar este ensayo. Deben establecerse métodos correctos de manipulación y eliminación de material.¹⁸ Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HCV Quant Dx y en la manipulación de material infeccioso.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar la integridad de las mismas. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.

Información para los ensayos

- M. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.
- N. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes diferentes. Los fluidos del ensayo pueden ser de números de lote diferentes. Los controles y el calibrador pueden ser de números de lote diferentes.
- O. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- P. Tape y conserve todos los reactivos del ensayo a las temperaturas especificadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente pueden afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos y Procedimiento de prueba del Panther System* para obtener más información.
- Q. No combine ningún reactivo ni fluido del ensayo sin instrucciones específicas. No rellene los frascos de reactivos o de fluidos que contengan aún líquido. El Panther System verifica los niveles de reactivo.
- R. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

Nota: la comunicación sobre peligros refleja las clasificaciones de las fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información de comunicación sobre peligros específica de su país, consulte la Biblioteca de fichas de datos de seguridad (SDS) en www.hologicsts.com.

	<p>HCV VL Kit Controls <i>Azida de sodio 0,2 %</i> <i>Human Serum 95-100 %</i></p>
	<p>ATENCIÓN H312 - Nocivo en contacto con la piel H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P280 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección</p>

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

- A. La tabla siguiente muestra las condiciones de conservación y la estabilidad de los reactivos, los controles y el calibrador.

Reactivos	Conservación sin abrir	Kit abierto (reconstituido)	
		Conservación	Estabilidad
Reactivo de amplificación qHCV	De 2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de amplificación qHCV	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^a
Reactivo enzimático qHCV	De 2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de promotor qHCV	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^a
Reactivo promotor qHCV	De 2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de promotor qHCV	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^a
Reactivo de captura qHCV	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^a
qHCV NC CONTROL – (Control negativo)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas
qHCV LPC CONTROL + (Control positivo bajo)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas
qHCV HPC CONTROL + (Control positivo alto)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas
qHCV PCAL (Calibrador positivo)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas

^a Al retirarlos del Panther System, los reactivos se deben volver a guardar inmediatamente a sus temperaturas de conservación adecuadas.

- B. Deseche todos los reactivos reconstituidos y el reactivo de captura (target capture reagent, TCR) no utilizados después de 30 días o de la fecha de caducidad del lote maestro, lo que ocurra primero.
- C. Los reactivos almacenados en el Panther system tienen 72 horas de estabilidad cargados. Los reactivos pueden cargarse en el Panther System hasta 5 veces. El Panther System registra cada vez que se cargan los reactivos.
- D. Tras descongelar el calibrador, la solución debe ser transparente, esto es, no debe estar turbia ni presentar precipitados.
- ⚠ E. Tanto el reactivo promotor como el reactivo promotor reconstituido son fotosensibles. Proteja estos reactivos de la luz durante la conservación y la preparación para el uso.

Recogida y almacenamiento de muestras

Nota: Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes potencialmente infecciosos. Siga las precauciones universales.

Nota: Tenga cuidado para evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.

Nota: Para la conservación, solo se recomiendan tubos secundarios de plástico.

Pueden utilizarse muestras de sangre completa recogidas en los tubos de cristal o plástico siguientes:

- Tubos con anticoagulantes de EDTA o de ácido citrato dextrosa (ACD) o
- Tubos de preparación de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPTs)
- Tubos de suero
- Tubos separadores de suero (Serum Separator Tubes, SSTs)

En el caso del suero, deje que se coagule antes de seguir procesándolo.

A. Recogida de las muestras

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 6 horas posteriores a la recogida de las muestras. Separe el plasma o el suero del sedimento de eritrocitos siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo utilizado. El plasma o el suero pueden analizarse en el Panther System en un tubo primario o transferirse a un tubo secundario como el tubo de alícuotas de muestras (Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima. Para obtener un volumen de reacción de 500 µl, el volumen mínimo de plasma o suero para los tubos de recogida primarios es de hasta 1200 µl, mientras que para los tubos secundarios es de 700 µl. En la siguiente tabla se identifican los requisitos de volumen muerto para cada tipo de tubo primario y secundario.

Tubo (tamaño y tipo)	Volumen muerto en Panther
Tubo de alícuotas de muestras (Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm con gel	0,3 ml
16x100 mm con gel	0,7 ml

Si no se analizan inmediatamente, el plasma y el suero pueden conservarse de acuerdo con las especificaciones siguientes. Si se transfieren a un tubo secundario, el plasma o el suero pueden congelarse a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. No lleve a cabo más de tres ciclos de congelación-descongelación. No congele las muestras en tubos de recogida primarios de suero, EDTA o ACD.

B. Condiciones de conservación de las muestras

1. Muestras de plasma con EDTA y ACD

La sangre completa puede conservarse entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y debe centrifugarse en las 6 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el plasma puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 24 horas,
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo secundario a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 60 días.

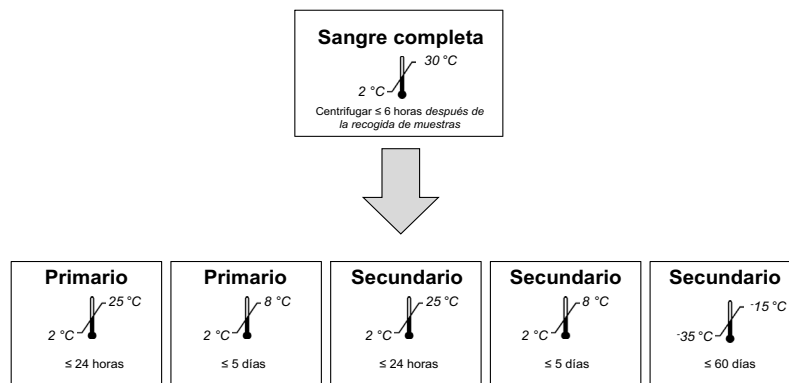


Figura 1. Condiciones de almacenamiento para tubos con EDTA/ACD

2. Muestras de PPT

La sangre completa puede conservarse entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ y debe centrifugarse en las 6 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el plasma puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 24 horas,
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 60 días.

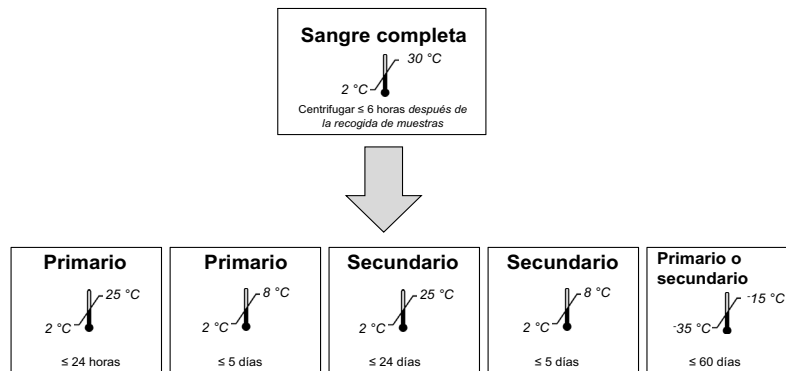


Figura 2. Condiciones de conservación de los PPT

3. Muestras en tubos de suero

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 6 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el suero puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas,
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo secundario a -20 °C durante un máximo de 60 días.

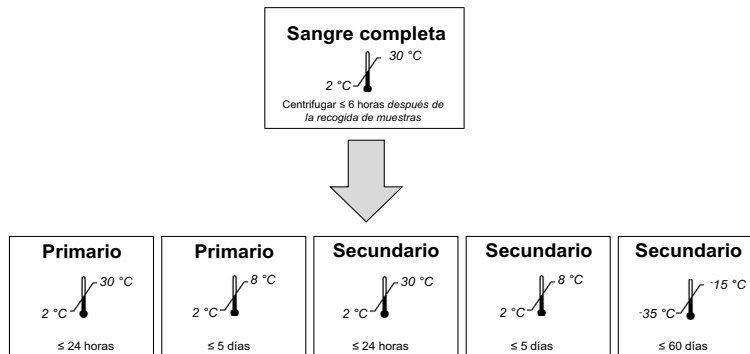


Figura 3. Condiciones de conservación de los tubos de suero

4. Muestras en SST

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 6 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el suero puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas,
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, a -20 °C durante un máximo de 60 días.

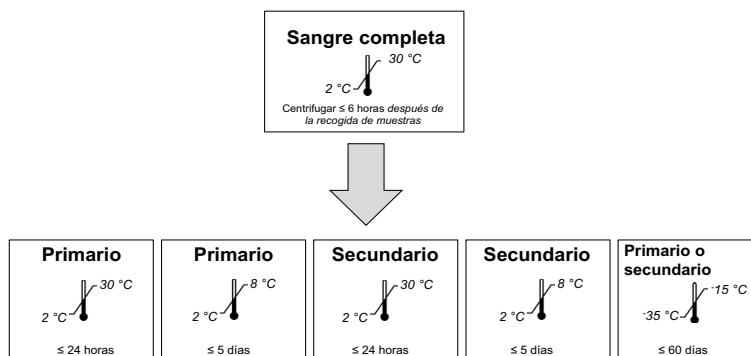


Figura 4. Condiciones de conservación de los SST

C. Conservación a largo plazo de muestras congeladas

Las muestras de suero o plasma pueden conservarse en SAT a -70 °C hasta un máximo de 60 días.

D. Dilución de las muestras de plasma y suero

Las muestras de plasma y suero pueden diluirse en SAT o en un tubo secundario para su análisis en el Panther System. Consulte el *Procedimiento de prueba del Panther System*, paso E.6 para obtener más información.

⚠ *La dilución de las muestras de plasma y suero sólo se puede utilizar para resultados cuantitativos. No diluya las muestras de suero o plasma para obtener resultados del diagnóstico.*

Nota: *Las muestras que se diluyan deberán analizarse inmediatamente después de su dilución. No congele las muestras diluidas.*

Muestras conservadas en el Panther System

Las muestras pueden dejarse sin tapar en el Panther System durante un máximo de 8 horas. Las muestras pueden retirarse del Panther System y analizarse siempre que el tiempo total transcurrido en el instrumento no supere las 8 horas antes de que el Panther System pipetee la muestra.

Transporte de las muestras

Mantenga las condiciones de conservación de las muestras como se describe en *Recogida y almacenamiento de muestras*.

Nota: Las muestras deben enviarse de acuerdo con la normativa de transporte nacional, internacional y regional aplicable.

Panther System

Los reactivos del ensayo Aptima HCV Quant Dx para uso con el Panther System se indican a continuación. Junto al nombre del reactivo se muestran también los símbolos de identificación del reactivo.

Reactivos y materiales suministrados

Nota: Para obtener información sobre cualquier aviso de riesgo o precaución que pueda estar asociado a los reactivos, consulte la Biblioteca de hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheet Library) en www.hologic.com/sds.

Kit del ensayo **Aptima HCV Quant Dx**, 100 pruebas, REF. PRD-03506
(1 caja de ensayo, 1 kit de calibrador y 1 kit de controles)

Es posible realizar el pedido de calibradores y controles por separado. Consulte los números de catálogo correspondientes a continuación.

Caja del ensayo Aptima HCV Quant Dx

(conservar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	Reactivo de amplificación qHCV <i>Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón.</i>	1 vial
E	Reactivo enzimático qHCV <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa secadas en solución de tampón HEPES.</i>	1 vial
PRO	Reactivo promotor qHCV <i>Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón.</i>	1 vial
AR	Solución de reconstitución de amplificación qHCV <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Solución de reconstitución de promotor qHCV <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Solución de reconstitución de promotor qHCV <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reactivo de captura qHCV <i>Ácidos nucleicos en una solución salina de tampón con fase sólida, ácidos nucleicos no infecciosos y calibrador interno.</i>	1 x 72,0 ml
	Collares de reconstitución	3
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja

Kit de calibrador Aptima HCV Quant Dx (REF. PRD-03507)
(conservar entre -15 °C y -35 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	Calibrador positivo qHCV <i>Transcrito en solución de tampón.</i>	5 x 2,5 ml
	Etiqueta de código de barras del calibrador	—

Kit de controles Aptima HCV Quant Dx (REF. PRD-03508)
(conservar entre -15 °C y -35 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
NC	Control negativo qHCV <i>Plasma humano desfibrinado negativo en HCV con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 0,8 ml
LPC	Control positivo bajo qHCV <i>Armored RNA de HCV no infeccioso en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 0,8 ml
HPC	Control positivo alto qHCV <i>Armored RNA de HCV no infeccioso en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 0,8 ml
	Etiqueta de código de barras de los controles	—

Material necesario que debe adquirirse por separado

Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.

Material	REF.
Panther System	—
Kit del ciclo del Panther para ensayos en tiempo real (sólo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5.000 pruebas)
<i>Kit de fluidos del ensayo Aptima (también denominado Kit de fluidos universales)</i> <i>contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	303014 (1.000 pruebas)
<i>Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Juego de bolsas de desechos Panther</i>	902731
<i>Tapa del recipiente de desechos Panther</i>	504405
O bien, el kit del ciclo del Panther System <i>(cuando se procesan ensayos TMA no en tiempo real junto a ensayos TMA en tiempo real) contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos y fluidos del ensayo</i>	303096 (5.000 pruebas)
Puntas, conductoras de 1.000 µl, para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para reactivos	
<i>Fascos de reconstitución de reactivos deamplificación, enzimático y promotor</i>	<i>CL0041 (100 tapones)</i>
<i>Frasco de TCR</i>	<i>CL0040 (100 tapones)</i>
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Toallitas sin pelusa	—
Pipeta	—
Puntas	—
Opciones para el tubo de recogida primario:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrífuga	—
Mezclador vórtex	—

Materiales opcionales

Material	REF.
Opciones para el tubo secundario:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubos de alícuotas de muestras Aptima (SAT) (paquete de 100)	503762
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100)	504415
tapón para SAT	
Diluyente de muestras Aptima	PRD-03003
Kit de diluyente de muestras Aptima	PRD-03478
contiene diluyente de muestras, 100 SAT y 100 tapones	
Pipetas de transferencia	—
Paneles comerciales, por ejemplo:	—
HCV de control de calidad para diagnóstico molecular o	
Paneles de HCV SeraCare ACCURUN	
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	—

Procedimiento de prueba del Panther System

Nota: Consulte el *Panther System Operator's Manual (Manual del usuario del Panther System)* para obtener más información sobre los procedimientos.

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 % - 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.
2. Limpie una superficie de trabajo aparte para preparar las muestras. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).
3. Limpie los pipeteadores que vaya a utilizar. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).

B. Preparación del calibrador y de los controles

Deje que el calibrador y los controles alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlos de la manera siguiente:

1. Saque el calibrador y los controles del almacenamiento de conservación (entre -15 °C y -35 °C) y póngalos entre 15 °C y 30 °C. Durante el proceso de descongelación, invierta suavemente cada tubo para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.

Opción. Los tubos del calibrador y de los controles pueden ponerse en un balancín para tubos para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.

Nota: Evite que se cree demasiada espuma al invertir el calibrador y los controles. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

2. Cuando el contenido de los tubos se haya descongelado, seque la parte exterior del tubo con un paño desechable limpio y seco.
3. Para evitar la contaminación, no abra los tubos.

C. Reconstitución y preparación de reactivos de un nuevo kit

Nota: La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de iniciar cualquier tarea en el Panther System.

1. Para preparar reactivo de captura (Target Capture Reagent, TCR), haga lo siguiente:
 - a. Saque el TCR del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C). Asegúrese de que el número de lote del frasco de TCR coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Agite de inmediato y enérgicamente el frasco de TCR 10 veces. Deje que el frasco de TCR permanezca entre 15 °C y 30 °C para que se caliente durante un mínimo de 45 minutos. Durante este periodo, agite e invierta el frasco de TCR al menos cada 10 minutos.

Opción. El frasco de TCR puede prepararse en un balancín para tubos siguiendo estas instrucciones: Saque el TCR del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C) y agítelo de inmediato y enérgicamente 10 veces. Ponga el frasco de TCR en un balancín para tubos y déjelo entre 15 °C y 30 °C para que se caliente durante un mínimo de 45 minutos

- c. Asegúrese de que todo el precipitado esté en la solución y que las partículas magnéticas estén suspendidas antes del uso.
2. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y promotor, haga lo siguiente:
 - a. Saque los reactivos liofilizados y las soluciones de reconstitución correspondientes del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C). Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado.
 - b. Asegúrese de que las etiquetas de los frascos de la solución de reconstitución y del reactivo liofilizado sean del mismo color. Compruebe los números de lote en la Hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que estén emparejados los reactivos adecuados.
 - i. Abra el vial de reactivo liofilizado retirando el precinto metálico y el tapón de goma.
 - ii. Inserte firmemente el extremo con muesca del collar de reconstitución (negro) en el vial (Figura 5, paso 1).
 - iii. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - iv. Ponga el frasco de solución de reconstitución sobre una superficie estable (p. ej., un banco). A continuación, invierta el frasco de reactivo liofilizado sobre el frasco de solución de reconstitución y acople firmemente el collar en el frasco de solución de reconstitución (Figura 5, paso 2).
 - v. Invierta lentamente los frascos acoplados (el vial acoplado al frasco de solución) para permitir que la solución pase al vial de cristal (Figura 5, paso 3).
 - vi. Agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos (Figura 5, paso 4).

- vii. Espere al menos 30 minutos para que el reactivo liofilizado entre en la solución.
- viii. Una vez que el reactivo liofilizado haya entrado en la solución, agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos y, a continuación, balancee ligeramente la solución en el interior del frasco de cristal hacia delante y hacia atrás para mezclarla bien.
- c. Inclíne lentamente de nuevo los frascos acoplados para hacer que toda la solución vuelva al frasco de solución de reconstitución (Figura 5, paso 5).
- d. Retire con cuidado el collar de reconstitución y el frasco de cristal (Figura 5, paso 6).
- e. Vuelva a tapar el frasco. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (Figura 5, paso 7).
- f. Deseche el collar de reconstitución y el frasco de cristal (Figura 5, paso 8).

Advertencia: Evite que se forme demasiada espuma al reconstituir los reactivos. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

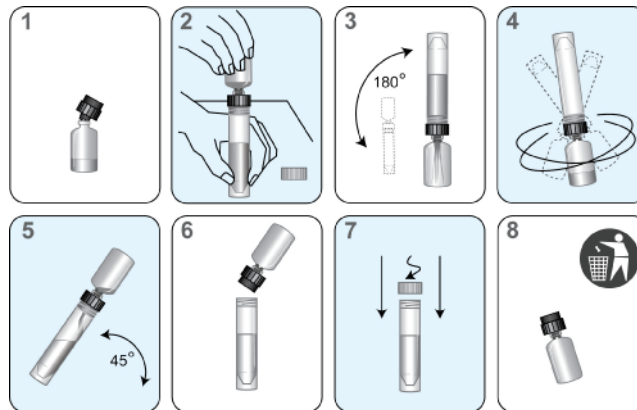


Figura 5. Proceso de reconstitución de los reactivos

D. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos

1. Saque los reactivos previamente preparados del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C).
2. Los reactivos de amplificación, enzimático, promotor y TCR previamente preparados deben alcanzar una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes del inicio del ensayo.
3. En el caso del TCR previamente preparado, lleve a cabo el paso C.1 descrito más arriba antes de cargarlo en el sistema.
4. Agite e invierta los reactivos de amplificación, enzimático y promotor para mezclarlos bien antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme demasiada espuma al invertir los reactivos.
5. No rellene las botellas de reactivos. El Panther System reconocerá y rechazará las botellas que se hayan rellenado.

E. Manipulación de muestras

1. Asegúrese de que las muestras procesadas en los tubos primarios o las muestras sin diluir en los tubos secundarios se hayan conservado correctamente de acuerdo con Recogida y almacenamiento de muestras en la página 8.
2. Asegúrese de descongelar por completo las muestras congeladas. Agite con un mezclador vórtex las muestras descongeladas de 3 a 5 segundos para mezclarlas bien.
3. Deje que las muestras alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlas. Consulte *Muestras conservadas en el Panther System* para obtener más información sobre la conservación en el instrumento.
4. Asegúrese de que cada tubo de recogida contenga hasta 1200 µl de muestra o de que cada SAT contenga al menos 700 µl de muestra. Consulte la tabla que se proporciona en *Recogida de las muestras* en la página 8 para identificar los requisitos de volumen muerto para cada tipo de tubo primario y secundario. Si es necesario diluir las muestras, consulte el paso E.6 descrito más abajo para obtener más información.
5. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla, centrifugue cada muestra entre 1000 y 3000g durante 10 minutos. No retire los tapones. La presencia de burbujas en el tubo puede afectar a la detección del nivel por parte del Panther System.

Consulte *Preparación del sistema*, paso F.2, para obtener información sobre la carga de la gradilla y la retirada de los tapones.

6. Diluya una muestra de plasma o suero en la proporción 1:3 en un SAT o 1:100 en un tubo secundario.

Las muestras pueden diluirse en un tubo secundario para su análisis en el Panther System.

- ⚠ La dilución de muestras de plasma solamente puede utilizarse para obtener resultados cuantitativos. No diluya muestras de plasma para obtener resultados diagnósticos.

Nota: Las muestras que se diluyan deberán analizarse inmediatamente después de su dilución.

a. Dilución de muestras de bajo volumen

El volumen de las muestras de plasma puede aumentarse hasta el volumen mínimo requerido (700 µl) utilizando el diluyente de muestras Aptima. Las muestras con un mínimo de 240 µl de plasma pueden diluirse con dos partes de diluyente de muestras (1:3) de la manera siguiente:

- i. Vierta 240 µl de muestra en un SAT.
- ii. Añada 480 µl de diluyente de muestras Aptima.
- iii. Tape el tubo.
- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

Las muestras diluidas 1:3 pueden analizarse utilizando la opción 1:3 del Panther System (consulte el *Panther System Operator's Manual* [Manual del usuario del Panther System] para obtener más información). El software indicará automáticamente el resultado correspondiente a la muestra sin diluir aplicando el factor de dilución. Estas muestras se marcarán como muestras diluidas.

b. Dilución de muestras de altos títulos

Si el resultado de una muestra está por encima del límite superior de cuantificación, puede diluirse con 99 partes de diluyente de muestras Aptima (1:100) de la manera siguiente:

- i. Vierta 30 µl de muestra en un SAT o en un tubo secundario.
- ii. Añada 2970 µl de diluyente de muestras Aptima.
- iii. Tape el tubo.
- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

Las muestras diluidas 1:100 pueden analizarse utilizando la opción 1:100 del Panther System (consulte el *Panther System Operator's Manual* [Manual del usuario del Panther System] para obtener más información). El software indicará automáticamente el resultado correspondiente a la muestra sin diluir aplicando el factor de dilución. Estas muestras se marcarán como muestras diluidas.

Nota: Para las muestras diluidas con concentraciones sin diluir superiores al LSDC, los resultados se emitirán con notación científica.

F. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema siguiendo las instrucciones del *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System) y las *Notas de procedimiento*. Asegúrese de que se utilicen las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.
2. Cargue las muestras en la gradilla de muestras. Lleve a cabo los pasos siguientes para cada tubo de muestra (muestra y, cuando sea necesario, calibrador y controles).
 - a. Afloje el tapón de un tubo de muestras, pero no la retire aún.

Nota: Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles. Afloje suavemente los tapones de los tubos de muestras.

- b. Cargue el tubo de la muestra en la gradilla de muestras.
- c. Repita los pasos 2.a y 2.b para cada muestra restante.
- d. Una vez cargadas las muestras en la gradilla de muestras, retire y deseche los tapones de todos los tubos de muestras de una gradilla de muestras. Para evitar la contaminación, no pase ningún tapón sobre otras gradillas de muestras o tubos de muestras.
- e. Si es necesario, utilice una pipeta de transferencia desechable nueva para eliminar las burbujas y la espuma.
- f. Cuando haya retirado el último tapón, cargue la gradilla de muestras en un compartimento de muestras.

Nota: Antes de cargar la gradilla de muestras en un compartimento de muestras, fije el retén de las muestras si está procesando otros ensayos y tipos de muestras al mismo tiempo.

- g. Repita los pasos 2.a al 2.f con la gradilla de muestras siguiente.

Notas de procedimiento

A. Calibrador y controles

1. Los tubos del calibrador positivo qHCV, del control positivo bajo qHCV, del control positivo alto qHCV y del control negativo qHCV pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla de muestras y en cualquier carril del compartimento de muestras del Panther System. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
 - a. El sistema esté procesando actualmente el calibrador y los controles.
 - b. Se registran resultados válidos para el calibrador y los controles en el sistema.
2. Una vez que los tubos de calibrador y controles se hayan pipeteado y estén procesándose para el kit de reactivos del ensayo Aptima HCV Quant Dx, las muestras podrán analizarse con el kit reconstituido asociado durante un periodo máximo de 24 horas **a menos que**:
 - a. El resultado del calibrador o los resultados de los controles no sean válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado ha excedido los límites de estabilidad.
3. El calibrador y cada tubo de control se puede utilizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.

B. Talco de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

Control de calidad

Los usuarios pueden invalidar resultados de ciclos o muestras si observan y documentan dificultades técnicas o relacionadas con el usuario o el instrumento durante la realización del ensayo. En este caso, es necesario volver a analizar las muestras.

Calibración del ensayo

Para generar resultados válidos, el ensayo debe calibrarse. Se procesa por triplicado un único calibrador positivo cada vez que se carga un kit de reactivos en el Panther System. Una vez establecida la calibración, será válida durante un máximo de 24 horas. El software del Panther System avisa al usuario cuando hay que realizar una calibración. El usuario escanea un coeficiente de calibración en la hoja de códigos de barras del lote maestro incluida en cada kit de reactivos.

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación del calibrador. Si son válidas menos de dos de las réplicas del calibrador, el software invalida automáticamente el ciclo. Las muestras de un ciclo invalidado se pueden volver a analizar utilizando un calibrador recién preparado y controles recién preparados.

Controles negativo y positivo

Para generar resultados válidos, debe analizarse un conjunto de controles del ensayo. Se deben analizar una réplica del control negativo, una del control positivo bajo y una del control positivo alto cada vez que se carga un kit de reactivos en el Panther System. Una vez establecidos los controles, serán válidos durante un máximo de 24 horas. El software del Panther System avisa al usuario cuando se requieren controles.

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles. Para generar resultados válidos, el control negativo debe dar un resultado de «No detectado» y los resultados de los controles positivos deben estar dentro de unos parámetros predefinidos. Si cualquiera de los controles tiene un resultado no válido, el software invalida automáticamente el ciclo. Las muestras de un ciclo invalidado se pueden volver a analizar utilizando un calibrador recién preparado y controles recién preparados.

Calibrador interno/control interno

Cada muestra contiene un calibrador interno/control interno (Internal Control, IC). Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación del IC. Si el resultado del IC no es válido, el resultado de la muestra se invalida. Todas las muestras con un resultado de IC no válido se deberán volver a analizar para obtener un resultado válido.

El software del Panther System se ha diseñado para verificar con precisión los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System).

Interpretación de los resultados

El Panther System determina automáticamente la concentración de RNA de HCV en muestras y controles comparando los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de RNA de HCV se notifican en IU/ml y \log_{10} IU/ml. La interpretación de los resultados se indica en la Tabla 1. Si se utiliza la dilución 1:3 o 1:100 para las muestras diluidas, el Panther System calcula automáticamente la concentración de HCV correspondiente a la muestra sin diluir, multiplicando la concentración diluida por el factor de dilución. Las muestras diluidas se indican como diluidas.

Nota: En el caso de las muestras diluidas, los resultados indicados como «no detectado» o «< 10 detectados» pueden generarse diluyendo una muestra con una de las concentraciones indicadas más arriba, pero cercana al LDD (límite de detección) o al LIDC (límite inferior de cuantificación). Si no se obtiene un resultado cuantitativo, se recomienda recoger y analizar otra muestra sin diluir.

El Panther System no ofrece un resultado cualitativo (esto es, «reactivo» o «no reactivo») para uso diagnóstico. El usuario debe interpretar la concentración de RNA de HCV notificada para generar un resultado cualitativo (Tabla 1). Las muestras con resultados indicados de «no detectado» son no reactivas para RNA de HCV. Las muestras con resultados de «< 10 detectados» con resultados dentro del rango lineal, y > 100.000.000 (límite superior de la cuantificación) indican que se detectó RNA de HCV y, por lo tanto, las muestras son reactivas para RNA de HCV.

Tabla 1: Interpretación de resultados

Resultado notificado del ensayo Aptima HCV Quant Dx		Interpretación de las concentraciones de RNA de HCV	Interpretación cualitativa diagnóstica del usuario ^a
UI/ml	Valor \log_{10} ^b		
No detectado	No detectado	RNA de HCV not detectado.	No reactivo para RNA de HCV
< 10 detectado	< 1,00	Se detecta RNA de HCV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC)	Reactivo para RNA de HCV
10 a 100.000.000	1,00 a 8,00	La concentración de RNA de HCV está dentro del rango lineal de 10 a 100.000.000 UI/ml.	Reactivo para RNA de HCV
> 100.000.000	> 8,00	La concentración de RNA de HCV está por encima del límite superior de cuantificación (LSDC)	Reactivo para RNA de HCV
No válido ^c	No válido ^c	Hubo un error en la generación del resultado. Hay que volver a analizar la muestra. Es necesario volver a analizar la muestra.	No válido

^a Se puede hacer una interpretación diagnóstica a partir de muestras no diluidas de suero o plasma.

^b El valor se muestra con dos dígitos decimales.

^c Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento de las muestras.

Eficacia**Límite de detección (LDD) utilizando el Segundo Patrón Internacional de la OMS**

El límite de detección (LDD) se define como la concentración de RNA de HCV que se detecta con una probabilidad de 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI.¹⁹

El LDD se determinó analizando paneles del Segundo Patrón Internacional de la OMS para RNA del virus de la hepatitis C (NIBSC 96/798 genotipo 1) diluidos en plasma y suero humano negativo para HCV. Se procesaron un mínimo de 36 réplicas de cada dilución en cada uno de los tres lotes de reactivos para un mínimo de 108 réplicas por cada dilución. Se realizó un análisis Probit para generar los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 2. El límite de detección del ensayo Aptima HCV Quant Dx utilizando el Segundo Patrón Internacional de la OMS para HCV es de 4,3 UI/ml para plasma y 3,9 UI/ml para suero.

Tabla 2: Límite de detección utilizando el Segundo Patrón Internacional de la OMS para HCV

Límite de detección previsto	Concentración (UI/ml)	
	Plasma	Suero
10 %	0,3	0,3
20 %	0,4	0,5
30 %	0,5	0,6
40 %	0,7	0,8
50 %	0,9	1,0
60 %	1,1	1,2
70 %	1,5	1,5
80 %	2,0	2,0
90 %	3,0	2,9
95 %	4,3	3,9

Límite de detección en distintos genotipos de HCV

Para los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 en plasma y suero humano negativo para HCV, el LDD se determinó analizando diluciones de muestras clínicas positivas para HCV. Las concentraciones se determinaron con un ensayo comparador aprobado por la CE. Se procesaron un mínimo de 20 réplicas de cada muestra del panel en cada uno de los lotes de reactivo para un mínimo de 60 réplicas por muestra del panel. Se realizó un análisis Probit para generar el 50 % y el 95 % de los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Límite de detección en distintos genotipos de HCV utilizando muestras clínicas

Genotipo	Límite de detección previsto	Concentración (UI/ml)	
		Plasma	Suero
1	50 %	0,8	1,3
	95 %	3,8	5,1
2	50 %	1,0	1,1
	95 %	2,8	4,0
3	50 %	1,1	1,0
	95 %	4,3	3,4
4	50 %	1,3	0,7
	95 %	4,8	2,3
5	50 %	0,8	0,9
	95 %	2,1	3,2
6	50 %	0,6	0,9
	95 %	3,9	3,9

Rango lineal

El rango lineal se estableció analizando paneles de Armored RNA de HCV diluidos en plasma y suero humano negativo para HCV según el documento EP06-A del CLSI.²⁰ Las concentraciones de los paneles fueron de 1,0 a 8,2 log UI/ml. El ensayo Aptima HCV Quant Dx demostró linealidad en todo el rango analizado, con un límite superior de cuantificación (LSDC) de 8,0 log UI/ml, tal como se muestra en la Figura 6.

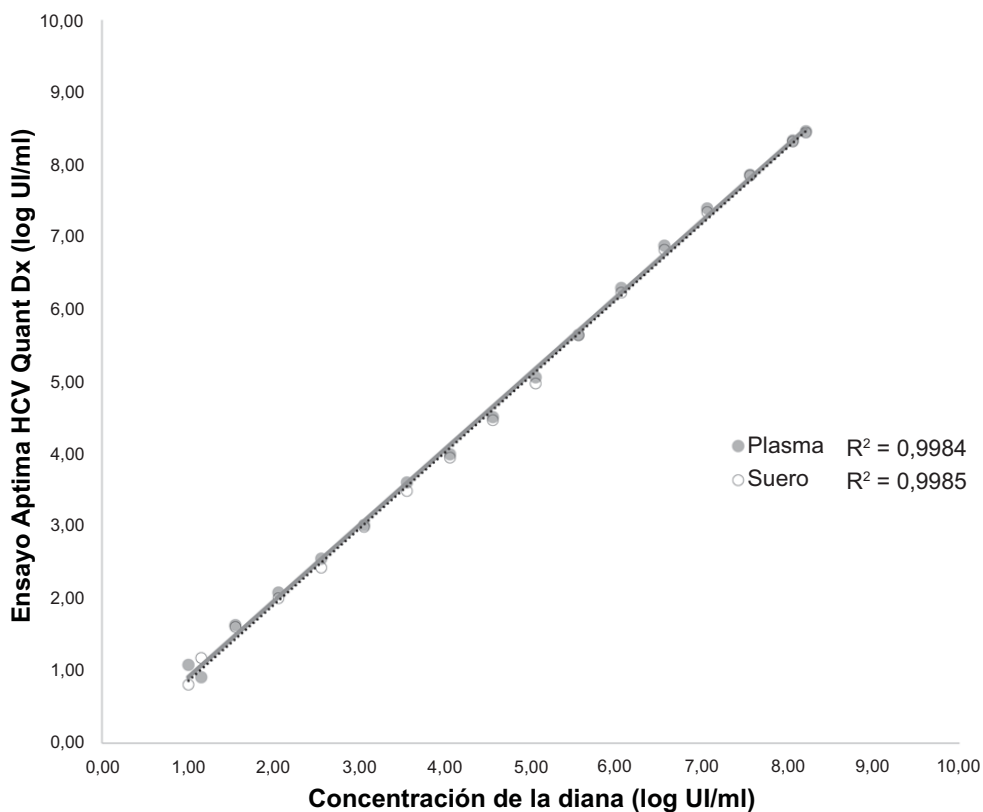


Figura 6. Linealidad en plasma y suero

Linealidad en genotipos de HCV

La respuesta lineal de los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 se confirmó analizando paneles compuestos por transcrito de HCV diluido en tampón a concentraciones de entre 1,36 log UI/ml hasta 7,36 log UI/ml. Los análisis se realizaron en tres sistemas Panther System con tres lotes de reactivo. Se observó linealidad en el rango comprobado para todos los tipos analizados, tal como se muestra en la Figura 7.

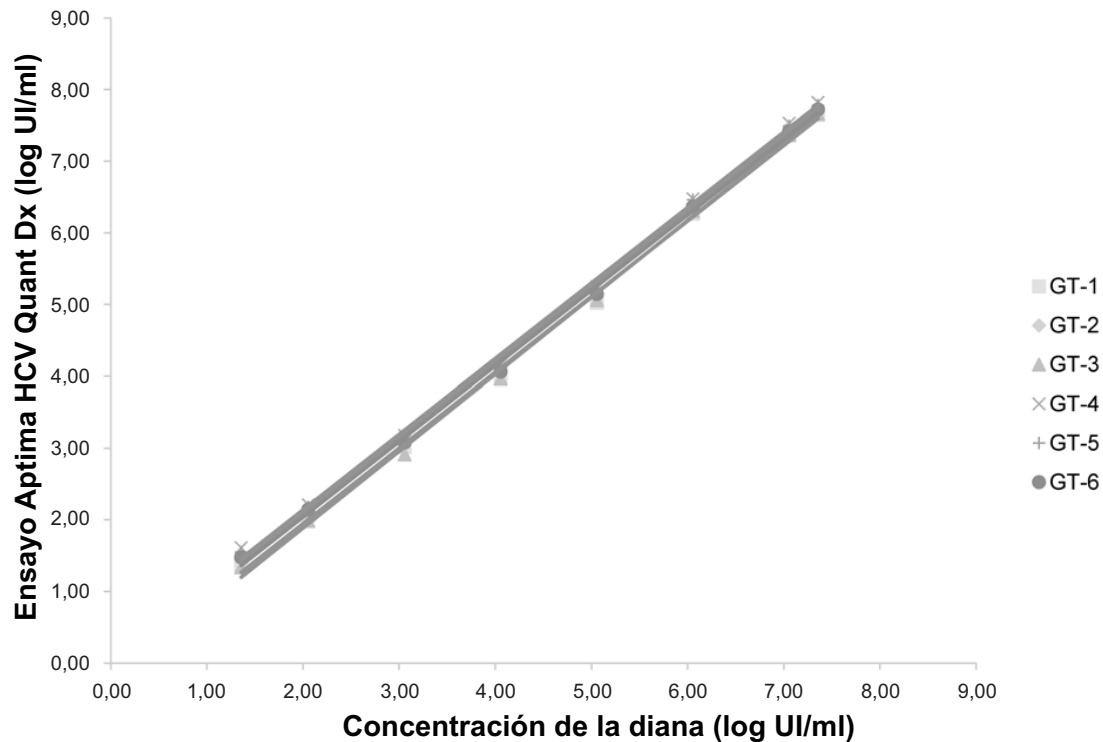


Figura 7. Linealidad en los genotipos HCV 1 al 6

Límite inferior de cuantificación de detección utilizando el 2º Patrón Internacional de la OMS para HCV

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja a la que se cuantifica el RNA de HCV de manera fiable dentro de un margen total de error, según el documento EP17-A2 del CLSI.¹⁹ El error total se calculó a través de dos métodos: Error analítico total (TAE) = sesgo + 2SD, y Error total (TE) = SQRT(2) x 2SD. Para asegurar la exactitud y la precisión de las mediciones, el error total del ensayo Aptima HCV Quant Dx se estableció a 1 log UI/ml (esto es, al LIDC, la diferencia entre dos mediciones de más de 1 log UI/ml es estadísticamente significativa).

El LIDC se determinó analizando paneles del Segundo Patrón Internacional de la OMS para el RNA del virus de la hepatitis C (NIBSC 96/798 genotipo 1) diluidos en plasma y suero humano negativo para HCV. Se procesaron un mínimo de 36 réplicas de cada dilución en cada uno de los tres lotes de reactivos para un mínimo de 108 réplicas por cada dilución. Los resultados del lote de reactivos con la concentración más alta igual o superior al límite de detección que cumple los requisitos de TE y TAE se muestran en la Tabla 4 para plasma y la Tabla 5 para suero. El LIDC del 2º Patrón Internacional de la OMS es de 7 UI/ml (0,82 log UI/ml) para plasma y 9 UI/ml (0,93 log UI/ml) para suero, tal como se resume en la Tabla 6. Se verificó el LIDC en varios genotipos (consulte la sección siguiente "Determinación del límite inferior de cuantificación [LIDC] en genotipos de HCV"). Estos datos de genotipos establecen el LIDC del ensayo a 10 UI/ml.

Tabla 4: LIDC utilizando el Segundo Patrón Internacional de la OMS para HCV diluido en plasma

Lote de reactivos	Concentración diana	Concentración diana	Aptima HCV Quant Dx	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)
1	3	0,48	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	6	0,78	0,73	0,31	-0,04	0,88	0,67
	8	0,90	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	3	0,48	0,37	0,32	-0,11	0,92	0,75
	6	0,78	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	8	0,90	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,48	0,46	0,25	-0,01	0,71	0,52
	6	0,78	0,76	0,34	-0,02	0,95	0,69
	8	0,90	0,89	0,26	-0,01	0,73	0,53

DE = desviación estándar

Tabla 5: LIDC utilizando el Segundo Patrón Internacional de la OMS para HCV diluido en suero

Lote de reactivos	Concentración diana	Concentración diana	Aptima HCV Quant Dx	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)
1	3	0,48	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	6	0,78	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	8	0,90	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,48	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	6	0,78	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	8	0,90	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,48	0,47	0,39	-0,01	1,11	0,79
	6	0,78	0,71	0,30	-0,06	0,86	0,67
	8	0,90	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

DE = desviación estándar

Tabla 6: Resumen de LIDC utilizando el segundo Patrón Internacional de la OMS para HCV

Lote de reactivos	LIDC del plasma		LIDC del suero	
	(log UI/ml)	(UI/ml)	(log UI/ml)	(UI/ml)
1	0,73	5	0,93	9
2	0,82	7	0,89	8
3	0,76	6	0,71	5

Determinación del límite inferior de cuantificación (LIDC) en distintos genotipos de HCV

Para los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 en plasma y suero humano negativo para HCV, el LIDC se determinó analizando diluciones de muestras clínicas positivas para HCV. La asignación de la concentración de las muestras clínicas se determinaron con un ensayo comparador aprobado por la CE. Se procesaron un mínimo de 36 réplicas de cada muestra del panel en cada uno de los lotes de reactivo para un mínimo de 108 réplicas por muestra del panel. Los resultados del lote de reactivos con la concentración más alta igual o superior al límite de detección que cumple los requisitos de TE y TAE se muestran en la Tabla 7 para plasma y la Tabla 8 para suero. El LIDC de los genotipos 1 al 6 en plasma y suero se resumen en la Tabla 9. Estos valores establecen el LIDC del ensayo a 10 UI/ml.

Tabla 7: Determinación del LIDC en distintos genotipos en plasma

Genotipo	Concentración diana	Concentración diana	Aptima HCV Quant Dx	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)
1	3	0,48	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	6	0,78	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	8	0,90	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	3	0,48	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	4	0,60	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	6	0,78	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	6	0,78	0,52	0,30	-0,26	0,85	0,86
	10	1,00	0,80	0,21	-0,20	0,59	0,62
	12	1,08	0,89	0,26	-0,19	0,74	0,71
4	8	0,90	0,61	0,39	-0,29	1,11	1,07
	10	1,00	0,82	0,31	-0,18	0,87	0,80
	12	1,08	1,01	0,29	-0,07	0,83	0,65
5	3	0,48	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	6	0,78	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	10	1,00	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	2	0,30	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	3	0,48	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	6	0,78	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

DE = desviación estándar

Tabla 8: Determinación del LIDC en distintos genotipos en suero

Genotipo	Concentración diana	Concentración diana	Aptima HCV Quant Dx	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)	(log UI/ml)
1	6	0,78	0,75	0,36	-0,03	1,02	0,75
	8	0,90	0,88	0,32	-0,02	0,89	0,65
	10	1,00	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,78	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	10	1,00	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	6	0,78	0,45	0,25	-0,33	0,72	0,84
	10	1,00	0,67	0,22	-0,33	0,63	0,78
	12	1,08	0,92	0,19	-0,16	0,54	0,54
4	1	0,00	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	2	0,30	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	3	0,48	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,46	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	6	0,76	0,72	0,29	-0,04	0,81	0,61
	9	0,94	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	3	0,48	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	6	0,78	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	10	1,00	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

DE = desviación estándar

Tabla 9: Resumen del LIDC en distintos genotipos en plasma y suero

Genotipo de HCV	LIDC del plasma		LIDC del suero	
	(log UI/ml)	(UI/ml)	(log UI/ml)	(UI/ml)
1	0,88	8	0,88	8
2	0,76	6	0,80	6
3	0,80	6	0,67	5
4	0,82	7	0,65	4
5	0,87	7	0,72	5
6	0,79	6	0,99	10

Precisión

Para evaluar la precisión, se elaboró un panel de 10 muestras diluyendo muestras clínicas positivas de HCV o armored RNA en plasma y suero negativo para HCV. Tres usuarios analizaron el panel con tres lotes de reactivos en tres Panther systems durante 21 días.

La Tabla 10 muestra la precisión de los resultados de los ensayos (en log UI/ml) entre instrumentos, entre usuarios, entre lotes y en total. La variabilidad total fue del $\leq 13,31\%$ en todas las muestras del panel, principalmente debido a la variabilidad en el ciclo (es decir, debido al error aleatorio).

Tabla 10: Precisión del ensayo Aptima HCV Quant Dx

Matriz	N	Concentración media (log UI/ml)	Entre instrumentos		Entre usuarios		Entre lotes		Entre ciclos		Intraciclo		Total	
			DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV	DE	% CV
Plasma	98 ^a	1,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	3,35	0,06	4,54	0,12	9,84	0,14	11,34
Plasma	162	2,06	0,05	2,23	0,00	0,00	0,07	3,20	0,03	1,47	0,10	4,91	0,14	6,88
Plasma	162	3,02	0,03	0,89	0,01	0,24	0,04	1,47	0,01	0,33	0,09	3,08	0,11	3,77
Plasma	162	4,87	0,00	0,00	0,00	0,00	0,03	0,60	0,04	0,86	0,06	1,13	0,10	2,04
Plasma	162	7,16	0,02	0,21	0,01	0,20	0,04	0,52	0,00	0,00	0,05	0,75	0,09	1,27
Suero	132 ^a	1,27	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	5,16	0,00	0,00	0,15	12,17	0,17	13,31
Suero	162	2,17	0,02	0,99	0,04	1,71	0,07	3,01	0,05	2,15	0,08	3,53	0,12	5,61
Suero	162	3,09	0,02	0,67	0,00	0,00	0,06	1,79	0,03	0,90	0,07	2,26	0,11	3,44
Suero	161	4,86	0,00	0,00	0,04	0,78	0,08	1,67	0,00	0,00	0,08	1,72	0,13	2,65
Suero	162	7,16	0,00	0,00	0,05	0,70	0,05	0,73	0,02	0,31	0,04	0,55	0,10	1,35

CV = coeficiente de variación, DE = desviación estándar

^a Número de resultados válidos dentro del rango lineal del ensayo.

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, la DE y el CV se muestran como 0.

Substancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del ensayo Aptima HCV Quant Dx a las interferencias causadas por altos niveles de sustancias endógenas y por medicamentos que se suelen recetar a las personas infectadas por HCV. Se analizaron muestras de plasma negativo para HCV y muestras enriquecidas con HCV hasta obtener una concentración de 3,3 log UI/ml de RNA de HCV.

No se observaron interferencias en la eficacia del ensayo en presencia de albúmina (90 mg/ml), hemoglobina (5 mg/ml), triglicéridos (30 mg/ml) o bilirrubina conjugada (0,2 mg/ml).

Las muestras clínicas de plasma de pacientes con niveles alto de las sustancias definidas o de pacientes con las enfermedades indicadas en la Tabla 11 se analizaron con el ensayo Aptima HCV Quant Dx. No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo.

Tabla 11: Tipos de muestras clínicas analizadas

Tipos de muestras clínicas	
1	Factor reumatoide (FR)
2	Anticuerpo antinuclear (ANA)
3	Anticuerpo anti-Jo (JO-1)
4	Lupus eritematoso sistémico (LES)
5	Artritis reumatoide (AR)
6	Esclerosis múltiple (EM)
7	Hiperglobulinemia
8	Alanina aminotransferasa elevada (ALT)
9	Aspartato aminotransferasa elevada (ALT)
10	Cirrosis alcohólica (AC)
11	Mieloma múltiple (MM)
12	Lipémico (lípido elevado)
13	Ictérico (bilirrubina elevada)
14	Hemolizado (hemoglobina elevada)
15	Proteína albúmina elevada
16	Anticuerpos anti-HBV
17	Anticuerpos anti-HIV-1
18	Anticuerpos anti-HIV-2

No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo en presencia de las sustancias exógenas indicadas en la Tabla 12 a concentraciones de al menos tres veces la $C_{m\acute{a}x}$ (plasma humano).

Tabla 12: Sustancias exógenas

Mezcla de sustancias exógenas	Sustancias exógenas analizadas
1	Telaprevir, claritromicina, interferón alfa-2a, dolutegravir, azitromicina
2	Simeprevir, sofosbuvir
3	Efavirenz, boceprevir, interferón alfa-2b pegilado, emtricitabina, raltegravir, amoxicilina
4	Sulfato de abacavir, ribavirina, dasabuvir, rilpivirina, rifampin/rifampicina
5	Lopinavir, tenofovir, lamivudina, valganciclovir
6	Heparina, EDTA, citrato de sodio

Especificidad

La especificidad se determinó utilizando 198 muestras clínicas recientes y 538 muestras clínicas congeladas negativas para HCV. Se analizaron un total de 370 muestras de plasma y 366 muestras de suero. La especificidad se calculó como el porcentaje de muestras negativas para HCV con resultados de "No Detectado". El RNA de HCV no se detectó en las 736 muestras. La especificidad fue de 100 % (736/736, 95 % IC: 99,6-100 %).

Tabla 13: Especificidad en muestras clínicas de suero y plasma

	Plasma reciente	Plasma congelado	Total del plasma	Suero reciente	Suero congelado	Total del suero	Combinado
Réplicas válidas (n)	100	270	370	98	268	366	736
No detectado	100	270	370	98	268	366	736
Especificidad (IC del 95 %)	100 % (97,1-100)	100 % (98,9-100)	100 % (99,2-100)	100 % (97,0-100)	100 % (98,9-100)	100 % (99,2-100)	100 % (99,6-100)

IC = Intervalo de confianza

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada con patógenos indicada en la Tabla 14 se evaluó en presencia o en ausencia de 3,3 log UI/ml de HCV en el plasma humano negativo para el HCV. No se observó ninguna reactividad cruzada. No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo en presencia de los patógenos.

Tabla 14: Patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica

Patógeno	Concentración		Patógeno	Concentración	
Virus de la hepatitis A	100.000	copias/ml	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.000.000	UFC/ml ^f
Virus de la hepatitis B (HBV)	100.000	UI/ml ^a	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.000.000	UFC/ml
Virus de la hepatitis G	1.470	UFP/ml ^b	<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000	UFC/ml
HIV-1	100.000	copias/ml	<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000	UFC/ml
HIV-2	100.000	UFP/ml	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000	UFC/ml
Virus del herpes simple 1 (HSV-1)	100.000	UFP/ml	<i>Candida albicans</i>	1.000.000	UFC/ml
Virus del herpes simple 2 (HSV-2)	100.000	UFP/ml	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000	UFC/ml
Virus del herpes humano 6B	100.000	copias/ml	<i>Chlamydia trachomatis</i>	1.000.000	UFI/ml ^g
Virus del herpes humano 8	2.667	TCID50 U/ml ^c	<i>Trichomonas vaginalis</i>	1.000.000	células/ml
Virus linfotrópico de células T humano virus tipo 1 (HTLV-1)	100.000	pv/ml ^d			
Virus linfotrópico de células T humano virus tipo 2 (HTLV-2)	100.000	pv/ml			
Parvovirus B19	100.000	UI/ml			
Virus del Nilo occidental	100.000	UFP/ml			
Virus del Dengue 1	100.000	UFP/ml			
Virus del Dengue 2	100.000	UFP/ml			
Virus del Dengue 3	100.000	UFP/ml			
Virus del dengue 4	100.000	UFP/ml			
Citomegalovirus	100.000	UFP/ml			
Virus de Epstein-Barr	100.000	copias/ml			
Virus de la rubéola	100.000	UFP/ml			
Virus del papiloma humano	100.000	células/ml			
Adenovirus tipo 5	100.000	DICT50/ml			
Virus de la gripe A	100.000	DICT50/ml			
Virus de la encefalitis japonesa	ND	ND			
Virus de la encefalitis de San Luis	ND	ND			
Virus de la encefalitis del Valle Murray	2.643	DL/ml ^e			
Virus de la fiebre amarilla	100.000	células/ml			

^a UI/ml = unidades internacionales por ml

^b UFP/ml = unidades formadoras de placa por ml

^c DICT50/ml = unidades de dosis infectiva en cultivo tisular por ml

^d pv/ml = partículas víricas por ml

^e DL/ml = dosis mortal por ml

^f UFC/ml = unidades formadoras de colonias por ml

^g UFI/ml = unidades formadoras de inclusión por ml

Muestras clínicas que contienen virus distintos del HCV

Los patógenos indicados en la Tabla 15 se evaluaron obteniendo muestras clínicas individuales infectadas naturalmente. Estos patógenos se evaluaron en presencia o en ausencia de 3,3 log UI/ml de RNA de HCV. No se observó ninguna reactividad cruzada. No se observó ninguna interferencia.

Tabla 15: Muestras clínicas comprobadas para determinar la especificidad analítica

Microorganismo	Matriz	N (donantes)
HBV	suero	5
HBV	plasma	5
Virus del dengue	plasma	10
Virus de la hepatitis A	plasma	10
HTLV-1	plasma	10
HTLV-2	plasma	10
HIV-1	plasma	10
Virus del Nilo occidental	plasma	10

Repetibilidad de las muestras clínicas

La repetibilidad se evaluó analizando tres réplicas de muestras clínicas de plasma y suero positivas para HCV infectadas naturalmente. La concentración media y la desviación estándar de las muestras de plasma y suero se muestran en la Tablas 16 y 17.

Tabla 16: Repetibilidad de las muestras clínicas de plasma

ID de la muestra de plasma	Concentración media (log UI/ml)	DE
1	1,68	0,05
2	1,69	0,17
3	1,73	0,06
4	1,73	0,06
5	1,84	0,05
6	2,30	0,10
7	2,71	0,09
8	2,80	0,06
9	3,22	0,04
10	3,80	0,05
11	4,12	0,08
12	4,21	0,11
13	4,90	0,14
14	6,94	0,11
15	7,05	0,04

Tabla 17: Repetibilidad de las muestras clínicas de suero

ID de la muestra de suero	Concentración media (log UI/ml)	DE
1	1,67	0,07
2	1,74	0,10
3	1,86	0,15
4	1,67	0,07
5	2,00	0,07
6	2,51	0,08
7	3,12	0,23
8	3,29	0,02
9	3,70	0,18
10	3,99 ^a	0,13
11	4,35	0,05
12	5,48	0,12
13	5,74	0,07
14	5,80	0,13
15	7,15	0,10

^aResultado de dos de las tres réplicas analizadas. Una réplica errática eliminada.

Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras

Para evaluar la recuperación del RNA de HCV en muestras diluidas con diluyente de muestras Aptima, se diluyeron muestras de plasma y suero dentro del rango lineal, a una concentración de 1:3 con diluyente de muestras Aptima. Además, se diluyeron muestras clínicas infectadas naturalmente y muestras enriquecidas con Armored RNA con concentraciones por encima del límite superior de cuantificación del ensayo, a una concentración de 1:100 con el diluyente de muestras Aptima. Cada muestra fue analizada sin diluir y diluida (1:3 o 1:100) por triplicado. Las diferencias entre la concentración promedio reportado (factor de dilución aplicado al resultado de la muestra diluida) y la concentración ordenada promedio se muestran en la Tabla 18 para muestras de plasma y en la Tabla 19 para suero. Las concentraciones de muestra se recuperaron de forma exacta en las muestras diluidas.

Tabla 18: Dilución de muestras con el diluyente Aptima - Plasma

Dilución	Concentración media sin diluir (log UI/ml)	Concentración media notificada ^a (log UI/ml)	Diferencia
1:3	1,68	1,89	-0,21
	1,69	1,69	0,00
	1,73	2,11	-0,38
	1,73	1,78	-0,05
	1,84	1,80	0,04
	2,30	2,23	0,07
	2,71	2,76	-0,05
	2,80	2,76	0,04
	3,22	3,28	-0,06
	3,80	3,71	0,09
	4,12	4,06	0,06
	4,21	4,07	0,14
	4,90	4,68	0,22
	6,94	6,72	0,22
	7,05	6,91	0,14
1:100	7,05	6,59	0,46
	> 8,00 (8,45) ^b	8,38	0,07

^a La concentración notificada es el valor calculado después de aplicar el factor de dilución.

^b Muestra enriquecida.

Nota: Todos los resultados de > 8,00 log UI/ml se calcularon con análisis adicionales.

Tabla 19: Dilución de muestras con el diluyente Aptima - Suero

Factor de dilución	Concentración media sin diluir (log UI/ml)	Concentración media notificada ^a (log UI/ml)	Diferencia
1:3	1,67	1,85	-0,18
	1,74	1,72	0,02
	1,86	1,66	0,20
	1,67	1,85	-0,18
	2,00	1,91	0,09
	2,51	2,37	0,14
	3,12	3,01	0,11
	3,29	3,35	-0,06
	3,70	3,53	0,17
	3,99 ^c	3,87	0,12
	4,35	4,30	0,05
	5,48	5,25	0,23
	5,74	5,62	0,12
	5,80	5,50	0,30
	7,15	6,86	0,29
1:100	7,15	6,65	0,50
	> 8,00 (8,44) ^b	8,46	-0,02

^a La concentración notificada es el valor calculado después de aplicar el factor de dilución.

^b Muestra enriquecida.

^c Resultado de dos de las tres réplicas analizadas. Una réplica errática eliminada.

Nota: Todos los resultados de > 8,00 log UI/ml se calcularon con análisis adicionales.

Correlación de métodos

La eficacia del ensayo Aptima HCV Quant Dx se evaluó contrastando sus resultados con los de un ensayo comparativo con marca CE, para lo que se analizaron muestras clínicas sin diluir de pacientes infectados por el HCV en tres Panther systems con cuatro lotes de reactivos. Para la regresión lineal se utilizó un total de 1.058 muestras de plasma y suero (872 de plasma y 186 de suero) en todos los genotipos de HCV dentro del rango lineal y comunes a los dos ensayos, tal como se muestra en la Figura 8.

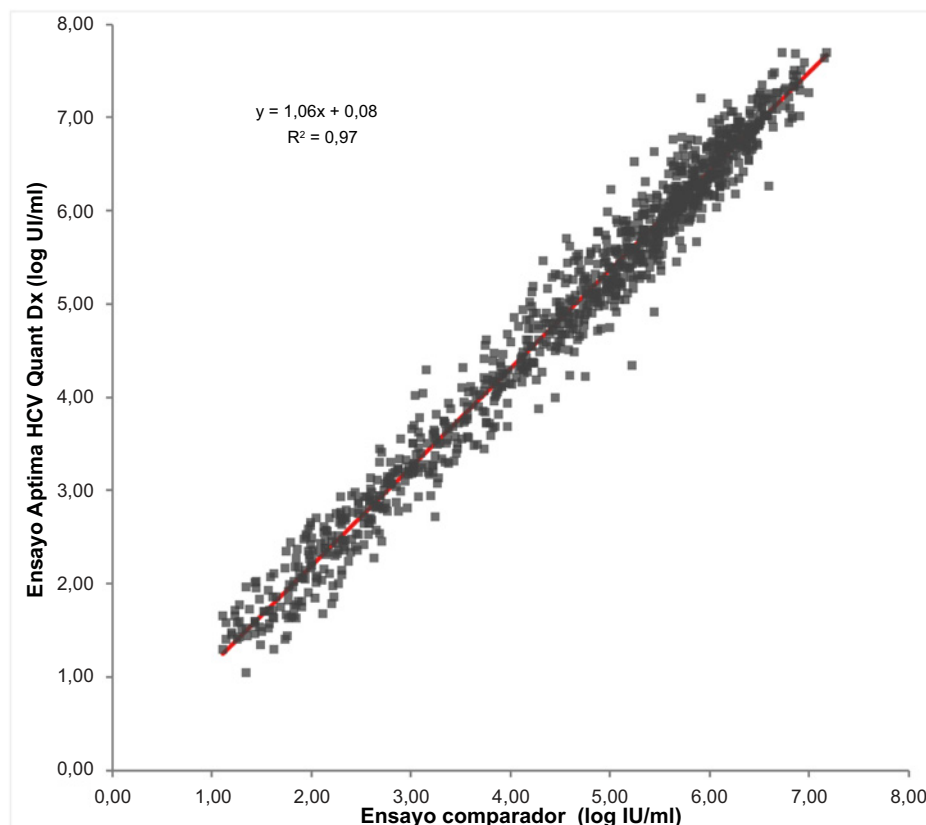


Figura 8. Correlación entre el ensayo Aptima HCV Quant Dx y el ensayo comparativo

Acuerdo diagnóstico

Para evaluar el acuerdo diagnóstico, se analizaron 227 muestras de plasma y suero de personas de pacientes positivos para HCV utilizando el ensayo Aptima HCV Quant Dx y un ensayo cualitativo de HCV con marca CE comparativo. Todos los resultados que arrojaron un resultado cuantificable o detectable se categorizaron como «Detectado». Todos los resultados de dianas no detectados se clasifican como "Diana no detectada". El acuerdo diagnóstico entre los ensayos era del 100 %, tal como se indica en la Tabla 20.

Tabla 20: Acuerdo diagnóstico entre el ensayo Aptima HCV Quant Dx y el ensayo comparativo

		Ensayo Aptima HCV Quant Dx	
		Detectado	Diana no detectada
Ensayo comparativo	Detectado	99	0
	Diana no detectada	0	128

Contaminación por arrastre

Para establecer que el Panther system reduce al mínimo el riesgo de resultados positivos falsos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio de varios paneles enriquecidos en tres Panther systems. La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras de plasma enriquecidas con RNA (7 log UI/ml) entremezcladas con muestras negativas para HCV en un patrón de tablero de ajedrez. Las pruebas se realizaron en quince ciclos. La tasa global de contaminación por arrastre fue del 0,14 % (1/704).

Panel de seroconversión

Se analizaron once conjuntos de paneles de seroconversión de HCV, con un total de 72 muestras. Los resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx se compararon con los resultados del análisis de anticuerpos anti-HCV. El número de días hasta el primer resultado reactivo se indica en la Tabla 21. El ensayo Aptima HCV Quant Dx detectaba la presencia de HCV como media 20 días antes que los análisis de anticuerpos.

Tabla 21: Resumen de los datos del panel de seroconversión

Identificación del panel	Número de muestras analizadas del panel	Número de muestras reactivas del panel			Días hasta el primer resultado reactivo			Diferencia en días con el primer resultado reactivo (sobre la base de la fecha de la obtención de la muestra)	
		Aptima HCV Quant Dx	Prueba 1 de anticuerpos anti-HCV	Prueba 2 de anticuerpos anti-HCV	Aptima HCV Quant Dx	Prueba 1 de anticuerpos anti-HCV	Prueba 2 de anticuerpos anti-HCV	Días de detección anterior a la prueba 1 de anticuerpos anti-HCV	Días de detección anterior a la prueba 2 de anticuerpos anti-HCV
PHV911	4	4	3	3	3 ^a	14	14	11	11
PHV913	4	4	0	2	0	9 ^b	7	9	7
PH919	7	4	3	3	25	28	28	3	3
PH920	9	9	7	6	0 ^c	13	16	13	16
PH921	11	11	9	7	0	7	18	7	18
PH923	6	6	2	2	0	21	21	21	21
PH924	6	6	3	3	0	59	59	59	59
PH925	5	5	1	1	0	27	27	27	27
PH926	5	5	1	0	0	14	14 ^b	14	14
6227	7	4	2	2	42	74	74	32	32
6229	8	8	4	3	0	17	20	17	20
Total	72	66	35	32				Media 19,36	20,73
								Mediana 14	18

La prueba 1 de anticuerpos anti-HCV se realizó con el ensayo Abbot Prism HCV.

La prueba 2 de anticuerpos anti-HCV se realizó con el ensayo Ortho Enhanced SAVE, con las excepciones siguientes:

Los paneles 6227 y 6229 se analizaron con el ensayo Ortho ELISA Anti-HCV 3.0.

^a La primera obtención de la muestra no se analizó debido a la falta de disponibilidad de la muestra del proveedor.

^b Todas las obtenciones de muestras de este panel fueron no reactivas para anticuerpos anti-HCV. El día de la última obtención de muestra se utilizó como "Días hasta el primer resultado reactivo".

^c La segunda obtención de muestras no se analizó debido a la falta de disponibilidad de la muestra del proveedor.

Bibliografía

1. Averhoff FM, Glass N and Holtzman D. Global Burden of Hepatitis C: Considerations for Healthcare Providers in the United States. *Clinical Infectious Diseases* 2012; 55 (S1): S10-15.
2. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States (2013) *PLOS ONE* Volume 8: Issue 5; 1-10.
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24797372> Transfusion-associated hepatitis before the screening of blood for hepatitis risk factors. *Transfusion*. 2014 May 5
4. Lee M-H, Yang, H-I, Yuan Y et al., Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterology* 2014; 20 (28): 9270-9280
5. *Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology* (2006); Horizon Biosciences
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, et al, P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology*. 2014 Jan;59(1):318-27.
7. EASL Recommendations on treatment of Hepatitis C 2014: www.easl.eu/_clinical-practice-guideline
8. AASLD and the Infectious Diseases Society of America (IDSA), in collaboration with the International Antiviral Society-USA (IAS-USA) 2014: www.hcvguidelines.org
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. *MMWR* 2013; 62 (18)
10. Rutter, K, Hofer H, Beinhardt, S et al., Durability of SVR in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon- α 2a/ribavirin in combination with a direct acting antiviral. *Aliment Pharmacol Ther*. 2013 Jul;38(2):118-23.
11. Treatment of Hepatitis C, A Systemic Review (2014) *JAMA* Volume 312: No.6; 631-640.
12. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J Hepatol* 1999; 30; 956-61
13. NIH Consensus and State-of-the-Science Statements. Management of Hepatitis C: 2002; 19 (3):1-46
14. Peiffer K-H and Sarrazin C. The importance of HCV RNA measurement in tailoring treatment duration: *Digestive and Liver Disease* 45S (2013) S323-S331.
15. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
16. **29 CFR Part 1910.1030**. Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
17. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health**. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
18. **Clinical and Laboratory Standards Institute**. 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)**. 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Hologic, Inc.
10210 Genetic Center Drive
San Diego, CA 92121 EE.UU.

Atención al cliente: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Asistencia técnica: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Para obtener más información de contacto, visite www.hologic.com.



Hologic N.V.
Da Vinciiaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima, Panther y sus logotipos asociados son marcas comerciales o registradas de Hologic, Inc. o sus filiales en Estados Unidos o en otros países.

Armored RNA es una marca comercial de Asuragen, Inc.

Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios

Este producto puede estar cubierto por una o más de las patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

© 2015-2019 Hologic, Inc. Reservados todos los derechos.

AW-13249-301 Rev. 004
2019-02