Ensayo Aptima® HCV Quant Dx

Instrucciones de uso
Para su uso diagnóstico *in vitro*
Para exportación de EE. UU. únicamente

Información general 2
Uso indicado 2
Resumen y explicación de la prueba 2
Principios del procedimiento 3
Resumen de seguridad y rendimiento 4
Advertencias y precauciones 4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos 8
Recogida y almacenamiento de especímenes 9
Muestras conservadas en el Panther System 12
Transporte de muestras 12
Panther System 13
Reactivos y materiales suministrados 13
Material necesario que debe adquirirse por separado 15
Materiales opcionales 16
Procedimiento de la prueba del Panther System 16
Notas de procedimiento 20
Control de calidad 21
Calibración del ensayo 21
Controles negativo y positivo 21
Calibrador interno/control interno 21
Interpretación de resultados 22
Limitaciones 23
Rendimiento analítico 24
Límite de detección (LDD) utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS 24
Límite de detección en distintos genotipos de HCV 24
Rango lineal 25
Linealidad en genotipos de HCV 26
Límite inferior de cuantificación utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS 27
Determinación del límite inferior de cuantificación (LIDC) en distintos genotipos de HCV 28
Rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS 30
Precisión 31
Sustancias potencialmente interferentes 31
Rendimiento con muestras negativas para HCV 33
Especificidad analítica 33
Muestras clínicas que contienen virus distintos del HCV 35
Equivalencia de matriz 35
Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras Aptima (1:3) 36
Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras Aptima (1:100) 37
Confirmación del LIDC en muestras clínicas diluidas en diluyente de muestras 38
Precisión de las muestras diluidas 39
Contaminación por arrastre 39
Panel de seroconversión 39
Estudio de reproducibilidad 40
Rendimiento clínico 42
Correlación de métodos 42
Estudio de utilidad clínica 43
Respuesta a la terapia antiviral 47
Estudio de utilidad diagnóstica 50
Reactividad cruzada en sujetos con enfermedad hepática no relacionada con el HCV 52
Bibliografía 54
Información de contacto e historial de revisiones 55

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 y plasma humano reciente 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 (SST). Las muestras se han analizado con el sistema Panther™, 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 de 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 de 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 asintomática por el HCV, y la infección crónica por el HCV se produce en hasta el 75 % de los pacientes.[2] Los algoritmos de pruebas de laboratorio del HCV exigen el diagnóstico de infecciones activas por HCV en individuos con anticuerpos positivos mediante la detección del RNA de HCV en plasma o suero para permitir un vínculo adecuado con la atención sanitaria.[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 RNA de 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] Además, los estudios de seguimiento a largo plazo han demostrado la durabilidad de la RVS tras un tratamiento adecuado y que la erradicación viral evita la progresión de la enfermedad hepática.[10]

En la era de los antivirales de acción directa (AAD), la cuantificación del RNA de HCV (carga viral) ha desempeñado un papel fundamental en la definición y la monitorización del tratamiento del HCV. La respuesta virológica sostenida (RVS) se define como un RNA de HCV indetectable (con un ensayo cuyo límite de detección <25 UI/mL) tras el tratamiento.[10,11] Las directrices recientes de la AASLD sugieren realizar pruebas de RNA de HCV no solo al inicio, sino también periódicamente durante el tratamiento (es decir, a las 4 semanas) y a las 12 semanas tras la finalización del tratamiento.[10,12,13]

Principios del procedimiento

El Aptima HCV Quant Dx Assay 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 de HCV 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 dirige a una región conservada del genoma del HCV, detectando y cuantificando los genotipos 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Se trata de un ensayo normalizado contra la 2.ª norma internacional de la OMS sobre el virus de la hepatitis C (código NIBSC 96/798).[12]

El ensayo Aptima HCV Quant Dx implica tres pasos principales, que tienen lugar en un único tubo en el sistema Panther: captura de diana, amplificación seleccionada por TMA y detección de los productos de amplificación (amplicón) a través de sondas marcadas con fluorocromos (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 viral. 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 un parte del 5' UTR del genoma del HCV. La amplificación de esta región se logra utilizando primers 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 inhibidor 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 inhibidor 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.

Resumen de seguridad y rendimiento

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP, por sus siglas en inglés) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). Para localizar el SSP del ensayo Aptima HCV Quant Dx, consulte el identificador único del producto básico (BUDI): 54200455DIAGAPTHCVAJ.

Advertencias y precauciones

A. Para uso diagnóstico *in vitro*.

B. Para uso profesional.

C. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Manual del usuario del Panther*/*Panther Fusion™ System* para obtener información sobre el procedimiento antes de realizar el ensayo en el Panther System.

D. Para advertencias, precauciones y procedimientos adicionales específicos sobre el control de la contaminación, consulte el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System*.

Información sobre los laboratorios

E. PRECAUCIÓN: Los controles de este ensayo contienen plasma humano. El plasma es no reactivo para antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos anti-HCV, anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV2 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 del 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.[14,15,16]

F. 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.

G. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.

H. 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.

I. 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).

J. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa local, estatal y comunitaria.[14,15,16,17] Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.

K. 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 abundante agua corriente. Se recomienda seguir estas precauciones para evitar la acumulación de depósitos en tuberías de metal, donde pueden darse las condiciones necesarias para una explosión.

L. 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 Aptima (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 sobre las muestras

M. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones universales [14,15,16] al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados según la normativa local.[17] Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HCV Quant Dx y en la manipulación de materiales infecciosos.

N. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.

O. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de 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. Cámbiese los guantes si entran en contacto con la muestra.

Información sobre los ensayos

P. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.

Q. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes maestros diferentes. Los líquidos del ensayo pueden ser de números de lote diferentes. Los controles y el calibrador pueden ser de números de lote diferentes.

R. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.

S. Tape y conserve todos los reactivos del ensayo a las temperaturas indicadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente puede afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos* y *Procedimiento de la prueba del Panther System* para obtener más información.

T. No combine ningún reactivo ni líquido del ensayo sin instrucciones específicas. No llene hasta arriba los frascos de reactivos o líquidos. El Panther System verifica los niveles de reactivo.

U. 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 seguridad (SDS) de la UE. Para ver la ficha de seguridad específica de su país, consulte la Biblioteca de fichas de datos de seguridad (SDS) en www.hologicsds.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en www.hologic.com/package-inserts.*

Información sobre riesgos en la UE	
—	**Reactivo de amplificación** *CLORURO DE MAGNESIO AL 60-65 %* — H412 – Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	**Reactivo promotor** *CLORURO DE MAGNESIO AL 60-65 %* — H412 – Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	**Reactivo enzimático** *Triton X-100 al 1-5 %* *HEPES AL 1-5 %* — H412 – Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

	**Controles del kit HCV VL** *AZIDA DE SODIO <1 %* — **PELIGRO** H300 – Mortal en caso de ingestión. H410 – Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P264 – Lavarse la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas concienzudamente tras la manipulación. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P301 + P310 – EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico. P321 – Tratamiento específico (véanse las instrucciones complementarias de primeros auxilios en esta etiqueta). P330 – Enjuagarse la boca. P391 – Recoger los derrames.
—	**Calibradores del kit HCV VL** *HEPES al 15-20 %* *Sal de litio de lauril sulfato al 5-10 %* *Hidróxido de litio monohidratado al 1-5 %* *Ácido succínico al 1-5 %* — H412 – Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	**Solución de reconstitución enzimática** *Glicerol al 20-25 %* *Triton X-100 al 5-10 %* *HEPES al 1-5 %* — H412 – Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	**Reactivo de captura seleccionada** *HEPES al 15-20 %* *Sal de litio de lauril sulfato al 5-10 %* *Hidróxido de litio monohidratado al 1-5 %* *Ácido succínico al 1-5 %* — H412 – Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 – Evitar su liberación al medio ambiente. P501 – Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

Requisitos de almacenamiento y manipulación de reactivos

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

Reactivo	Almacenamiento del reactivo cerrado	Kit abierto (reconstituido)	
		Almacenamiento	Estabilidad
Reactivo de amplificación qHCV	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución de amplificación qHCV	Entre 2 °C y 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días[a]
Reactivo enzimático qHCV	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución enzimática qHCV	Entre 2 °C y 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días[a]
Reactivo promotor qHCV	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución de promotor qHCV	Entre 2 °C y 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días[a]
Reactivo de captura qHCV	Entre 2 °C y 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días[a]
qHCV NC CONTROL – (Control negativo)	Entre -15°C y -35°C	Entre 15°C y 30°C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas
qHCV LPC CONTROL + (Control positivo bajo)	Entre -15°C y -35°C	Entre 15°C y 30°C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas
qHCV HPC CONTROL + (Control positivo alto)	Entre -15°C y -35°C	Entre 15°C y 30°C	Vial de un solo uso Para uso en 24 horas
qHCV PCAL (Calibrador positivo)	Entre -15°C y -35°C	Entre 15°C y 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 sistema Panther tienen 72 horas de estabilidad en el instrumento. Los reactivos pueden cargarse en el Panther System hasta 8 veces. El sistema Panther 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 especímenes

Nota: *Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete 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, PPT)
- Tubos de suero
- Tubos separadores de suero (Serum Separator Tubes, SST)

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

A. Recogida de 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
13 × 100 mm	0,5 ml
13x100 mm con gel	0,3 ml
16 × 100 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 transfiere a un tubo secundario, el plasma o suero puede congelarse a -20 °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 °C y 30 °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 °C y 25°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.

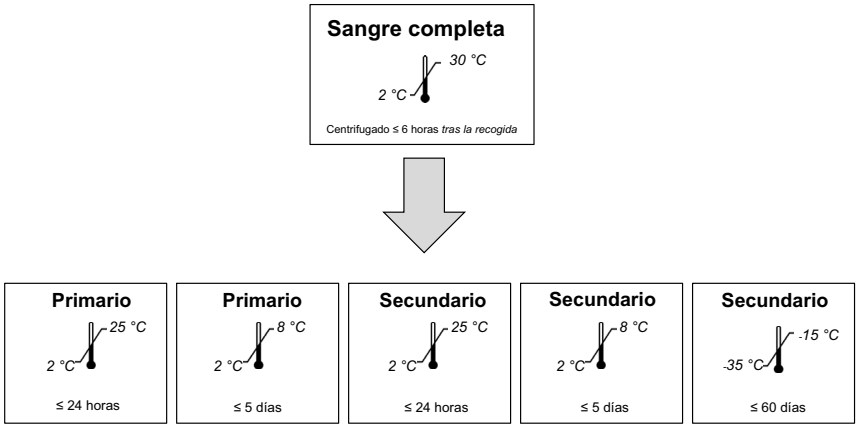


Figura 1. Condiciones de conservación de los tubos con EDTA o ACD

2. Muestras de PPT

   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 plasma puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

   - En el tubo de recogida primario o en el tubo secundario, entre 2 °C y 25°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.

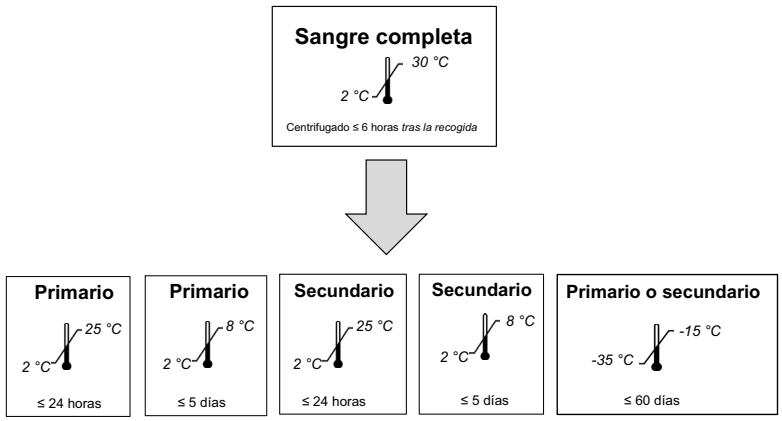


Figura 2. Condiciones de conservación de los PPT

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.

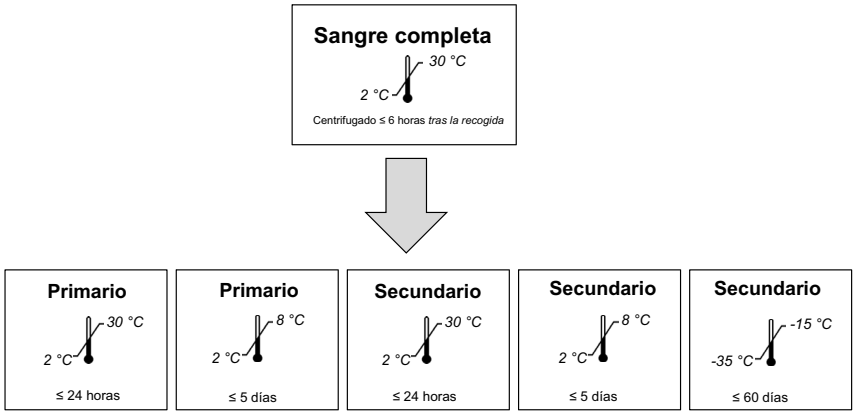


Figura 3. Condiciones de conservación de los tubos de suero

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.

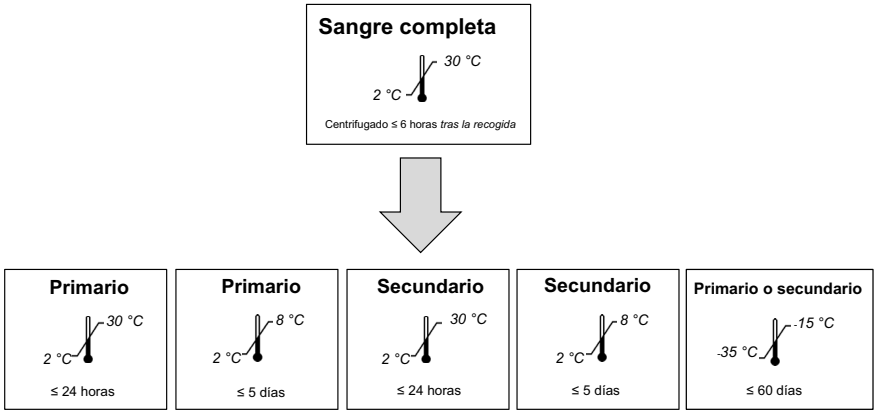


Figura 4. Condiciones de conservación de los SST

C. Conservación a largo plazo de muestras congeladas

Las muestras de suero o plasma pueden conservarse en SAT de -65 °C 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 la prueba del Panther System*, paso E.5 para obtener más información.

⚠ *No se debe hacer una interpretación diagnóstica a partir de un resultado "No detectado" en muestras diluidas de suero o plasma. Obtenga una nueva muestra sin diluir y repita la prueba.*

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 muestras

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

Nota: *Las muestras deben enviarse respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.*

Panther System

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

Reactivos y materiales suministrados

Kit del Aptima HCV Quant Dx Assay, 100 pruebas 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
(almacenar entre 2 °C y 8°C al recibirla)

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

Kit de calibrador Aptima HCV Quant Dx (n.º cat. N.º PRD-03507)
(almacenar entre -15°C y -35°C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	**Calibrador positivo qHCV** *Transcrito en solución de tampón.*	5 × 2,5 mL
	Etiqueta de código de barras del calibrador	—

Kit de controles Aptima HCV Quant Dx (n.º cat. PRD-03508)
(almacenar entre -15°C y -35°C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
NC	**Control negativo qHCV** *Plasma humano desfibrinado negativo en HCV con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.*	5 × 0,8 mL
LPC	**Control positivo bajo qHCV** *Armored RNA de HCV no infeccioso en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.*	5 × 0,8 mL
HPC	**Control positivo alto qHCV** *Armored RNA de HCV no infeccioso en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.*	5 × 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	N.º de catálogo
Panther™ System	303095
Panther Fusion™ System	PRD-04172
Panther™ System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de controles Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03508
Kit de calibradores Aptima® HCV Quant Dx	PRD-03507
Kit de inicio del Panther System para ensayos en tiempo real (solo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5000 pruebas)
Kit de fluidos del ensayo Aptima® (también denominado Kit de fluidos universales) *contiene solución de lavado Aptima®, tampón para fluido de desactivación Aptima® y reactivo de aceite Aptima®*	303014 (1.000 pruebas)
Unidades multitubo (MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther™	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther™	504405
O bien, el kit de ciclo del Panther™ System *(cuando se procesan ensayos TMA no en tiempo real junto a ensayos TMA en tiemp real) contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos y fluidos del ensayo*	303096 (5000 pruebas)
Puntas, 1000 µL, filtradas, conductoras, desechables y detectan el nivel de líquido. *No todos los productos están disponibles en todas las zonas. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica para su zona.*	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 8,25 % (de 0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para reactivos *Frascos de reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor* *Frasco de TCR*	 CL0041 (100 tapones) CL0040 (100 tapones)
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Opciones para el tubo de recogida primario: *13 mm × 100 mm* *13 mm × 75 mm* *16 mm × 100 mm*	 — — —
Centrífuga	—
Agitadora vorticial	—

Materiales opcionales

Material	N.º de catálogo
Opciones para el tubo secundario:	
12 mm × 75 mm	—
13 mm × 100 mm	—
16 mm × 100 mm	—
Tubos de alícuotas de muestras Aptima (SAT) (paquete de 100)	FAB-18184
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100) *tapón para SAT*	504415
Diluyente de muestras Aptima®	PRD-03003
Kit de diluyente de muestras Aptima® *contiene diluyente de muestras, 100 SAT y 100 tapones*	PRD-03478
Pipetas de transferencia	—
Paneles disponibles en el mercado	—
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	PRD-03488

Procedimiento de la prueba del Panther System

Nota: *Consulte el Manual del usuario del Panther/Panther Fusion 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 de limpieza 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 ranurado del anillo 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 vial de reactivo liofilizado sobre el frasco de solución de reconstitución y acople firmemente el anillo 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 vial de cristal hacia delante y hacia atrás para mezclarla bien.
   c. Incline 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 anillo de reconstitución y el vial 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 vial de vidrio (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.*

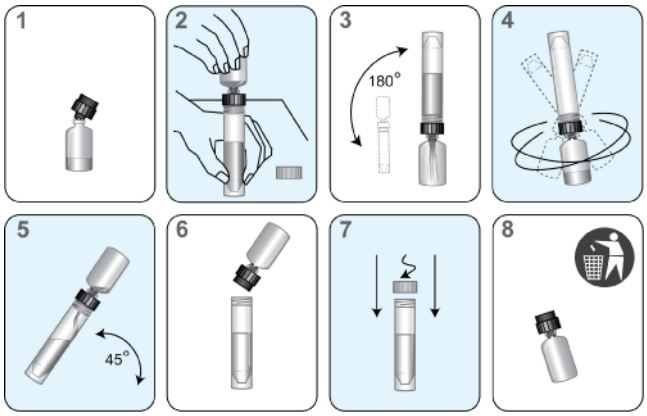


Figura 5. Proceso de reconstitución de los reactivos

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.

   Opción: Los reactivos previamente preparados puede prepararse en un balancín para tubos siguiendo estas instrucciones: Retire los reactivos de su almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Ponga los reactivos en un balancín para tubos y déjelos entre 15 °C y 30 °C durante un mínimo de 30 minutos para que se atemperen.

5. No rellene los frascos de reactivo. El Panther System reconocerá y rechazará los frascos 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 especímenes*.
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 muestras* 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.5 descrito más abajo para obtener más información.

5. 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.

⚠ *No se debe hacer una interpretación diagnóstica a partir de un resultado "No detectado" en muestras diluidas de suero o plasma. Obtenga una nueva muestra sin diluir y repita la prueba.*

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 sistema Panther (consulte el *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther/Panther Fusion 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 (LSDC), 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 sistema Panther (consulte el *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther/Panther Fusion 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.*

6. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla de muestras, centrifugue cada una a entre 1000 y 3000 *g* durante 10 minutos. No retire los tapones. La presencia de burbujas en el tubo afecta a la detección del nivel por parte del Panther System.

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

F. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema siguiendo las instrucciones del *Manual del usuario del Panther/ Panther Fusion 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 muestras (muestra y, cuando sea necesario, calibrador y controles).
   a. Afloje el tapón de un tubo de muestras, pero no lo 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 muestras 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 Aptima HCV Quant Dx Assay, 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 usar el tubo más de una vez 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 validación 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 validación 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 (objetivo nominal LPC: 2,36 $\log_{10}$ IU/mL, objetivo nominal HPC: 5,36 $\log_{10}$ IU/mL). 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 validación 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 estas instrucciones de uso y en el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion System.*

Interpretación de 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 RNA 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), respectivamente. 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 Aptima HCV Quant Dx Assay		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 no detectado.	No reactivo para RNA de HCV
<10 detectados	< 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	De 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. 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.

La Tabla 2 describe los criterios de aceptación de cada uno de los controles del ensayo Aptima HCV Quant Dx.

Nota: *El rango de recuperación que se indica a continuación cambia según el valor asignado a cada lote específico. Consulte la concentración asignada que aparece en la hoja de códigos de barras de control incluida con cada caja de control.*

Tabla 2: Criterios de validación para el intervalo de recuperación de los controles del ensayo Aptima HCV Quant Dx

Componente	Rengo de recuperación para ciclos válidos
Control negativo	N/A
Control positivo bajo	+/- 0,5 log_{10} IU/mL
Control positivo alto	+/- 0,5 log_{10} IU/mL

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 equívocos.

B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.

C. Aunque es raro, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma viral de los cebadores y/o sondas en el ensayo Aptima HCV Quant Dx pueden dar como resultado la imposibilidad de detectar el virus.

Rendimiento analítico

Límite de detección (LDD) utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS

El límite de detección (LDD) del ensayo se define como la concentración de DNA de HCV que se detecta con una probabilidad de 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI.[18]

El LDD se determinó analizando paneles de la 2.ª norma internacional de la OMS para RNA del virus de la hepatitis C (NIBSC 96/798 genotipo 1) diluidos en plasma EDTA 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. El límite de detección del 95 % del ensayo Aptima HCV Quant Dx utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS para HCV es de 4,3 IU/mL para plasma y 3,9 IU/mL para suero.

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 utilizando un ensayo aprobado. 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 los límites de detección previstos del 95 %. 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	95 %	4,0	5,2
2	95 %	2,8	4,0
3	95 %	4,3	3,4
4	95 %	4,8	2,3
5	95 %	2,1	3,3
6	95 %	4,1	3,9

Rango lineal

El rango lineal se estableció analizando paneles de Armored RNA de HCV 1a diluidos en plasma y suero humano negativo para HCV según el documento EP06-A del CLSI.[19] Las concentraciones de los paneles fueron de 1,0 log_{10} a 8,2 log_{10} IU/mL. El Aptima HCV Quant Dx Assay demostró linealidad en todo el rango analizado, con un límite superior de cuantificación (LSDC) de 8,0 log_{10} IU/mL, tal como se muestra en la Figura 6.

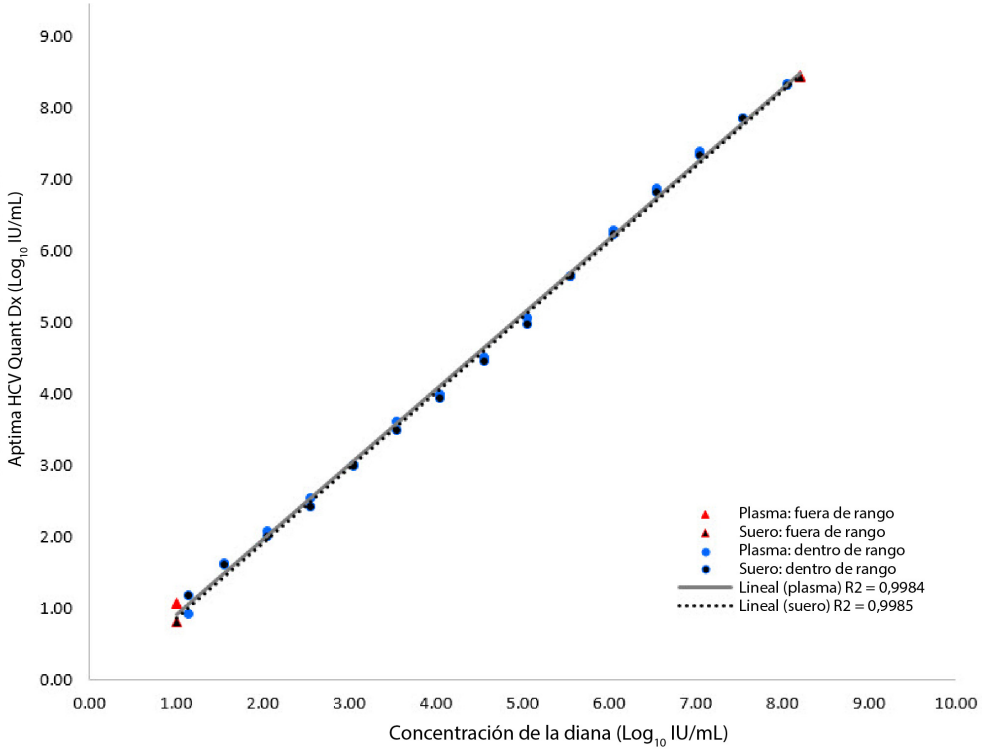


Figura 6. Linealidad en plasma y suero

Linealidad en genotipos de HCV

La linealidad y el rango lineal de los genotipos 1 del HCV (1a para plasma y 1b para suero) al 6 se establecieron analizando positivos clínicos individuales diluidos, uno para cada genotipo del HCV para el rango inferior del ensayo combinado con aRNA (HCV 1a) para el rango más elevado del ensayo (superior a 100.000 UI/ml). Las disoluciones tanto en plasma humano negativo como en suero se analizaron para todos los genotipos. Se demostró linealidad para los seis genotipos en todo el intervalo probado, como muestra la Figura 7 para plasma y la Figura 8 para suero.

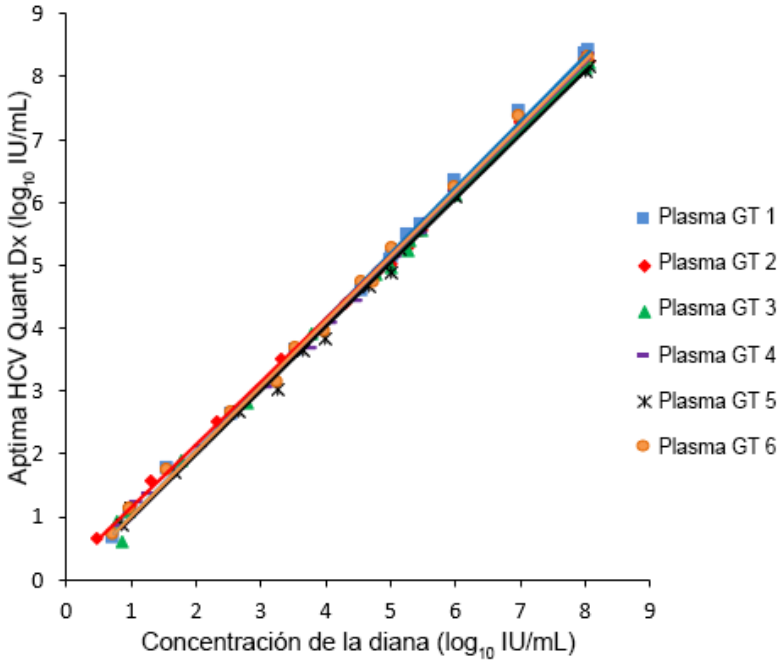


Figura 7. Rango lineal y linealidad (plasma)

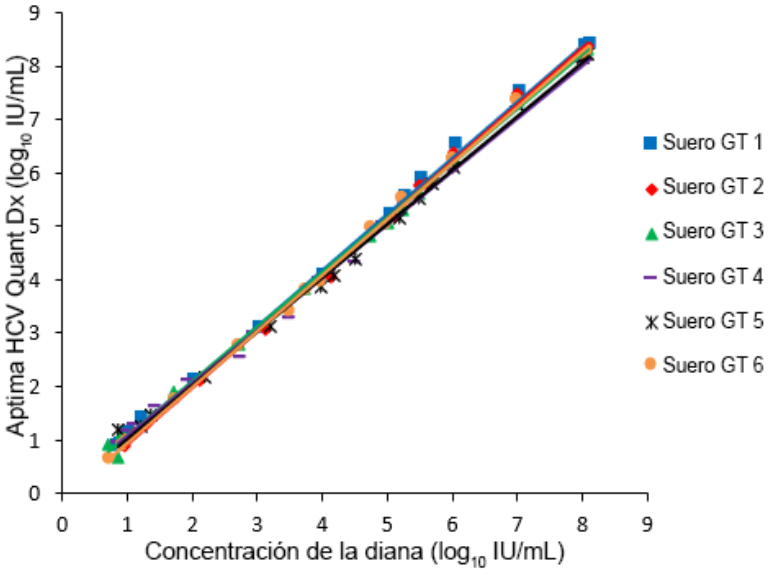


Figura 8. Rango lineal y linealidad (suero)

Límite inferior de cuantificación utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja a la que se cuantifica el DNA de CMV de manera fiable dentro de un margen total de error, según el documento EP17-A2 del CLSI.[18] El error total se calculó a través de dos métodos: Error analítico total (TAE) = sesgo + 2DE, y Error total (TE) = SQRT(2) x 2DE. Para asegurar la exactitud y la precisión de las mediciones, el error total del ensayo Aptima HCV Quant se estableció a 1 $\log_{10}$ IU/mL (esto es, en el LIDC la diferencia entre dos mediciones de más de 1 $\log_{10}$ IU/mL es estadísticamente significativa).

El LIDC se determinó analizando paneles de la 2.ª norma 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 treinta y seis (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 de la 2.ª norma internacional de la OMS es de 7 IU/mL (0,82 $\log_{10}$ IU/mL) para plasma y 9 IU/mL (0,93 $\log_{10}$ IU/mL) para suero, tal como se resume en la Tabla 6. El LIDC se estableció en los distintos genotipos (consulte *Determinación del límite inferior de cuantificación (LIDC) en distintos genotipos de HCV*). Estos datos de genotipos establecen el LIDC del ensayo a 10 IU/mL.

Tabla 4: LIDC utilizando la 2.ª norma iternacional de la OMS para HCV diluido en plasma

Lote de reactivo	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	DE	Sesgo	Calculado TE	Calculado TAE
	(UI/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)
1	3	0,53	0,30	0,05	0,85	0,65
	5	0,73	0,31	-0,04	0,88	0,67
	12	1,08	0,23	0,18	0,65	0,64
2	2	0,37	0,32	-0,11	0,92	0,75
	7	0,82	0,27	0,04	0,78	0,59
	9	0,96	0,26	0,06	0,74	0,58
3	3	0,46	0,25	-0,01	0,71	0,52
	6	0,76	0,34	-0,02	0,95	0,69
	8	0,89	0,26	-0,01	0,73	0,53

DE=desviación estándar

Tabla 5: LIDC utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS para HCV diluido en suero

Lote de reactivo	Aptima HCV Quant Dx	Aptima HCV Quant Dx	DE	Sesgo	Calculado TE	Calculado TAE
	(UI/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)	($\log_{10}$ IU/mL)
1	4	0,65	0,33	0,17	0,94	0,84
	8	0,93	0,32	0,15	0,90	0,79
	12	1,08	0,28	0,18	0,80	0,74
2	3	0,52	0,36	0,04	1,02	0,76
	8	0,89	0,32	0,11	0,90	0,75
	10	1,01	0,21	0,11	0,60	0,53
3	3	0,47	0,39	-0,01	1,11	0,79
	5	0,71	0,30	-0,06	0,86	0,67
	9	0,95	0,29	0,05	0,83	0,63

DE=desviación estándar

Tabla 6: Resumen de LIDC utilizando la 2.ª norma internacional de la OMS para HCV

Lote de reactivo	LIDC del plasma		LIDC del suero	
	UI/mL	log_{10} IU/mL	UI/mL	log_{10} IU/mL
1	5	0,73	8	0,93
2	7	0,82	8	0,89
3	6	0,76	5	0,71

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 determinó mediante un ensayo comparador aprobado. Se procesaron un mínimo de treinta y seis (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, calculados conforme a CLSI EP 17-A2,[18] se muestran en la Tabla 7 para plasma y la Tabla 8 para suero. Solo se informa de un resultado mayor y menor que el LIDC por genotipo en Tabla 7 y Tabla 8 a continuación, ya que estos resultados son los que más reflejan el LIDC esperado. El LIDC de los genotipos 1 al 6 en plasma y suero se resumen en la Tabla 9. El genotipo 6 registró el LIDC más alto para el suero a 10 IU/mL. Estos valores establecen el LIDC del ensayo a 10 IU/mL.

Tabla 7: Determinación del LIDC en distintos genotipos en plasma

Genotipo	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/mL)	DE (log_{10} IU/mL)	Sesgo (log_{10} IU/mL)	TE calculado (log_{10} IU/mL)	TAE calculado (log_{10} IU/mL)
1	4	0,65	0,38	0,17	1,08	0,94
	8	0,88	0,35	0,11	1,00	0,82
	10	0,99	0,24	0,09	0,68	0,56
2	4	0,63	0,40	0,16	1,13	0,95
	6	0,76	0,29	0,15	0,81	0,73
	13	1,12	0,30	0,34	0,86	0,94
3	3	0,52	0,30	-0,26	0,85	0,86
	6	0,80	0,21	-0,20	0,59	0,62
	8	0,89	0,26	-0,19	0,74	0,71
4	4	0,61	0,39	-0,29	1,11	1,07
	7	0,82	0,31	-0,18	0,87	0,80
	10	1,01	0,29	-0,07	0,83	0,65
5	4	0,57	0,37	0,10	1,06	0,85
	7	0,87	0,31	0,09	0,89	0,72
	14	1,15	0,16	0,15	0,44	0,46
6	5	0,66	0,36	0,36	1,02	1,08
	6	0,79	0,28	0,31	0,80	0,87
	14	1,14	0,26	0,36	0,74	0,89

DE=desviación estándar

[a]Se ejecutaron niveles adicionales, pero estos datos no se indicaron en la tabla.

Tabla 8: Determinación del LIDC en distintos genotipos en suero

Genotipo	Aptima HCV Quant Dx[a] (UI/mL)	Aptima HCV Quant Dx[a] (log_{10} IU/mL)	DE (log_{10} IU/mL)	Sesgo (log_{10} IU/mL)	TE calculado (log_{10} IU/mL)	TAE calculado (log_{10} IU/mL)
1	6	0,75	0,36	-0,03	1,02	0,75
	8	0,88	0,32	-0,02	0,89	0,65
	11	1,04	0,29	0,04	0,81	0,61
2	3	0,48	0,35	0,00	0,99	0,70
	6	0,80	0,31	0,02	0,86	0,63
	11	1,04	0,25	0,04	0,72	0,54
3	3	0,45	0,25	-0,33	0,72	0,84
	5	0,67	0,22	-0,33	0,63	0,78
	8	0,92	0,19	-0,16	0,54	0,54
4	2	0,19	0,27	0,19	0,77	0,73
	4	0,65	0,32	0,35	0,91	0,99
	4	0,65	0,34	0,17	0,96	0,85
5	3	0,48	0,37	0,02	1,04	0,76
	5	0,72	0,29	-0,04	0,81	0,61
	11	1,04	0,27	0,10	0,77	0,65
6	4	0,58	0,37	0,11	1,04	0,84
	10	0,99	0,22	0,21	0,61	0,64
	18	1,25	0,22	0,25	0,63	0,70

DE=desviación estándar

[a]Se ejecutaron niveles adicionales, pero estos datos no se indicaron en la tabla.

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

Genotipo de HCV	LIDC del plasma		LIDC del suero	
	UI/mL	log_{10} IU/mL	UI/mL	log_{10} IU/mL
1	8	0,88	8	0,88
2	6	0,76	6	0,80
3	6	0,80	5	0,67
4	7	0,82	4	0,65
5	7	0,87	5	0,72
6	6	0,79	10	0,99

Rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS

Se usó una serie de normas secundarias con concentraciones conocidas a lo largo del desarrollo y fabricación del producto para determinar la rastreabilidad con respecto a la norma de la OMS. Las concentraciones analizadas para la norma de la OMS de HCV estaban entre 4,00 y 2,30 $\log_{10}$ IU/mL, las normas secundarias se situaban entre 1,50 y 8,46 $\log_{10}$ IU/mL. También se probaron los calibradores y controles Aptima HCV Quant Dx junto a las normas secundarias y a la norma de la OMS. Todos los paneles obtuvieron resultados similares y estaban linealmente distribuidos por el rango lineal del ensayo, como se indica en la Figura 9.

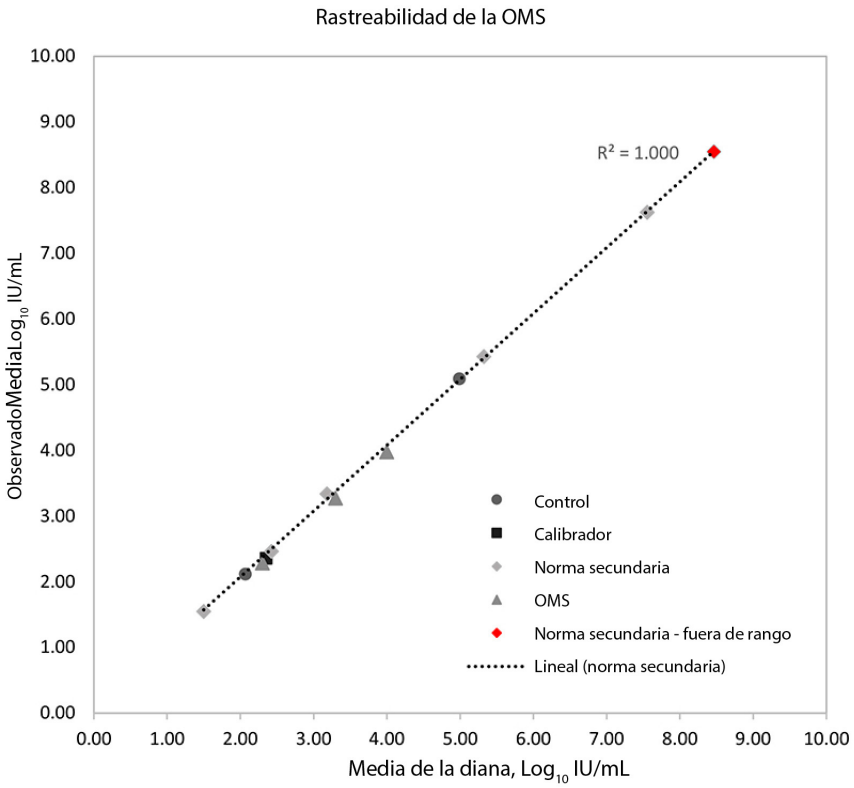


Figura 9. Rastreabilidad entre las concentraciones de la diana de la 2.ª norma de la OMS de HCV y la concentración observada del Aptima HCV Quant Dx Assay

Precisión

El panel de precisión Aptima HCV Quant Dx se estableció diluyendo plasma clínico positivo en HCV y 1a aRNA en plasma clínico negativo para HCV (los dos miembros más altos del panel eran aRNA). Once muestras del panel de cada matriz cubrieron el rango del ensayo (concentraciones de la diana de entre 1,86 $\log_{10}$ IU/mL y 7,68 $\log_{10}$ IU/mL) y se analizaron en tres réplicas por ciclo por parte de un usuario, utilizando tres lotes de reactivo en un sistema Panther a lo largo de 21 días de pruebas, en dos ciclos por día.

La Tabla 10 muestra la precisión de los resultados del ensayo (en $\log_{10}$ IU/mL) entre ciclos, dentro de ciclos y en general. La variabilidad total fue ≤ 0,14 en todas las muestras del panel, principalmente debido a la variabilidad entre ciclos (es decir, debido al error aleatorio).

Tabla 10: Precisión del Aptima HCV Quant Dx Assay

N	Concentración media (UI/mL)	Concentración media ($\log_{10}$ IU/mL)	Entre días DE	Entre ciclos DE	Intraciclo DE	Total DE
126	72	1,86	0,02	0,06	0,12	0,14
126	182	2,26	0,00	0,07	0,07	0,10
126	617	2,79	0,00	0,06	0,08	0,10
126	1.950	3,29	0,00	0,07	0,05	0,08
126	8.128	3,91	0,00	0,06	0,07	0,10
126	616.595	5,79	0,03	0,04	0,06	0,08
125[a]	47.863.009	7,68	0,05	0,05	0,06	0,09

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 sucede, la DE se muestra como 0,00.

Sustancias 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 negativas para HCV y muestras enriquecidas con HCV en una concentración de aproximadamente 15 IU/mL (1,2 $\log_{10}$ IU/mL) o 1995 IU/mL (3,3 $\log_{10}$ IU/mL) de RNA del 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 altos de las sustancias definidas o de pacientes con las enfermedades (diez muestras por cada sustancia) 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-1 (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 (CA)
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 $C_{máx}$ (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

Rendimiento con muestras negativas para HCV

La especificidad se determinó utilizando 198 muestras clínicas recientes y 538 muestras clínicas congeladas negativas para HCV. Se confirmó que un total de 370 muestras de plasma y 366 de suero eran negativas para el HCV mediante los ensayos aprobados. La especificidad se calculó como el porcentaje de muestras negativas para HCV con resultados de "no detectado". No se detectó RNA de HCV en ninguna de las 736 muestras. La especificidad fue del 100 % (736/736, 95 % IC: 99,6 -100 %).

Tabla 13: Rendimiento en muestras clínicas de suero y plasma negativas para HCV

	Plasma reciente	Plasma congelado	Plasma Total	Fresco Suero	Suero congelado	Suero Total	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 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
	(97,1-100)	(98,9-100)	(99,2-100)	(97,0-100)	(98,9-100)	(99,2-100)	(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 aproximadamente 15 IU/mL (1,2 $\log_{10}$ IU/mL) y 1995 (3,3 $\log_{10}$ IU/mL) de HCV en plasma humano negativo para HCV. No se observó ninguna reactividad cruzada. No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo en presencia de los patógenos.

Tabla 14: Microorganismos patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica

Patógeno	Concentración	
Virus de la hepatitis A	100.000	copias/mL
Virus de la hepatitis B (HBV)	100.000	UI/ml[a]
Virus de la hepatitis G	1.470	genoma/mL
HIV-1	100.000	copias/mL
HIV-2	100.000	UFP/ml[b]
Virus del herpes simple 1 (HSV-1)	100.000	UFP/mL
Virus del herpes simple 2 (HSV-2)	100.000	UFP/mL
Virus del herpes humano 6B	100.000	copias/mL
Virus del herpes humano 8	2.667	TCID50 U/ml[c]
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 rubeola	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	N/A	N/A
Virus de la encefalitis de San Luis	N/A	N/A
Virus de la encefalitis del Valle Murray	2.643	LD50/mL[e]
Virus de la fiebre amarilla	100.000	células/mL

Patógeno	Concentración	
Corynebacterium diphtheriae	1.000.000	UFC/ml[f]
Streptococcus pneumoniae	1.000.000	CFU/mL
Staphylococcus aureus	1.000.000	CFU/mL
Propionibacterium acnes	1.000.000	CFU/mL
Staphylococcus epidermidis	1.000.000	CFU/mL
Candida albicans	1.000.000	CFU/mL
Neisseria gonorrhoeae	1.000.000	CFU/mL
Chlamydia trachomatis	1.000.000	UFI/ml[g]
Trichomonas vaginalis	1.000.000	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]LD50/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. Se analizaron en presencia o ausencia de aproximadamente 15 UI/mL (1,2 log_{10} UI/mL) o 1995 UI/mL (3,3 log_{10} UI/mL) del virus 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

Equivalencia de matriz

Se evaluaron ciento setenta y seis juegos de muestras de tubos de recogida de sangre coincidentes (tubos de suero, SST, PPT, ACD, K2 EDTA, K3 EDTA) para la equivalencia de matriz. De estos conjuntos de muestras, 68 eran positivos para HCV infectados naturalmente y 108 eran negativos para HCV. Veintiséis de los 68 positivos se diluyeron además con 13 muestras negativas de tubos de recogida de sangre emparejados a 1:10, 1:100 y 1:1000 o 1:100, 1:10.000 y 1:100.000, con concentraciones en todo el rango dinámico del ensayo (146 réplicas positivas por tubo de recogida). La correlación se midió utilizando el tubo de recogida de suero a modo de elemento comparador.

Tabla 16: Estudio de equivalencia de matriz

Tubo de recogida de sangre	Regresión de Deming	95 % de IC de pendiente		95 % de IC de intercepción		R^2	Diferencia media (log_{10})
		Inferior Límite	Límite superior	Límite inferior	Superior, Límite		
SST	y = 1,00x - 0,01	0,99	1,01	-0,05	0,07	0,998	0,00
K2 EDTA	y = 1,01x - 0,03	0,99	1,02	-0,12	-0,07	0,995	0,00
K3 EDTA	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,07	0,996	-0,02
ACD	y = 1,00x - 0,14	0,99	1,01	-0,20	-0,08	0,997	-0,13
PPT	y = 1,00x - 0,01	0,98	1,01	-0,10	0,08	0,996	-0,01

Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras Aptima (1:3)

Para evaluar la exactitud de la detección de RNA de HCV en muestras de plasma o suero diluidas con diluyente de muestras Aptima, las muestras de 1,67 log_{10} IU/mL a 6,34 log_{10} IU/mL se diluyeron en una relación 1:3 con el diluyente de muestras Aptima (240 µL de muestra combinada con 480 µL de diluyente de muestras Aptima). Cada muestra se analizó por triplicado sin diluir y diluida (1:3). El análisis se realizó empleando un lote de reactivos de ensayo en un sistema Panther con dos lotes de diluyente de muestras Aptima. La diferencia entre los resultados de la prueba puros y diluidos se calculó para cada conjunto de muestras como se muestra en la Tabla 17 para plasma y la Tabla 18 para suero.

Tabla 17: Resumen de comparación de matriz de dilución 1:3 de muestra de plasma de Log_{10} IU/mL

Matriz de plasma Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 3	Diluyente Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 6	Diferencia Diluyente de matriz de plasma (log_{10} IU/mL)
1,74[a]	1,57[b]	-0,18
4,56	4,36	-0,20
5,62	5,46	-0,17
3,69	3,56	-0,13
2,65	2,60	-0,05
4,18	4,09	-0,09
3,25	3,28	0,03
4,12	4,06	-0,07
3,54	3,48	-0,06
6,20	5,91	-0,30

[a]Resultado de dos réplicas. Un resultado "Detectado", pero no cuantificado.
[b]Resultado de cuatro réplicas. Dos resultados "Detectados", pero no cuantificados.

Tabla 18: Resumen de la comparativa de la matriz de dilución 1:3 de muestra de suero de Log10 IU/mL

Matriz de suero Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 3	Diluyente Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 6	Diferencia Diluyente de matriz de suero (log_{10} IU/mL)
1,50[a]	1,80	0,30
5,32	5,14	-0,18
3,65	3,59	-0,06
4,91	4,71	-0,20
3,66	3,72	0,06
3,81	3,74	-0,07
2,42	2,60	0,18
2,65	2,88	0,23
4,90	4,70	-0,21
6,17	6,00	-0,17

[a]Resultado de dos réplicas. Un resultado "Detectado", pero no cuantificado.

Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras Aptima (1:100)

Para evaluar la precisión de la detección del RNA de HCV en muestras diluidas con plasma o suero con diluyente de muestras Aptima, se analizaron por triplicado cinco muestras de plasma infectadas de forma natural y cinco muestras de suero infectadas de forma natural, junto con diez muestras de plasma y suero negativos para HCV con aRNA de HCV superior al LSDC, 8 log_{10} UI/mL a 8,30 log_{10} UI/mL. Se realizó una dilución 1:100 con una parte de muestra y 99 partes de diluyente de muestras Aptima justo antes del análisis. El análisis se realizó empleando un lote de reactivos de ensayo en un sistema Panther con dos lotes de diluyente de muestras Aptima. La diferencia entre los resultados de la prueba puros y diluidos se calculó para cada conjunto de muestras como se muestra en la Tabla 19 para plasma y la Tabla 20 para suero.

Tabla 19: Resumen de la comparativa de la matriz de dilución 1:100 de muestra de plasma de Log_{10} IU/mL

Matriz	Dilución	Matriz de plasma Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 3	Diluyente Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 6	Diferencia
Plasma	1:100	8,03[a]	7,95	-0,08
		8,07[a]	7,93	-0,15
		8,14[a]	7,97	-0,17
		8,16[a]	7,94	-0,22
		8,09[a]	7,96	-0,13
		8,38[a]	7,97	-0,42
		7,98[a]	7,89	-0,09
		8,08[a]	7,89	-0,19
		8,14[a]	7,92	-0,22
		8,08[a]	7,97	-0,11
		6,41	6,22	-0,19
		6,73	6,58	-0,15
		6,88	6,75	-0,14
		6,54	6,51	-0,03
		6,55	6,29	-0,27

[a]Muestra enriquecida

Tabla 20: Resumen de la comparativa de la matriz de dilución 1:100 de muestra de suero de Log10 IU/mL

Matriz	Dilución	Matriz de suero Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 3	Diluyente Concentración media notificada (log_{10} IU/mL) n = 6	Diferencia
Suero	1:100	8,04[a]	7,94	-0,09
		8,07[a]	7,91	-0,16
		7,99[a]	7,91	-0,08
		8,03[a]	7,92	-0,11
		7,99[a]	7,89	-0,09
		8,05[a]	7,85	-0,20
		8,16[a]	7,93	-0,23
		8,16[a]	7,90	-0,26
		8,06[a]	7,89	-0,17
		8,26[a]	7,92	-0,34
		7,34	7,09	-0,25
		7,07	6,83	-0,24
		7,18	6,80	-0,38
		7,35[b]	7,12	-0,23
		7,07	6,68	-0,39

[a]Muestra enriquecida
[b]Resultado de dos de las tres réplicas analizadas. Una réplica errática eliminada.

Confirmación del LIDC en muestras clínicas diluidas en diluyente de muestras

El LIDC del ensayo Aptima HCV Quant se confirmó con muestras clínicas del genotipo 1 de HCV diluidas en diluyente de muestras Aptima. Las muestras se prepararon en suero y plasma humano negativo para HCV a 21, 30 y 45 IU/mL. Cada panel se diluyó en una proporción 1:3 en diluyente de muestras Aptima justo antes del análisis para obtener concentraciones finales de aproximadamente 7, 10 y 15 IU/mL. Se analizaron treinta y seis (36) réplicas de cada muestra del panel con un lote de reactivos durante un periodo de tres días. Se confirmó un LIDC ≤10 IU/mL para suero y plasma de HCV diluido en diluyente de muestras Aptima, como se indica en la Tabla 21.

Tabla 21: Confirmación del LIDC: muestras clínicas en diluyente de muestras Aptima

Matriz	Concentración diana (IU/mL)	Concentración diana (log_{10} IU/mL)	% Detectado	Aptima HCV Quant Dx (IU/mL)	Aptima HCV Quant Dx (log_{10} IU/mL)	DE (log_{10} IU/mL)	Sesgo (log_{10} IU/mL)	TE calculado (log_{10} IU/mL)	TAE calculado (log_{10} IU/mL)
Plasma	7	0,85	100 %	9	0,94	0,25	0,10	0,71	0,60
Suero	7	0,85	100 %	9	0,96	0,21	0,12	0,60	0,54

Precisión de las muestras diluidas

El panel de precisión Aptima HCV Quant Dx se estableció diluyendo plasma clínico positivo en HCV y aRNA en plasma clínico negativo para HCV. Estas se diluyeron además en diluyente de muestras Aptima Los paneles positivos se diluyeron en diluyente de muestras Aptima. Estos se analizaron en tres réplicas por ciclo por parte de un usuario, empleando un lote piloto de reactivos en un sistema Panther a lo largo de 21 días de pruebas, con dos ciclos al día.

La Tabla 22 muestra la precisión de los resultados del ensayo (en $\log_{10}$ IU/mL) entre ciclos, dentro de ciclos, entre días y en general. La variabilidad total fue ≤ 0,15 en todas las muestras del panel, principalmente debido a la variabilidad entre ciclos (es decir, debido al error aleatorio).

Tabla 22: Precisión de los paneles diluidos en diluyente de muestras Aptima

Dilución	N	Concentración de la diana ($\log_{10}$ IU/ml)	Desviación estándar			
			Entre días	Entre ciclos	Intraciclo	Total
1:3	126	2,24	0,00	0,05	0,13	0,14
1:100	126	3,86	0,06	0,05	0,12	0,15
1:100	126	7,31	0,03	0,10	0,05	0,12

[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.*

Contaminación por arrastre

Para establecer que el Panther System reduce al mínimo el riesgo de resultados positivos falsos provocados por contaminación de transferencia de muestra, se realizó un estudio de varios paneles enriquecidos en tres sistemas Panther. La contaminación por transferencia de muestra se evaluó utilizando muestras de plasma enriquecidas con aRNA de título elevado (7 $\log_{10}$ IU/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 transferencia de muestra 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 Aptima HCV Quant Dx Assay 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 23. El ensayo Aptima HCV Quant Dx detectaba la presencia de HCV como media 20 días antes que los análisis de anticuerpos.

Tabla 23: 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

El análisis 1 de anticuerpos anti-HCV se realizó con el ensayo Abbott 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

Estudio de reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó en el sistema Panther en tres centros externos de EE. UU. Dos usuarios completaron los análisis en cada centro. Cada usuario ejecutó dos ciclos al día durante tres días utilizando 3 lotes de reactivos en el transcurso de la prueba. Cada ciclo constó de 3 réplicas de cada muestra del panel. En total, se analizaron 108 réplicas de cada muestra del panel.

La reproducibilidad se analizó utilizando muestras del panel elaboradas a partir de plasma negativo para HCV. Los miembros del panel fueron positivos para el genotipo 1, el genotipo 2 o el genotipo 3 del HCV. Las concentraciones de RNA de HCV abarcaron el rango lineal del ensayo.

La Tabla 24 muestra la reproducibilidad y precisión de los resultados del ensayo para cada miembro positivo del panel entre centros, entre operadores, entre lotes, entre días, entre series, dentro de una misma serie y en general, así como la proporción de réplicas con resultados fuera del intervalo notificable del ensayo Aptima HCV Quant Dx.

El coeficiente de variación se calculó según la siguiente ecuación, en la que σ^2 es la varianza muestral de los datos después de la transformación a $\log_{10}$.

$$\%CV = 100 \times \sqrt{(10^{\sigma_2^{\ln(10)}} - 1)}$$

Para el miembro del panel negativo para HCV, se analizaron 108 réplicas y no se detectó RNA de HCV en ninguna de ellas (concordancia negativa=100 %, 95 % de IC: de 96,6 % a 100 %). Para todas las muestras del panel positivas para HCV, los valores de concordancia fueron del 100 %.

Tabla 24: Reproducibilidad de los niveles de RNA de HCV del Aptima HCV Quant Dx Assay en el Panther System en muestras del panel positivas

GT	N	Media observada IU/mL	Media observada Log_{10} IU/mL	Entre centros SD (%CV)	Entre lotes SD (%CV)	Entre usuarios/días[a] SD (%CV)	Entre ciclos SD (%CV)	Dentro de ciclos SD (%CV)	Total SD (%CV)	Inferior al LIDC n (%)	Superior al LSDC n (%)
1	108	10,6	1,0	0,070 (16,22)	0,048 (10,98)	0,000 (0,00)	0,040 (9,20)	0,258 (64,93)	0,274 (69,94)	59 (54,6)	0 (0,0)
	107	19,5	1,3	0,034 (7,77)	0,035 (7,97)	0,009 (2,10)	0,064 (14,91)	0,169 (40,31)	0,187 (45,12)	9 (8,4)	0 (0,0)
	108	43,6	1,6	0,000 (0,00)	0,070 (16,11)	0,000 (0,00)	0,061 (14,13)	0,155 (36,82)	0,180 (43,39)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	602,7	2,8	0,042 (9,58)	0,035 (8,02)	0,022 (5,05)	0,023 (5,30)	0,075 (17,40)	0,098 (22,81)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	22710,9	4,3	0,075 (17,42)	0,045 (10,49)	0,044 (10,08)	0,058 (13,46)	0,071 (16,57)	0,135 (31,74)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	4195539,0	6,6	0,007 (1,65)	0,026 (6,08)	0,045 (10,43)	0,000 (0,00)	0,131 (30,97)	0,142 (33,50)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	58549271,2	7,8	0,010 (2,26)	0,000 (0,00)	0,022 (5,10)	0,035 (8,08)	0,105 (24,42)	0,113 (26,43)	0 (0,0)	1 (0,9)
2	108	11,3	1,0	0,062 (14,29)	0,075 (17,28)	0,112 (26,28)	0,000 (0,00)	0,290 (75,02)	0,326 (86,94)	53 (49,1)	0 (0,0)
	108	13,9	1,1	0,000 (0,00)	0,125 (29,36)	0,128 (30,18)	0,068 (15,83)	0,211 (51,69)	0,285 (73,45)	46 (42,6)	0 (0,0)
	108	62,6	1,8	0,000 (0,00)	0,044 (10,18)	0,101 (23,48)	0,069 (16,00)	0,124 (29,25)	0,180 (43,24)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	351,0	2,5	0,022 (5,18)	0,062 (14,38)	0,004 (1,01)	0,045 (10,31)	0,081 (18,70)	0,113 (26,56)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	14519,2	4,1	0,000 (0,00)	0,051 (11,78)	0,048 (11,01)	0,011 (2,42)	0,092 (21,50)	0,116 (27,25)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	5810012,3	6,8	0,000 (0,00)	0,017 (4,00)	0,041 (9,54)	0,015 (3,53)	0,104 (24,25)	0,114 (26,73)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	77499195,7	7,9	0,000 (0,00)	0,018 (4,24)	0,028 (6,56)	0,000 (0,00)	0,077 (17,77)	0,084 (19,46)	0 (0,0)	10 (9,3)

GT	N	Media observada IU/mL	Media observada Log_{10} IU/mL	Entre centros SD (%CV)	Entre lotes SD (%CV)	Entre usuarios/días[a] SD (%CV)	Entre ciclos SD (%CV)	Dentro de ciclos SD (%CV)	Total SD (%CV)	Inferior al LIDC n (%)	Superior al LSDC n (%)
3	107	8,6	0,9	0,049 (11,32)	0,103 (24,05)	0,056 (12,95)	0,000 (0,00)	0,225 (55,47)	0,258 (65,16)	71 (66,4)	0 (0,0)
	108	14,3	1,1	0,157 (37,31)	0,000 (0,00)	0,090 (21,04)	0,000 (0,00)	0,178 (42,88)	0,254 (63,90)	36 (33,3)	0 (0,0)
	107	49,9	1,7	0,119 (27,96)	0,065 (15,08)	0,047 (10,80)	0,034 (7,81)	0,109 (25,42)	0,183 (44,15)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	218,3	2,2	0,324 (86,23)	0,043 (10,01)	0,139 (32,83)	0,063 (14,64)	0,082 (19,09)	0,370 (103,21)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	8541,1	3,9	0,248 (61,97)	0,056 (12,90)	0,151 (35,77)	0,048 (10,99)	0,078 (18,19)	0,309 (81,20)	0 (0,0)	0 (0,0)
	107	4128761,4	6,6	0,044 (10,17)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,042 (9,61)	0,126 (29,65)	0,140 (33,06)	0 (0,0)	0 (0,0)
	108	63813728,0	7,8	0,012 (2,84)	0,000 (0,00)	0,000 (0,00)	0,059 (13,76)	0,092 (21,32)	0,110 (25,71)	0 (0,0)	3 (2,8)

%CV=coeficiente de variación log normal, Gt=genotipo, DE=desviación estándar (log_{10} IU/mL)

Nota: La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el CV se muestran como 0.

[a] Entre usuarios podría confundirse con Entre días; por lo tanto, las estimaciones Entre usuarios y Entre días se combinan en Entre usuarios/días.

Rendimiento clínico

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 sistemas Panthers 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 10.

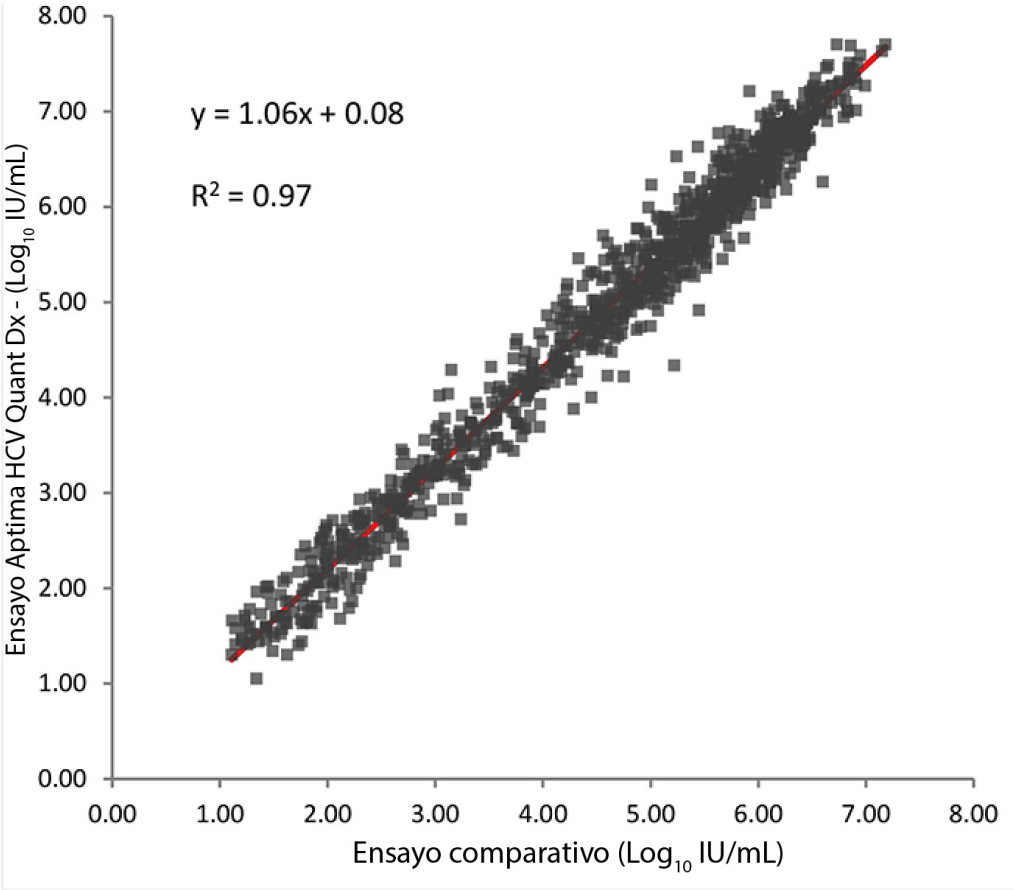


Figura 10. Correlación entre el ensayo Aptima HCV Quant Dx y el ensayo comparativo

Estudio de utilidad clínica

El estudio se diseñó para demostrar la utilidad clínica mediante la estimación de las características de rendimiento para lograr una respuesta virológica sostenida (RVS) o una respuesta virológica no sostenida (RNVS) en puntos temporales establecidos clínicamente relevantes durante el tratamiento antiviral de 8, 12 o 24 semanas. Además, el estudio también evaluó el impacto de las covariables (es decir, edad, sexo, raza, nivel basal de RNA del HCV, presencia o ausencia de cirrosis) en la respuesta RVS.

Se recogieron muestras de forma prospectiva de sujetos con infección crónica por el HCV de genotipos 1, 2 y 3 que iniciaban un tratamiento con Sofosbuvir de 8, 12 o 24 semanas de duración con fármacos aprobados por la FDA y prescritos de acuerdo con el etiquetado aprobado por la FDA y/o las directrices de tratamiento del HCV de la AASLD/IDSA.[20,21] Fueron elegibles los sujetos sin tratamiento previo o con experiencia en tratamiento del HCV, y los sujetos sin cirrosis o con cirrosis compensada, según corresponda para cada régimen de tratamiento.

La determinación de la carga viral de RNA de HCV se realizó al comienzo del estudio, en la semana 1, en la semana 2, en la semana 4, en la semana 8, en la semana 12 y en la semana 24 mediante el ensayo Aptima HCV Quant Dx. Los resultados del seguimiento al final del tratamiento (EOT) y tras el tratamiento en la semana 4 y en la semana 12 se determinaron por medio del ensayo Aptima HCV Quant Dx y dos ensayos cuantitativos de RNA de HCV aprobados. La RVS se definió como un nivel de RNA de HCV < LIDC determinado por un ensayo cuantitativo aprobado para la muestra de la semana 12 posterior al tratamiento.

De los 352 sujetos inscritos en 35 centros clínicos de EE.UU., 274 tenían un estado de RVS concluyente y eran evaluables para el análisis. 56 sujetos tenían un estado de RVS no evaluable y no fueron incluidos en el análisis. Otros 22 sujetos tenían un estado de RVS concluyente, pero no eran evaluables debido a que faltaban los resultados previos al tratamiento/línea base, todos los resultados durante el tratamiento eran <LIDC o no se detectaron, o no se establecieron los genotipos con un ensayo aprobado. En este estudio, el 90,5 % (248/274) de los sujetos lograron una RVS y el 9,5 % (26/274) lograron una RVS (consulte en la Tabla 31 a Tabla 33 los recuentos por genotipo y DRA). La carga viral basal más elevada fue de 7,58 log10 UI/mL, determinada por el ensayo Aptima HCV Quant Dx. Todos los sujetos evaluables completaron la terapia, sin fracasos en el tratamiento (por ejemplo, falta de respuesta). Se analizaron un total de 2.449 muestras recogidas en distintos momentos de cada sujeto en tres centros de pruebas de EE.UU.

La Tabla 25 recoge los datos demográficos y las características clínicas de los 274 sujetos evaluables.

Tabla 25: Datos demográficos y características clínicas

Características		
Total	N	274
Sexo	Mujer, n (%)	112 (40,9)
	Hombre, n (%)	162 (59,1)
Edad (años)	n	274
	Media	55,1
	Mediana	56,0
	DE	10,40
	Mínimo	23
	Máximo	83
	21-49, n (%)	61 (22,3)
	50-70, n (%)	203 (74,1)
	>70, n (%)	10 (3,6)
Etnia	n	274
	Hispana o latina, n (%)	65 (23,7)
	No hispana ni latina, n (%)	202 (73,7)
	Desconocida, n (%)	6 (2,2)
	Rechaza contestar, n (%)	1 (0,4)
Raza[a]	n	274
	Raza blanca, n (%)	223 (81,4)
	Negra o afroamericana, n (%)	43 (15,7)
	Asiática, n (%)	1 (0,4)
	Indio americano/Nativo de Alaska, n (%)	3 (1,1)
	Nativo hawaiano/Isleño del pacífico, n (%)	0 (0,0)
	Otra, n (%)	3 (1,1)
	Desconocida, n (%)	1 (0,4)
	Rechaza contestar, n (%)	0 (0,0)
Genotipo	n	274
	Genotipo 1, n (%)	158 (57,7)
	Genotipo 2, n (%)	66 (24,1)
	Genotipo 3, n (%)	50 (18,2)
Estado del tratamiento de HCV, n (%)	n	274
	Sin experiencia, n (%)	232 (84,7)
	Con experiencia, n (%)	42 (15,3)
	Recaída, n (%)	32 (76,2)
	Respuesta nula, n (%)	1 (2,4)
	Sin respuesta, n (%)	2 (4,8)
	Respuesta parcial, n (%)	3 (7,1)
	Avance, n (%)	1 (2,4)
	Rebote, n (%)	0 (0,0)
	Respuesta desconocida al tratamiento, n (%)	3 (7,1)
	Sin datos, n (%)	0 (0,0)
Estado cirrótico	n	274
	Cirrótico, n (%)	98 (35,8)
	No cirrótico, n (%)	176 (64,2)

[a] Los sujetos pueden notificar varias razas

La Tabla 26 recoge las asignaciones finales de la pauta farmacológica de los 274 sujetos evaluables.

Tabla 26: Resumen de las asignaciones finales de la pauta farmacológica de los sujetos por genotipo

Asignación de pauta farmacológica	Genotipo de HCV n (%)		
	1	2	3
Sofosbuvir y Peginterferón y Ribavirina durante 12 semanas	25 (15,8)	-	3 (6,0)
Sofosbuvir y Simeprevir y/o Ribavirina durante 12 semanas	63 (39,9)	-	-
Sofosbuvir y Simeprevir y/o Ribavirina durante 24 semanas	4 (2,5)	-	-
Sofosbuvir y Ribavirina durante 12 semanas	-	66 (100)	-
Sofosbuvir y Ribavirina durante 24 semanas	6 (3,8)	-	47 (94,0)
Ledipasvir y Sofosbuvir durante 8 semanas	14 (8,9)	-	-
Ledipasvir y Sofosbuvir durante 12 semanas	39 (24,7)	-	-
Ledipasvir y Sofosbuvir durante 24 semanas	7 (4,4)	-	-
Total de pacientes aptos	158	66	50

La Tabla 27 evalúa la asociación de las covariables de línea base (edad, raza, sexo, carga viral del HCV basal [variable binaria] y estado cirrótico) y la RVS mediante la proporción de probabilidades (OR) con análisis de regresión logística de variable única (sin ajustar). Los resultados de los 274 sujetos evaluables se valoraron en función del genotipo del HCV. En el caso de los genotipos 1 y 2, los sujetos cirróticos presentaban menos probabilidades que los no cirróticos de alcanzar la RVS (OR=0,16 [IC del 95% de Wald: 0,04 a 0,63], P=0,009 y OR=0,13 [IC del 95% de Wald: 0,02 a 0,70], P=0,017, respectivamente). Los valores del IC del 95% de otras covariables para los genotipos 1 y 2, y todas las covariables para el genotipo 3, incluyeron el valor 1 y no fueron estadísticamente significativos.

Tabla 27: Evaluación de predictores de línea base de RVS al comienzo del estudio

GT	Categoría	N	Agrupacion	N(%)	Porcentaje Alcanzable RVS	Razón de momios (IC del 95% de Wald) Uso del análisis LR de variable única	Valor P
1	Edad	158	≥ 40 años	146 (92,4)	91,8	0 [0 – ∞)	No calculable
			< 40 años	12 (7,6)	100		
	Sexo	158	Hombres	92 (58,2)	90,2	0,44 (0,11 - 1,69)	0,231
			Mujeres	66 (41,8)	95,5		
	Raza	158	Blanco	116 (73,4)	94,0	2,10 (0,63 - 7,03)	0,227
			No vacío	42 (26,6)	88,1		
	Carga viral de RNA de HCV en el estado inicial[a]	156	> 740,000 IU/mL	111 (71,2)	92,8	1,26 (0,36 - 4,40)	0,721
			≤ 740,000 IU/mL	45 (28,8)	91,1		
	Estado cirrótico	158	Cirrótico	57 (36,1)	84,2	0,16 (0,04 - 0,63)	0,009
			No cirrótico	101 (63,9)	97,0		
2	Edad	66	≥ 40 años	60 (90,9)	88,3	1,51 (0,15 - 14,91)	0,722
			< 40 años	6 (9,1)	83,3		
	Sexo	66	Hombres	36 (54,5)	86,1	0,69 (0,15 - 3,15)	0,631
			Mujeres	30 (45,5)	90,0		
	Raza	66	Blanco	61 (92,4)	86,9	0 [0 – ∞)	No calculable
			No vacío	5 (7,6)	100		
	Carga viral de RNA de HCV en el estado inicial	66	> 740,000 IU/mL	44 (66,7)	84,1	0,25 (0,03 - 2,19)	0,211
			≤ 740,000 IU/mL	22 (33,3)	95,5		
	Estado cirrótico	66	Cirrótico	22 (33,3)	72,7	0,13 (0,02 - 0,70)	0,017
			No cirrótico	44 (66,7)	95,5		
3	Edad	50	≥ 40 años	44 (88,0)	86,4	0 [0 – ∞)	NC
			< 40 años	6 (12,0)	100		
	Sexo	50	Hombres	34 (68,0)	85,3	0,39 (0,04 - 3,62)	0,405
			Mujeres	16 (32,0)	93,8		
	Raza	50	Blanco	46 (92,0)	87,0	0 [0 – ∞)	No calculable
			No vacío	4 (8,0)	100		
	Carga viral de RNA de HCV en el estado inicial[a]	49	> 740,000 IU/mL	30 (61,2)	83,3	0,28 (0,03 - 2,59)	0,261
			≤ 740,000 IU/mL	19 (38,8)	94,7		
	Estado cirrótico	50	Cirrótico	19 (38,0)	78,9	0,26 (0,04 - 1,58)	0,143
			No cirrótico	31 (62,0)	93,5		

IC=intervalo de confianza, GT=genotipo, LR=regresión logística

[a]La covariable de carga viral inicial del RNA de HCV no incluye sujetos que no proporcionaron una carga viral cuantitativa del RNA de HCV antes de comenzar la terapia.

Respuesta a la terapia antiviral

Se han establecido las características de rendimiento del ensayo para los individuos sometidos a determinados tratamientos de DAA. No hay información disponible sobre el valor predictivo del ensayo cuando se utilizan otros tratamientos combinados con DAA.

Definiciones:

Carga viral (VL) en la semana 1 = RNA de HCV <LIDC = 10 UI/mL en la semana 1 del tratamiento antiviral.

Semana 2 VL = RNA de HCV < LIDC = 10 UI/mL en la Semana 2 de terapia antiviral

Semana 4 VL = RNA de HCV < LIDC = 10 UI/mL en la Semana 4 de terapia antiviral

Semana 8 VL = RNA de HCV < LIDC = 10 UI/mL en la Semana 8 de terapia antiviral

Semana 8 VL (EOT): RNA de HCV < LIDC en la semana 8 de terapia antiviral

Semana 12 VL = RNA de HCV < LIDC = 10 UI/mL en la Semana 12 de terapia antiviral

Semana 12 VL (EOT): RNA de HCV < LIDC en la semana 12 de terapia antiviral

Semana 24 VL (EOT): RNA de HCV < LIDC en la semana 24 de terapia antiviral

Respuesta virológica sostenida (RVS)12: RNA de HCV < LIDC en la semana 12 tras completar la terapia antiviral, medido con una prueba de RNA de HCV independiente.

La Tabla 28 y Tabla 29 recogen la frecuencia de respuesta y falta de respuesta de RVS, respectivamente, por genotipo y pauta farmacológica en general, y para sujetos cirróticos, no cirróticos, sin tratamiento previo y con tratamiento previo. La mayoría de los sujetos alcanzaron la RVS en todos los genotipos: 92,4 % genotipo 1, 87,9 % genotipo 2 y 88,0 % genotipo 3. En todos los genotipos, las tasas de RVS fueron generalmente más elevadas en los sujetos no cirróticos que en los cirróticos, y similares entre los sujetos sin tratamiento y con experiencia en el mismo.

Tabla 28: Frecuencia de respuesta RVS por genotipo y pauta farmacológica

GT	DRA	Sujetos que responden RVS n (%)				
		General	Cirrótico	No cirrótico	Sin tratamiento previo	Con experiencia en tratamiento
1	Ledipasvir y Sofosbuvir durante 8 semanas	13/14 (92,9)	N/D	13/14 (92,9)	13/14 (92,9)	N/D
	Ledipasvir y Sofosbuvir durante 12 semanas	39/39 (100)	9/9 (100)	30/30 (100)	34/34 (100)	5/5 (100)
	Ledipasvir y Sofosbuvir durante 24 semanas	6/7 (85,7)	6/7 (85,7)	N/D	N/A	6/7 (85,7)
	Sofosbuvir y Peginterferón y Ribavirina durante 12 semanas	24/25 96,0)	7/7 (100)	17/18 (94,4)	22/23 (95,7)	2/2 (100)
	Sofosbuvir y Ribavirina durante 24 semanas	6/6 (100)	1/1 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)	1/1 (100)
	Sofosbuvir y Simeprevir y/o Ribavirina durante 12 semanas	54/63 (85,7)	21/29 (72,4)	33/34 (97,1)	45/54 (83,3)	9/9 (100)
	Sofosbuvir y Simeprevir y/o Ribavirina durante 24 semanas	4/4 (100)	4/4 (100)	N/D	2/2 (100)	2/2 (100)
2	Sofosbuvir y Ribavirina durante 12 semanas	58/66 (87,9)	16/22 (72,7)	42/44 (95,5)	53/60 (88,3)	5/6 (83,3)
3	Sofosbuvir y Peginterferón y Ribavirina durante 12 semanas	3/3 (100)	3/3 (100)	N/D	1/1 (100)	2/2 (100)
	Sofosbuvir y Ribavirina durante 24 semanas	41/47 (87,2)	12/16 (75,0)	29/31 (93,5)	35/39 (89,7)	6/8 (75,0)

DRA=asignación de pauta farmacológica, GT=genotipo, N/A=la pauta farmacológica no es aplicable a este grupo de pacientes

Tabla 29: Frecuencia de falta de respuesta de la RVS por genotipo y pauta farmacológica

GT	DRA	Sujetos que no responden RVS n (%)				
		General	**Cirrótico**	**No cirrótico**	**Sin tratamiento previo**	**Con experiencia en tratamiento**
1	Ledipasvir y Sofosbuvir durante 8 semanas	1/14 (7,1)	N/D	1/14 (7,1)	1/14 (7,1)	N/D
	Ledipasvir y Sofosbuvir durante 12 semanas	0/39 (0,0)	0/9 (0,0)	0/30 (0,0)	0/34 (0,0)	0/5 (0,0)
	Ledipasvir y Sofosbuvir durante 24 semanas	1/7 (14,3)	1/7 (14,3)	N/D	N/A	1/7 (14,3)
	Sofosbuvir y Peginterferón y Ribavirina durante 12 semanas	1/25 (4,0)	0/7 (0,0)	1/18 (5,6)	1/23 (4,3)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir y Ribavirina durante 24 semanas	0/6 (0,0)	0/1 (0,0)	0/5 (0,0)	0/5 (0,0)	0/1 (0,0)
	Sofosbuvir y Simeprevir y/o Ribavirina durante 12 semanas	9/63 (14,3)	8/29 (27,6)	1/34 (2,9)	9/54 (16,7)	0/9 (0,0)
	Sofosbuvir y Simeprevir y/o Ribavirina durante 24 semanas	0/4 (0,0)	0/4 (0,0)	N/D	0/2 (0,0)	0/2 (0,0)
2	Sofosbuvir y Ribavirina durante 12 semanas	8/66 (12,1)	6/22 (27,3)	2/44 (4,5)	7/60 (11,7)	1/6 (16,7)
3	Sofosbuvir y Peginterferón y Ribavirina durante 12 semanas	0/3 (0,0)	0/3 (0,0)	N/D	0/1 (0,0)	0/2 (0,0)
	Sofosbuvir y Ribavirina durante 24 semanas	6/47 (12,8)	4/16 (25,0)	2/31 (6,5)	4/39 (10,3)	2/8 (25,0)

DRA=asignación de pauta farmacológica, GT=genotipo, N/A=la pauta farmacológica no es aplicable a este grupo de pacientes

La Tabla 30 recoge el porcentaje de sujetos con respuesta virológica (definida como resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx < LIDC) para cada genotipo y pauta farmacológica asignada en cada visita a la semana de tratamiento y postratamiento. La mayoría de los sujetos alcanzaron la RVS en la semana 4 en todos los genotipos, y todos los sujetos alcanzaron la RVS en la semana 8.

Tabla 30: Probabilidad de alcanzar la RVS en las semanas de tratamiento y postratamiento

GT	DRA	N	RVS Reactivo % (n)	No reactivo a RVS % (n)	Porcentaje de sujetos con respuesta virológica por visita[a] n (%)						
					Semanas					EOT	PT04
					1	2	4	8	12		
1	LDV + SOF (8 semanas)	14	92,9 (13/14)	7,1 (1/14)	42,9 (6/14)	76,9 (10/13)	100 (14/14)	N/A	N/A	100 (14/14)	90 (9/10)
	LDV + SOF (12 semanas)	39	100 (39/39)	0,0 (0/39)	11,1 (4/36)	52,6 % (20/38)	92,1 (35/38)	100 (36/36)	N/A	100 (39/39)	100 (33/33)
	LDV + SOF (24 semanas)	7	85,7 (6/7)	14,3 (1/7)	0,0 (0/6)	42,9 (3/7)	71,4 (5/7)	100 (7/7)	100 (7/7)	100 (6/6)	80 (4/5)
	SOF+PEG+RBV (12 semanas)	25	96,0 (24/25)	4,0 (1/25)	40,0 (10/25)	80,0 (20/25)	100 (25/25)	100 (25/25)	N/A	100 (25/25)	100 (25/25)
	SOF+RBV (24 semanas)	6	100 (6/6)	0,0 (0/6)	16,7 (1/6)	66,7 (4/6)	83,3 (5/6)	100 (5/5)	100 (6/6)	100 (5/5)	100 (6/6)
	SOF+SIM+RBV (12 semanas)	63	85,7 (54/63)	14,3 (9/63)	20,7 (12/58)	67,9 (38/56)	98,4 (62/63)	100 (57/57)	N/A	96,6 (57/59)	90,0 (54/60)
	SOF+SIM+RBV (24 semanas)	4	100 (4/4)	0,0 (0/4)	66,7 (2/3)	66,7 (2/3)	100 (4/4)	100 (3/3)	100 (3/3)	100 (4/4)	100 (4/4)
2	SOF+RBV (12 semanas)	66	87,9 (58/66)	12,1 (8/66)	22,2 (12/54)	69,4 (43/62)	95,4 (62/65)	100 (64/64)	N/A	98,5 (64/65)	93,5 (58/62)
3	SOF+PEG+RBV (12 semanas)	3	100 (3/3)	0,0 (0/3)	33,3 (1/3)	100 (2/2)	100 (3/3)	100 (2/2)	N/A	100 (3/3)	100 (3/3)
	SOF+RBV (24 semanas)	47	87,2 (41/47)	12,8 (6/47)	20,9 (9/43)	70,5 (31/44)	100 (46/46)	100 (46/46)	100 (47/47)	100 (42/42)	89,1 (41/46)

DRA= asignación de pauta farmacológica, EOT=fin del tratamiento, N/A=no aplicable porque la visita corresponde al EOT para un tratamiento dado o excede la ventana de tratamiento, PT04=semana 4 posterior al tratamiento

[a]Respuesta viral durante y después del tratamiento definida como < 10 UI/mL.

Nota: EOT no está incluido en la semana de tratamiento.

En el caso de aquellos con genotipo 1, el 95,5 % (150/157) de los sujetos evaluados presentaron respuestas virales durante el tratamiento en la semana 4. Los 7 sujetos con genotipo 1 que no habían respondido en la semana 4 (3 sujetos tratados con LDV + SOF [12 semanas], 2 sujetos tratados con LDV + SOF [24 semanas], 1 sujeto tratado con SOF + RBV [24 semanas] o SOF + SIM ± RBV [12 semanas]) presentaron respuestas virales en el tratamiento en la semana 8. Dos (2) sujetos tratados con SOF + SIM ± RBV (12 semanas) habían recaído al término del tratamiento, y 6 (1 sujeto tratado con LDF + SOF [8 semanas], 1 sujeto tratado con LDF + SOF [24 semanas], y 4 sujetos tratados con SOF + SIM ± RBV [12 semanas]) habían recaído en la semana 4 postratamiento.

En el caso de aquellos con genotipo 2, el 95,4 % (62/65) de los sujetos evaluados presentaron respuestas virales durante el tratamiento en la semana 4. Los 3 sujetos con genotipo 2 que no habían respondido en la semana 4, presentaron respuestas virales en el tratamiento en la semana 8. Un (1) sujeto tratado con SOF + RBV (12 semanas) había recaído al término del tratamiento, y 4 sujetos con la misma asignación de pauta farmacológica habían recaído en la semana 4 posterior al tratamiento.

En el caso de aquellos con genotipo 3, el 100 % (49/49) de los sujetos evaluados presentaron respuestas virales durante el tratamiento en la semana 4. Ningún sujeto (0) había recaído al término del tratamiento, y 5 sujetos tratados con SOF + RBV (24 semanas) habían recaído en la semana 4 posterior al tratamiento.

Basándose en los resultados de este estudio, el ensayo Aptima HCV Quant Dx puede emplearse como ayuda en el tratamiento de pacientes infectados por el HCV sometidos a terapia antiviral basada en sofosbuvir y para determinar la respuesta y la falta de respuesta a la RVS. Los resultados del ensayo pueden utilizarse para medir cuantitativamente los niveles de RNA de HCV en plasma humano al comienzo y durante el tratamiento.

Estudio de utilidad diagnóstica

La sensibilidad se evaluó en 338 sujetos con anticuerpos positivos del HCV de una población de alto riesgo. La Tabla 31 recoge las características demográficas y clínicas del sujeto.

Tabla 31: Características demográficas y clínicas de los sujetos con anticuerpos positivos del HCV

Características		
Total	*N*	338
Sexo	Mujer, n (%)	80 (23,7)
	Hombre, n (%)	258 (76,3)
Edad (años)	Media	48,2
	Mediana	51,0
	DE	11,01
	<21, n (%)	2 (0,6)
	21-49, n (%)	152 (45,0)
	50-70, n (%)	182 (53,8)
	>70, n (%)	2 (0,6)
Raza/origen étnico[a]	Raza blanca, n (%)	86 (25,4)
	Negra, n (%)	118 (34,9)
	Asiática, n (%)	1 (0,3)
	Hispana, n (%)	123 (36,4)
	Origen étnico mixto, n (%)	4 (1,2)
	Otra, n (%)	10 (3,0)
	Desconocida, n (%)	0 (0,0)
Factores de riesgo[b]	Consumo de drogas inyectables, n (%)	294 (87,0)
	Receptores de factores de coagulación fabricados antes de 1990, n (%)	0 (0,0)
	Diagnosticados/tratados por hepatitis, n (%)	172 (50,9)
	Diagnosticados/tratados por HIV, n (%)	13 (3,8)
	Antecedentes de encarcelación, n (%)	311 (92,0)
	Recibir una transfusión de sangre o componentes sanguíneos, n (%)	39 (11,5)
	Recibir un trasplante, n (%)	0 (0,0)
	Hemodiálisis, n (%)	3 (0,9)
	Niveles de ALT persistentemente elevados, n (%)	2 (0,6)
	Nacidos entre 1945 y 1965, n (%)	192 (56,8)
Estado de infección por HCV	RNA positivo en HCV, n (%)	259 (76,6)
	RNA negativo en HCV, n (%)	79 (23,4)

ALT = alanina aminotransferasa, HIV=virus de inmunodeficiencia humana
[a]Puede notificar varias razas.
[b]Puede notificar varios factores de riesgo.

Las muestras se analizaron con una prueba cualitativa aprobada de RNA de HCV, una prueba aprobada de anticuerpos contra el HCV y el ensayo Aptima HCV Quant Dx. El estudio incluyó 338 sujetos reactivos a los anticuerpos del HCV. Según las pautas actuales de la AASLD, se debe utilizar una NAAT aprobada por la FDA con un nivel de detección de 25 UI/mL o menos[20] para confirmar un estado de infección por HCV positivo luego de un resultado reactivo de la prueba de anticuerpos contra el HCV. La concordancia entre el estado de infección del paciente y los resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx se determinó utilizando un punto de corte de 25 UI/mL. Las muestras < 25 UI/mL se consideraron "no detectadas", mientras las muestras con resultados ≥ 25 UI/mL se consideraron "detectadas". Ver Tabla 32.

Los resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx se compararon con un estado de infección del paciente basado en los resultados de las pruebas de anticuerpos del HCV aprobadas y los resultados de las pruebas cualitativas de RNA aprobadas. El estado de infección del paciente se consideró positivo para el HCV si tanto la prueba de anticuerpos del HCV aprobada como la prueba cualitativa aprobada arrojaban resultados reactivos. El estado de infección del paciente se consideró negativo si la prueba de anticuerpos del HCV aprobada arrojaba un resultado no reactivo.

De los 338 sujetos con resultados reactivos de anticuerpos del HCV, 256 fueron detectados por el ensayo Aptima HCV Quant Dx (% de concordancia positiva = 98,8 %). De los tres sujetos en los que el RNA de HCV se cuantificó por debajo de 25 UI/mL o no se detectó, en dos sujetos se detectó un resultado, pero no cuantificado (RNA de HCV < 10 UI/mL) y un sujeto tuvo un resultado cuantitativo de RNA de HCV de 12 UI/mL.

Tabla 32: Concordancia entre los resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx y el estado de infección del paciente empleando un valor de corte de 25 UI/mL

Aptima HCV Quant Dx Resultado del ensayo	**Estado de infección del paciente**		**Total**
	Positivo HCV	**Negativo HCV**	
RNA de HCV cuantificado igual o superior a 25 UI/mL	256	0	256
RNA de HCV cuantificado o detectado por debajo de 25 UI/mL o no detectado	3[a]	79	82
Total	259	79	338
% de concordancia positiva (95 % de puntuación del IC)	98,8 (96,7-99,6)	N/A	N/A
% de concordancia negativa (95 % de puntuación del IC)	N/A	100 (95,4-100)	N/A

IC (CI)= Intervalo de confianza, N/A = no aplicable

[a] El ensayo Aptima HCV Quant Dx detectó, pero no cuantificó, el RNA de HCV (<10 UI/ml) en dos sujetos, y al tercer sujeto se le cuantificó el RNA de HCV a 12 UI/ml.

Este estudio demuestra la utilidad clínica del ensayo Aptima HCV Quant Dx para diagnosticar correctamente a sujetos con infección activa por RNA de HCV en curso y distinguirlos de aquellos con infecciones inactivas en una población con exposición previa al HCV (serología positiva a anticuerpos del HCV).

Reactividad cruzada en sujetos con enfermedad hepática no relacionada con el HCV

Se obtuvieron muestras de suero y plasma (n=214) de individuos con otras enfermedades hepáticas (donde la infección activa por el HCV no se indicaba como causa subyacente). Las muestras se analizaron con una prueba anti-HCV aprobada y una prueba cualitativa de RNA de HCV aprobada para confirmar que las muestras eran negativas para el HCV. Se excluyeron diecisiete (17) muestras positivas para el HCV (con resultados positivos en la prueba anti-HCV y/o resultados reactivos en la prueba cualitativa de RNA del HCV) y tres muestras descalificadas. Las pruebas del ensayo Aptima HCV Quant Dx se realizaron internamente con tres lotes de kits de reactivos. La Tabla 33 recoge los datos demográficos y el estado de la enfermedad hepática de los 194 sujetos evaluables.

Tabla 33: Características demográficas de los sujetos y estado de la enfermedad hepática

Características		Todos
Total	N	194
Sexo	n	193
	Mujer, n (%)	116 (60,1)
	Hombre, n (%)	77 (39,9)
Edad (años)	n	194
	Media	55,2
	Mediana	56,0
	DE	12,19
	Mínimo	25
	Máximo	82
	21-49, n (%)	60 (30,9)
	50-70, n (%)	114 (58,8)
	>70, n (%)	20 (10,3)
Etnia	n	194
	Hispana o latina, n (%)	9 (4,6)
	No hispana ni latina, n (%)	147 (75,8)
	Desconocida, n (%)	38 (19,6)
	Rechaza contestar, n (%)	0 (0,0)
Raza[a]	n	194
	Raza blanca, n (%)	122 (62,9)
	Negra o afroamericana, n (%)	20 (10,3)
	Asiática, n (%)	17 (8,8)
	Indio americano/Nativo de Alaska, n (%)	0 (0,0)
	Nativo hawaiano/Isleño del pacífico, n (%)	1 (0,5)
	Otra, n (%)	34 (17,5)
	Desconocida, n (%)	2 (1,0)
	Rechaza contestar, n (%)	0 (0,0)
Enfermedad del hígado[b]	n	194
	Hepatitis autoinmune, n (%)	31 (16,0)
	Enfermedad hepática alcohólica, n (%)	51 (26,3)
	HBV crónica, n (%)	34 (17,5)
	Cirrosis biliar primaria, n (%)	37 (19,1)
	NASH, n (%)	39 (20,1)
	Múltiples enfermedades hepáticas notificadas, n (%)	2 (1,0)

HBV = virus de la hepatitis B, NASH = esteatohepatitis no alcohólica

[a] Los sujetos podrían indicar varias razas.

[b] Los sujetos con múltiples enfermedades hepáticas informaron tanto hepatitis autoinmune como cirrosis biliar primaria.

La Tabla 34 indica la especificidad del ensayo Aptima HCV Quant Dx por enfermedad hepática y la distribución de los resultados del ensayo Aptima HCV Quant Dx entre las distintas categorías de carga viral. La especificidad fue del 100 % en sujetos con hepatitis crónica por virus B (HBV), cirrosis biliar primaria, esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) y múltiples enfermedades hepáticas notificadas. Se detectaron niveles muy bajos de RNA de HCV en 1 sujeto con hepatitis autoinmune (< 10 UI/mL) y en 4 sujetos con hepatopatía alcohólica (< 10 UI/mL en 3 sujetos y 16 UI/mL en 1 sujeto). En uno de los 5 sujetos se detectó RNA de HCV mediante un ensayo cuantitativo del HCV aprobado.

Tabla 34: Especificidad del ensayo Aptima HCV Quant Dx y resultados de distribución en sujetos negativos para anticuerpos de HCV y RNA con enfermedades hepáticas no relacionadas con el HCV

Enfermedad del hígado	Especificidad (%) 95 % IC[a]	No Detectado	<10 UI/mL	10 a <25 UI/mL	25 a 100.000.000 UI/mL	>100.000.000 UI/mL	Total
Hepatitis autoinmune	96,8 (83,8-99,4)	30 (96,8)	1 (3,2)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	31
Enfermedad hepática alcohólica	92,2 (81,5-96,9)	47 (92,2)	3 (5,9)[b]	1 (2,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	51
HBV crónica	100 (89,8-100)	34 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	34
Cirrosis biliar primaria	100 (90,6-100)	37 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	37
NASH	100 (91,0-100)	39 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	39
Múltiples enfermedades hepáticas[c]	100 (34,2-100)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2
Total	97,4 (94,1-98,9)	189 (97,4)	4 (2,1)	1 (0,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	194

HBV = virus de la hepatitis B, NASH= esteatohepatitis no alcohólica

[a]Puntuación de IC.

[b]A un sujeto se le detectó RNA de HCV mediante un ensayo cuantitativo del HCV aprobado por la FDA.

[c]Los sujetos tenían hepatitis autoinmune y cirrosis biliar primaria.

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. Zalesak M, Francis K, Gedeon A, et al. Current and Future Disease Progression of the Chronic HCV Population in the United States. PLoS One. 2013 May 21;8(5):e63959
3. Engle RE, Bukh J, Alter HJ et al., 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 Gasteroenterology 2014: 20 (28): 9270-9280.
5. Tan SL, editor. Hepatitis C Viruses: Genome and Molecular Biology. Norfolk (UK): Horizon Bioscience; 2006.
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). HCV Guidance: Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2014: www.hcvguidelines.org.
9. CDC. Testing for HCV infection: An update for clinicians and laboratories. MMWR 2013; 62 (18).
10. Sidharthan, S., Kohli, A., Sims, Z., Nelson, A., Osinusi, A., Masur, H., Kottilil, S. Utility of Hepatitis C Viral Load Monitoring on Directly Acting Antiviral Therapy. Clinical Infectious Diseases, 2015.
11. Kohli, A., Shaffer, A., Sherman, A., Kottilil, S. Treatment of hepatitis C: a systematic review. JAMA, 2014.
12. AASLD. Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C. 2015. Published on hcvguidelines.org, accessed Feb 11, 2016.
13. Simmons, B., Saleem, J., Heath, K., Cooke, G., Hill, A. Long-term treatment outcomes of patients infected with Hepatitis C virus: a systematic review and meta-analysis of the survival benefit of achieving a Sustained Virological Response. Clinical Infectious. 2015 Sep 1;61(5):730-40.
14. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
15. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
16. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
17. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
18. **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.
19. **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.
20. AASLD/IDSA. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD and IDSA. http://www.hcvguidelines.org/fullreport. Updated 21 March 2014. Accessed 01 March 2016.
21. AASLD/IDSA HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance: AASLD-IDSA recommendations for testing, managing, and treating adults infected with hepatitis C virus. Hepatology. 2015;62(3):932-954.

Información de contacto e historial de revisiones



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

IVD

CE 2797

EC REP
Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Para obtener las direcciones de correo y los teléfonos del soporte técnico y la atención al cliente específicos de cada país, visite www.hologic.com/support.

Los incidentes graves que se produzcan en relación con el dispositivo en la Unión Europea deben notificarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado Miembro en el que se encuentre el usuario y/o el paciente.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion y sus logotipos asociados son marcas comerciales o registradas de Hologic, Inc. y/o sus filiales en Estados Unidos y/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 patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

©2016-2025 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-28216-301 Rev. 001

2025-12

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-28216-301 Rev. 001	Diciembre de 2025	• Versión inicial.