

Aptima™ HBV Quant Assay

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Para exportación de EE. UU. solamente

Información general	2
Uso indicado	2
Resumen y explicación de la prueba	2
Principios del procedimiento	3
Advertencias y precauciones	4
Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos	6
Recogida y almacenamiento de muestras	7
Muestras conservadas en el Panther System	10
Transporte de las muestras	10
Panther System	11
Reactivos y materiales suministrados	11
Material necesario que debe adquirirse por separado	13
Materiales opcionales	14
Procedimiento de prueba del Panther System	14
Notas de procedimiento	18
Control de calidad	20
Calibración del ensayo	20
Controles negativo y positivo	20
Calibrador interno/control interno	20
Interpretación de los resultados	21
Limitaciones	21
Rendimiento	22
Límite de detección utilizando la 3ª norma internacional de la OMS	22
Límite de detección en distintos genotipos de HBV	23
Rango lineal	24
Linealidad en genotipos de HBV	25
Límite inferior de cuantificación de detección utilizando la 3ª norma internacional de la OMS	25
Determinación del límite inferior de cuantificación (LIDC) en distintos genotipos de HBV	27
Reproducibilidad	29
Substancias potencialmente interferentes	31
Especificidad	32
Especificidad analítica	33
Repetibilidad de las muestras clínicas	34
Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras	35
Correlación de métodos	37
Contaminación por arrastre	37
Bibliografía	38

Información general

Uso indicado

El Aptima HBV Quant Assay (Ensayo Aptima HBVA Quant) es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación del DNA del virus de la hepatitis B (HBV) en suero y plasma humano en el Panther™ System totalmente automático.

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 analizarán en el Panther System automático, donde se procesarán, amplificarán y cuantificarán. Las muestras que contengan los genotipos del HBV: A, B, C, D, E, F, G y H son válidas para la cuantificación mediante este ensayo.

El Aptima HBV Quant Assay está indicado para utilizarse como ayuda en el tratamiento de pacientes que padecen infección crónica por HBV que reciben tratamiento farmacológico antiviral para el HBV. El ensayo puede utilizarse para medir los niveles de DNA de HBV en el estado inicial y durante el tratamiento para facilitar la evaluación de la respuesta viral en el tratamiento. Los resultados del Aptima HBV Quant Assay deben interpretarse en el contexto de todos los resultados clínicos y de laboratorio significativos.

El Aptima HBV Quant Assay no está concebido para utilizarse como una prueba de cribado en la sangre o hemoderivados para HBV o como herramienta de diagnóstico para confirmar la presencia de infección por HBV.

Resumen y explicación de la prueba

El virus de la hepatitis B (HBV), uno de los virus que pueden causar hepatitis, produce infección por HBV permanente, cirrosis hepática, cáncer de hígado, insuficiencia hepática y, potencialmente, muerte. La Organización Mundial de la Salud (OMS) indica que el HBV es una de las enfermedades infecciosas más comunes en el mundo. La prevalencia de la infección por el HBV y el método de transmisión varía mucho en todo el mundo. Alrededor de un tercio de la población mundial presenta signos serológicos de infección por HBV en el pasado o presente, con infección crónica por HBV en más de 350 millones de personas en el mundo.^{1,2,3} La infección por HBV da lugar a un mayor riesgo de descompensación hepática, cirrosis y carcinoma hepatocelular (CHC), con una mortalidad de 0,5 a 1,2 millones de muertes y un 5-10 % de casos de trasplante de hígado al año.^{4,5} Sin un tratamiento adecuado, intervención y seguimiento después del diagnóstico, la incidencia acumulada en 5 años de la cirrosis oscila entre el 8 y el 20 %. Una vez desarrollada la cirrosis, el riesgo anual de carcinoma hepatocelular (CHC) oscila entre el 2 y el 5 %.⁶

El HBV contiene un genoma de DNA de doble cadena parcial de aproximadamente 3.200 pares de bases, que codifican cuatro fracciones de lectura abierta (ORF) parcialmente superpuestas que expresan la polimerasa, la superficie, el prenúcleo/núcleo y las proteínas X. El ORF de polimerasa superpone los otros tres ORF y codifica una proteína esencial de replicación viral: la polimerasa. El ORF de superficie expresa tres proteínas que son esenciales para la morfogénesis viral, la entrada viral en los hepatocitos y provoca la respuesta inmune del huésped.⁷ Hay 8 genotipos del HBV (A-H), que normalmente se encuentran en diferentes ubicaciones del genoma. Actualmente, la cuantificación del DNA de HBV se utiliza para determinar qué pacientes con infección crónica deben ser tratados con el fin de controlar la respuesta al tratamiento y para evaluar los "rebotes" en la carga viral que pueden indicar resistencia al fármaco.⁵

El Aptima HBV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* que utiliza tecnología de amplificación mediada por transcripción en tiempo real (TMA) en el Panther System para cuantificar los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H del DNA de HBV. El Aptima HBV Quant Assay actúa en dos regiones altamente conservadas en los genes de polimerasa y de superficie (para una mayor tolerancia a las posibles mutaciones). El ensayo cumple la 3ª norma internacional de la OMS sobre el virus de la hepatitis B (código NIBSC: 10/264).

Principios del procedimiento

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

Durante la captura seleccionada, el DNA viral se aísla de las muestras. La muestra se trata con un detergente para solubilizar la envoltura viral, desnaturalizar las proteínas y liberar el DNA genómico viral. Los oligonucleótidos de captura hibridan con regiones altamente conservadas del DNA de HBV, 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 Aptima HBV Quant Assay utiliza el método de TMA para amplificar dos regiones del genoma del HBV (gen de polimerasa y gen de superficie). La amplificación de las regiones se logra mediante el uso de cebadores específicos diseñados para amplificar los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H del HBV. El enfoque de la región diana doble con diseño de primer (cebador) dirigida a las regiones altamente conservadas garantiza una cuantificación exacta del DNA de HBV.

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

Advertencias y precauciones

- A. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System) antes de realizar este ensayo.
- C. El reactivo potenciador de diana (TER) qHBV es corrosivo.
- H302 - Nocivo si se ingiere.
 - H314 - Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares.



Información para los laboratorios

- D. **PRECAUCIÓN:** Los controles de este ensayo contienen plasma humano. El plasma es negativo para antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos anti-HCV, anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV-2 y antígeno de HIV cuando se analiza con procedimientos aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos estadounidense. Además, el plasma es no reactivo para DNA de HBV y RNA de HCV y RNA de HIV-1 cuando se analiza con pruebas de ácidos nucleicos aprobadas utilizando muestras combinadas. Todo el material proveniente de sangre humana debe considerarse potencialmente infeccioso y manipularse según las precauciones universales.^{8,9,10}
- E. Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del Aptima HBV Quant Assay y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente el lugar siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- F. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- G. 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.
- H. 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).
- I. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa nacional, internacional y regional.^{8,9,10,11} Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.
- J. Los controles contienen azida sódica como conservante. No utilice tubos de metal para transferir reactivos. Si se desechan soluciones que contengan compuestos de azida sódica en un sistema de tuberías, dichas soluciones se deben diluir y eliminar enjuagando el desagüe con agua corriente abundante. Se recomienda seguir estas precauciones para evitar la acumulación de depósitos en tuberías de metal, donde pueden darse las condiciones necesarias para una explosión.
- K. 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 para las muestras

- L. Las muestras pueden ser infecciosas. Siga las precauciones universales^{8,9,10} para realizar este ensayo. Deben establecerse métodos correctos de manipulación y eliminación de material de acuerdo con la normativa nacional, internacional y regional.¹¹ Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del Aptima HBV Quant Assay y en la manipulación de material infeccioso.
- M. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar la integridad de las mismas. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- N. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.

Información para los ensayos

- O. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.
- P. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes maestros diferentes. Los fluidos del ensayo pueden ser de números de lote diferentes. Los controles y el calibrador pueden ser de números de lote diferentes.
- Q. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- R. Tape y conserve todos los reactivos del ensayo a las temperaturas especificadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente pueden afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos* y *Procedimiento de prueba del Panther System* para obtener más información.

- S. No combine ningún reactivo ni fluido del ensayo sin instrucciones específicas. No rellene los frascos de reactivos o de fluidos que contengan aún líquido. El Panther System verifica los niveles de reactivo.
- T. Evite el contacto del reactivo potenciador de diana con la piel, los ojos y las mucosas. Lave el área afectada con agua si se produce contacto con este reactivo. Si el reactivo se derrama, dilúyalo con agua antes de seguir los procedimientos adecuados del centro de trabajo.

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

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

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

^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, el reactivo de captura (TCR) y el reactivo potenciador de diana (TER) no utilizados después de 30 días o de la fecha de caducidad del lote maestro, lo que ocurra primero.
- C. Los reactivos almacenados en el Panther System tienen 72 horas de estabilidad cargados. Los reactivos pueden cargarse en el Panther System hasta 5 veces. El Panther System registra cada vez que se cargan los reactivos.

- D. Tras descongelar el calibrador, la solución debe ser transparente, esto es, no debe estar turbia ni presentar precipitados.
- ⚠ E. Tanto el reactivo promotor como el reactivo promotor reconstituido son fotosensibles. Proteja estos reactivos de la luz durante la conservación y la preparación para el uso.
- F. El reactivo potenciador de diana qHBV debe estar a una temperatura entre 15 °C y 30 °C antes del uso.

Recogida y almacenamiento de muestras

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

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

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

- Tubos con anticoagulantes EDTA o ACD
- 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 las muestras

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 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 el tubo primario o transferirse a un tubo de alícuotas de muestras Aptima (Specimen Aliquot Tube, SAT) secundario. En el caso de los tubos de recogida primarios, el volumen mínimo de suero o plasma es de 1200 µl, mientras que en el de los SAT es de 700 µl para obtener un volumen de reacción de 500 µl.

Si no se analizan inmediatamente, el plasma y el suero pueden conservarse de acuerdo con las especificaciones siguientes. Si se transfiere a un SAT, 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 24 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 SAT, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas,
- En el tubo de recogida primario o SAT, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días
- En el SAT a -20 °C durante un máximo de 60 días.

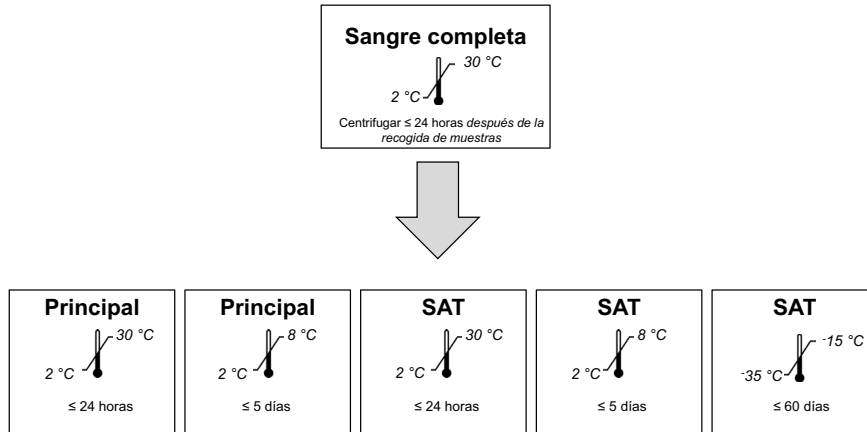


Figura 1. Condiciones de conservación de los tubos con EDTA o ACD

2. Muestras de PPT

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el plasma puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

- En el PPT o SAT, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas,
- En el PPT o SAT, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días o
- En el PPT o SAT a -20 °C durante un máximo de 60 días.

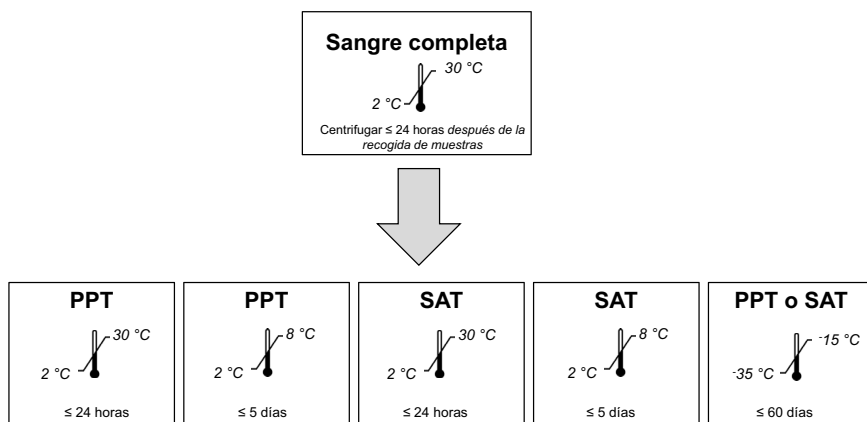


Figura 2. Condiciones de conservación de los PPT

3. Muestras en tubos de suero

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el suero puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

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

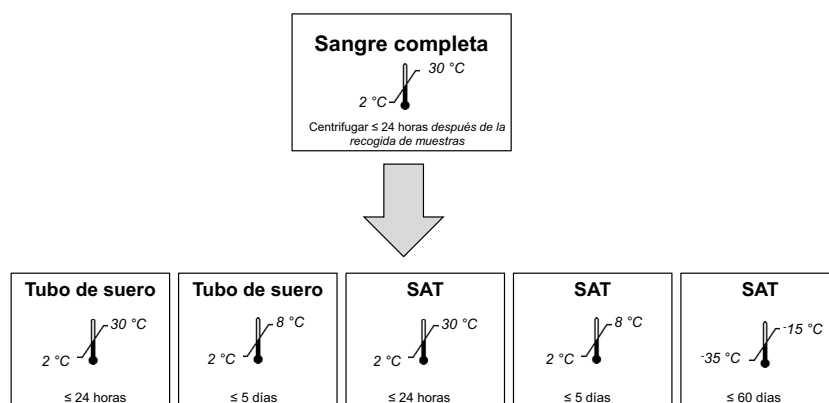


Figura 3. Condiciones de conservación de los tubos de suero

4. Muestras en SST

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras. Posteriormente, el suero puede conservarse en una de las condiciones siguientes:

- En el SST o SAT, entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas,
- En el SST o SAT, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días o
- En el SST o SAT a -20 °C durante un máximo de 60 días.

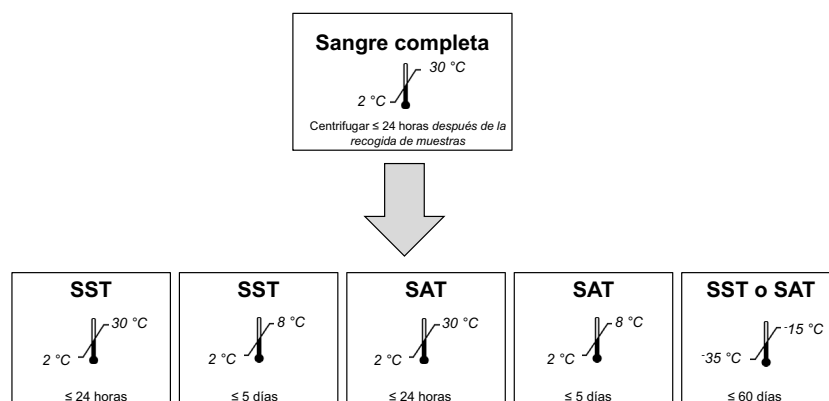


Figura 4. Condiciones de conservación de los SST

C. Conservación a largo plazo de muestras congeladas

Las muestras de suero o plasma pueden conservarse en SAT entre -65 °C y -85 °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 para su análisis en el Panther System. Consulte el *Procedimiento de prueba del Panther System*, párrafo E "Manipulación de muestras", paso 6 para obtener más información.

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

Muestras conservadas en el Panther System

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

Transporte de las muestras

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

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

Panther System

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

Reactivos y materiales suministrados

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

Kit del Aptima HBV Quant Assay, 100 pruebas (REF. PRD-03424)

(1 caja de reactivos de ensayo, 1 kit de calibrador, 1 kit de controles y 1 caja con reactivo potenciador de diana)

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

Caja del Aptima HBV Quant Assay

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

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

Kit de calibrador Aptima HBV Quant (REF. PRD-03425)
(conservar entre -15 °C y -35 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	Calibrador positivo qHBV <i>DNA plasmídico en solución de tampón</i>	5 x 2,5 mL
	Etiqueta de código de barras del calibrador	—

Kit de controles Aptima HBV Quant (REF. PRD-03426)
(conservar entre -15 °C y -35 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
NC	Control negativo qHBV <i>Plasma humano desfibrinado negativo en HBV con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 0,8 mL
LPC	Control positivo bajo qHBV <i>Plasma positivo de HBV inactivado en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 0,8 mL
HPC	Control positivo alto qHBV <i>Plasma positivo de HBV inactivado en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 0,8 mL
	Etiqueta de código de barras de los controles	—

Caja del reactivo potenciador de diana Aptima HBV Quant
(conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
TER	Reactivo potenciador de diana qHBV <i>Una solución concentrada de hidróxido de litio</i>	1 x 46,0 mL

Material necesario que debe adquirirse por separado

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

Material	REF.
Panther System	—
Kit de ciclo del Panther System para ensayos en tiempo real (sólo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5000 pruebas)
<i>Kit de fluidos del ensayo Aptima (también denominado Kit de fluidos universales)</i>	303014 (1000 pruebas)
<i>contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	
<i>Unidades multitubo (Multi-tube Unit, MTU)</i>	104772-02
<i>Kit de bolsas de desechos Panther</i>	902731
<i>Tapa del recipiente de desechos Panther</i>	504405
O bien, el kit de ciclo del Panther System <i>(cuando se procesan ensayos TMA a punto final junto con ensayos TMA en Tiempo Real)</i> <i>contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos, auto detect y fluidos del ensayo</i>	303096 (5000 pruebas)
Puntas, conductoras de 1000 µl, para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones de repuesto para reactivos <i>Frascos de reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor CL0041 (100 tapones)</i>	
<i>Frasco de TCR</i>	CL0040 (100 tapones)
<i>Frasco de TER</i>	501604 (100 tapones)
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Pueden utilizarse tubos de recogida primarios de las siguientes dimensiones:	—
<i>13 mm x 100 mm</i>	
<i>13 mm x 75 mm</i>	
<i>16 mm x 100 mm</i>	
Centrífuga	—
Mezclador vórtex	—

Materiales opcionales

Material	REF.
Tubos de alícuotas de muestras Aptima (SAT) (paquete de 100)	503762
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100) <i>tapón de SAT</i>	504415
Diluyente de muestras Aptima	PRD-03003
Kit de diluyente de muestras Aptima <i>contiene diluyente de muestras, 100 SAT y 100 tapones</i>	PRD-03478
Pipetas de transferencia	—
Paneles comerciales, por ejemplo: <i>Paneles de HBV de control de calidad para diagnóstico molecular (QCMD)</i>	—
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	—

Procedimiento de prueba del Panther System

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

A. Preparación del área de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 % - 3,5 % (0,35 M a 0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.
2. Limpie una superficie de trabajo aparte para preparar las muestras. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).
3. Limpie los pipeteadores que vaya a utilizar. Utilice el procedimiento 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 collar de reconstitución (negro) en el vial (Figura 5, paso 1).
 - iii. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
 - iv. Ponga el frasco de solución de reconstitución sobre una superficie estable (p. ej., un banco). A continuación, invierta el vial de reactivo liofilizado sobre el frasco de solución de reconstitución y acople firmemente el collar en el frasco de solución de reconstitución (Figura 5, paso 2).
 - v. Invierta lentamente los frascos acoplados (el vial acoplado al frasco de solución) para permitir que la solución pase al vial de cristal (Figura 5, paso 3).
 - vi. Agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos (Figura 5, paso 4).
 - vii. Espere al menos 30 minutos para que el reactivo liofilizado entre en la solución.

- viii. Una vez que el reactivo liofilizado haya entrado en la solución, agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos y, a continuación, balancee ligeramente la solución en el interior del vial de cristal hacia delante y hacia atrás para mezclarla bien.
- c. Inclíne lentamente de nuevo los frascos acoplados para hacer que toda la solución vuelva al frasco de solución de reconstitución (Figura 5, paso 5).
- d. Retire con cuidado el collar de reconstitución y el 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 cristal (Figura 5, paso 8).

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

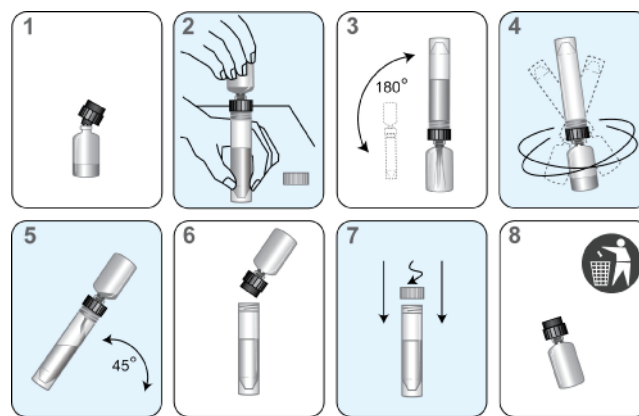


Figura 5. Proceso de reconstitución de los reactivos

- 3. Saque el reactivo potenciador de diana qHBV del almacenamiento de conservación (entre 15 °C y 30 °C). Anote las iniciales del usuario y la fecha de apertura en la etiqueta. Asegúrese de que el número de lote del frasco de TER coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
- D. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos
- 1. Saque los reactivos previamente preparados del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C). 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.
 - 2. Saque el TER del almacenamiento de conservación (entre 15 °C y 30 °C).
 - 3. En el caso del TCR previamente preparado, lleve a cabo el paso C.1 descrito más arriba antes de cargarlo en el sistema.
 - 4. Agite e invierta los reactivos de amplificación, enzimático y promotor para mezclarlos bien antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme demasiada espuma al invertir los reactivos.
 - 5. No rellene las botellas de reactivos. El Panther System reconocerá y rechazará las botellas que se hayan rellenado.

E. Manipulación de muestras

1. Asegúrese de descongelar por completo las muestras congeladas. Agite con un mezclador vórtex las muestras descongeladas de 3 a 5 segundos para mezclarlas bien.
2. 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.
3. Asegúrese de que cada tubo de recogida primario contenga al menos 1200 µl de muestra. Asegúrese de que cada tubo de alícuotas de muestras Aptima (SAT) contenga al menos 700 µl de muestra. Si es necesario diluir las muestras, consulte el paso E.6 descrito más abajo para obtener más información.
4. Agite con un mezclador vórtex las muestras en SAT de 3 a 5 segundos para mezclarlas bien.
5. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla, centrifugue cada muestra entre 1000 y 3000g durante 10 minutos. No retire los tapones. La presencia de burbujas en el tubo afecta a la detección del nivel por parte del Panther System.

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

6. Dilución de una muestra en un SAT

Las muestras de plasma pueden diluirse en SAT para su análisis en el Panther System.

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.
- iii. Tape el tubo.
- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

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

b. Dilución de muestras de altos títulos

Si el resultado de una muestra está por encima del límite superior de cuantificación (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.
- ii. Añada 2970 µl de diluyente de muestras.
- iii. Tape el tubo.
- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

Las muestras diluidas a una relación 1:100 pueden analizarse con la opción 1:100 en el Panther System (consulte el *Panther System Operator's Manual* [Manual del usuario del Panther System] para obtener más información). El software notificará automáticamente el resultado neto aplicando el factor de dilución. Estas muestras se indicarán como muestras diluidas.

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

F. Preparación del sistema

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

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

- b. Cargue el tubo de 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 qHBV, del control positivo bajo qHBV, del control positivo alto qHBV y del control negativo qHBV 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 HBV Quant Assay, las muestras podrán analizarse con el kit reconstituido asociado durante un periodo máximo de 24 horas **a menos que**:
 - a. Los resultados del calibrador o los controles no sean válidos.
 - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
 - c. El kit de reactivos de ensayo asociado ha excedido los límites de estabilidad.
 3. El calibrador y cada tubo de control se puede utilizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.
- B. Talco de guantes
- Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de talco en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

Control de calidad

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

Calibración del ensayo

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

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de 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: 2,7 Log₁₀ IU/mL, Objetivo nominal HPC: 4,6 Log₁₀ 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 este prospecto y el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System).

Interpretación de los resultados

El Panther System determina automáticamente la concentración de DNA de HBV en muestras y controles comparando los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de DNA de HBV 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 opción de dilución para las muestras diluidas, el Panther System calcula automáticamente la concentración de HBV 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 detectado" pueden generarse diluyendo una muestra con una de las concentraciones indicadas más arriba, pero cercana al LDD (límite de detección) o al LIDC (límite inferior de cuantificación). Si no se obtiene un resultado cuantitativo, se recomienda recoger y analizar otra muestra sin diluir.

Tabla 1: Interpretación de resultados

Resultado notificado del Aptima HBV Quant Assay		Interpretación
IU/mL	\log_{10} Valor ^a	
No detectado	No detectado	DNA de HBV no detectado.
< 10 detectado	< 1,0	Se detecta DNA de HBV, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC)
De 10 a 1.000.000.000	De 1,0 a 9,0	La concentración de DNA de HBV está dentro del rango lineal de 10 a 1.000.000.000 IU/mL.
> 1.000.000.000	> 9,0	La concentración de DNA de HBV está por encima del límite superior de cuantificación (LSDC)
No válido ^b	No válido ^b	Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

^a El valor se muestra con dos dígitos decimales.

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

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

Limitaciones

- El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados erróneos.
- La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento de las muestras.
- Aunque es raro, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma viral de los cebadores y/o sondas en el Aptima HBV Quant Assay pueden dar como resultado una menor cuantificación o la imposibilidad de detectar el virus.

Rendimiento

Límite de detección utilizando la 3ª norma internacional de la OMS

El límite de detección (LDD) se define como la concentración de DNA de HBV que se detecta con una probabilidad de 95 % o superior según el documento EP17-A2 de la norma la norma CLSI.¹²

El LDD se determinó analizando paneles de la 3ª norma internacional de la OMS para DNA del virus de la hepatitis B (NIBSC 10/264) diluidos en plasma y suero humano negativo para HBV. Se procesaron un mínimo de 36 réplicas de cada dilución en cada uno de los tres lotes de reactivos para un mínimo de 108 réplicas por cada dilución. Se realizó un análisis probit para generar los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 2. El límite de detección del Aptima HBV Quant Assay utilizando la 3ª norma internacional de la OMS es de 5,58 IU/mL para plasma y 4,29 IU/mL para suero.

Tabla 2: Límite de detección utilizando la 3ª norma internacional de la OMS para HBV

Límite de detección previsto	Concentración (IU/mL)	
	Plasma	Suero
10 %	0,16	0,19
20 %	0,27	0,30
30 %	0,39	0,42
40 %	0,55	0,56
50 %	0,75	0,73
60 %	1,02	0,96
70 %	1,42	1,29
80 %	2,09	1,81
90 %	3,58	2,91
95 %	5,58	4,29

Límite de detección en distintos genotipos de HBV

Para los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H en plasma y suero humano negativo para HBV, el LDD se determinó analizando diluciones de muestras clínicas positivas para HBV. Las concentraciones se determinaron con un ensayo comparador aprobado por la CE y con licencia de Health Canada. Se procesaron un mínimo de 24 réplicas de cada muestra del panel en cada uno de los dos lotes de reactivo para un mínimo de 48 réplicas por muestra del panel. Se realizó un análisis probit para generar el 50 % y el 95 % de los límites de detección previstos. Los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previstos se definen como LDD y se muestran en la Tabla 3.

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

Genotipo	Límite de detección previsto	Concentración (IU/mL)	
		Plasma	Suero
A	50 %	0,48	0,88
	95 %	3,05	3,95
B	50 %	0,59	0,69
	95 %	3,00	4,97
C	50 %	0,79	0,93
	95 %	5,32	4,78
D	50 %	0,82	1,37
	95 %	4,61	7,29
E	50 %	0,93	1,01
	95 %	4,80	4,90
F	50 %	0,75	0,69
	95 %	3,13	3,30
G	50 %	0,52	0,62
	95 %	2,86	3,05
H	50 %	1,05	1,36
	95 %	6,44	6,31

Rango lineal

El rango lineal se estableció analizando paneles de DNA de HBV diluidos en plasma y suero humano negativo para HBV según el documento EP06-A del CLSI.¹³ Las concentraciones de los paneles fueron de 0,86 log IU/mL a 9,26 log IU/mL. El Aptima HBV Quant Assay demostró linealidad en todo el rango analizado, con un límite superior de cuantificación (LSDC) de 9 log IU/mL, tal como se muestra en la Figura 6.

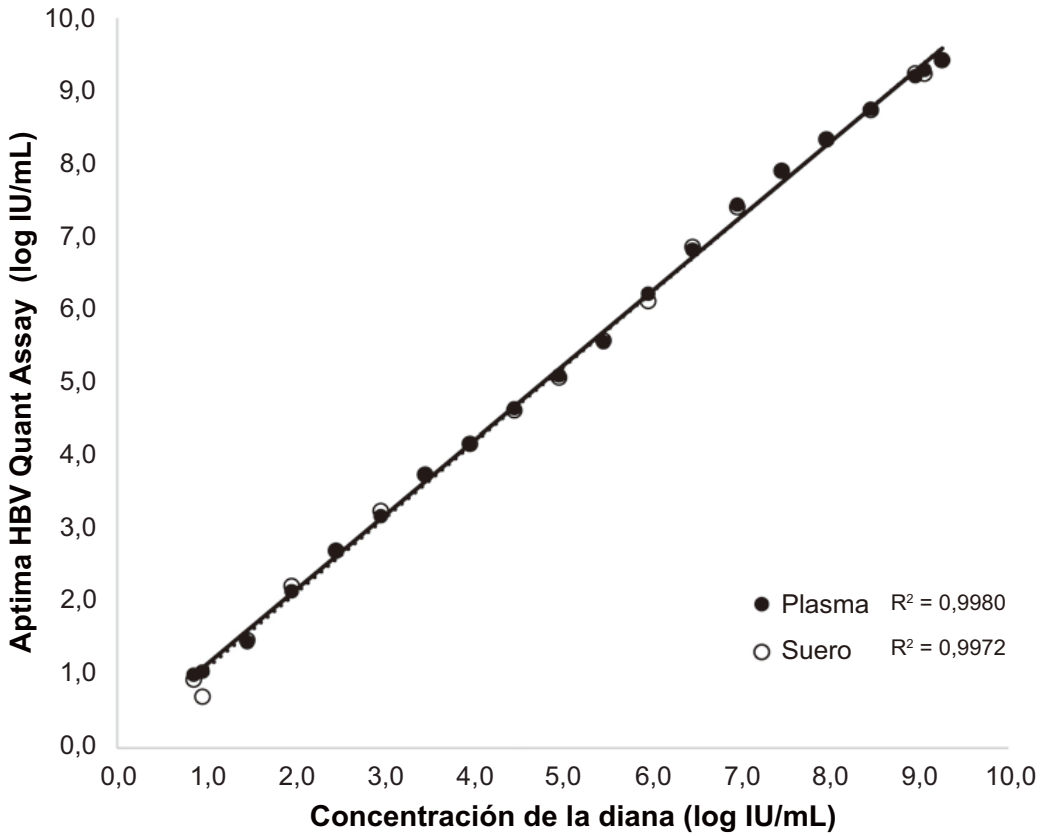


Figura 6. Linealidad en plasma y suero

Linealidad en genotipos de HBV

La respuesta lineal de los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H se confirmó analizando paneles de DNA de HBV diluidos en tampón a concentraciones de entre 1,44 log IU/mL hasta 8,44 log IU/mL. Se observó linealidad en el rango comprobado para todos los tipos analizados, tal como se muestra en la Figura 7.

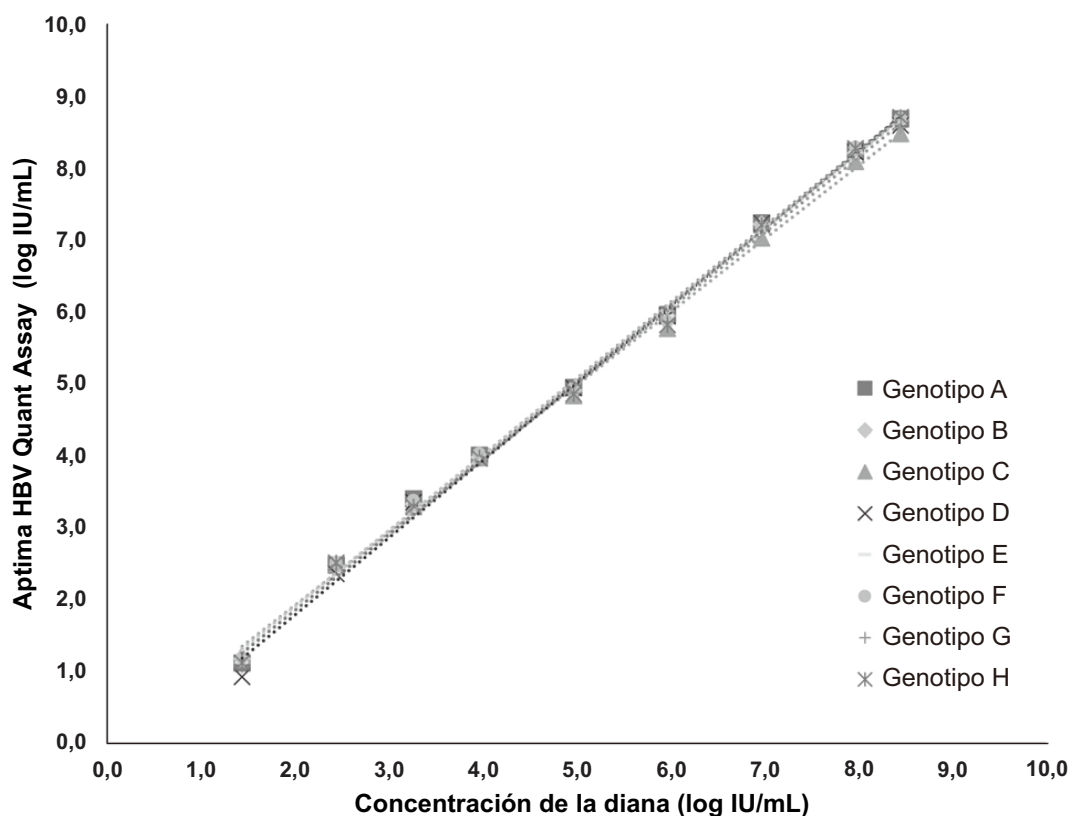


Figura 7. Linealidad A en los genotipos A hasta H de HBV

Límite inferior de cuantificación de detección utilizando la 3ª 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 HBV de manera fiable dentro de un margen total de error, según el documento EP17-A2 del CLSI.¹² El error total se calculó a través de los dos métodos siguientes: 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 Aptima HBV Quant Assay se estableció a 1 log IU/mL (esto es, en el LIDC la diferencia entre dos mediciones de más de 1 log IU/mL es estadísticamente significativa).

El LIDC se determinó analizando paneles de la 3ª norma internacional de la OMS para RNA del virus de la hepatitis B (NIBSC 10/264) diluidos en plasma y suero humano negativo para HBV. Se procesaron un mínimo de 45 réplicas de cada dilución en cada uno de los tres lotes de reactivos para un mínimo de 135 réplicas por cada dilución. Los resultados de los tres lotes de reactivo se muestran en la Tabla 4 para plasma y en la Tabla 5 para suero. Los resultados de la menor concentración observada que ha cumplido el objetivo de precisión (TE ≤ 1 log IU/mL y TAE ≤ 1 log IU/mL) con una detección del 100 % están sombreados en ambas tablas y se resumen en la Tabla 6.

El LIDC calculado según la 3ª norma internacional de la OMS para el virus de la hepatitis B es de 4,80 IU/mL para plasma y de 6,34 IU/mL para suero. Estos resultados se basan en la mayor concentración calculada entre los tres lotes de reactivo. Para el plasma, debido a que el LIDC calculado es inferior al LDD calculado de 5,58 IU/mL, el LIDC para el plasma es de 5,58 IU/mL para la 3ª norma internacional de la OMS para el virus de la hepatitis B de acuerdo con EP 17-A2.

Tabla 4: Determinación del LIDC utilizando la 3ª norma internacional de la OMS para HBV diluido en plasma

Lote de reactivos	Concentración diana		Aptima HBV Quant	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
1	7	0,85	0,63	0,27	0,22	0,75	0,75
	8	0,90	0,68	0,28	0,22	0,78	0,77
	9	0,95	0,79	0,25	0,17	0,70	0,66
2	7	0,85	0,48	0,20	0,37	0,57	0,77
	8	0,90	0,47	0,18	0,44	0,51	0,79
	9	0,95	0,61	0,19	0,34	0,54	0,73
3	7	0,85	0,53	0,21	0,32	0,59	0,74
	8	0,90	0,52	0,21	0,38	0,61	0,81
	9	0,95	0,70	0,23	0,25	0,65	0,71

DE = desviación estándar

Tabla 5: Determinación del LIDC utilizando la 3ª norma internacional de la OMS para HBV diluido en suero

Lote de reactivos	Concentración diana		Aptima HBV Quant	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
1	7	0,85	0,77	0,38	0,08	1,06	0,83
	8	0,90	0,80	0,31	0,10	0,88	0,72
	9	0,95	0,91	0,27	0,05	0,77	0,59
2	7	0,85	0,57	0,20	0,28	0,57	0,68
	8	0,90	0,70	0,22	0,20	0,63	0,64
	9	0,95	0,69	0,23	0,27	0,66	0,73
3	7	0,85	0,65	0,24	0,20	0,67	0,67
	8	0,90	0,65	0,24	0,25	0,68	0,73
	9	0,95	0,67	0,22	0,28	0,63	0,73

DE = desviación estándar

Tabla 6: Resumen del LIDC calculado según la 3ª norma internacional de la OMS para HBV

Lote de reactivo	LIDC del plasma		LIDC del suero	
	(log IU/mL)	(IU/mL)	(log IU/mL)	(IU/mL)
1	0,68	4,80	0,80	6,34
2	0,61	4,09	0,57	3,72
3	0,52	3,34	0,65	4,51

DE = desviación estándar

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

Para los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H en plasma y suero humano negativo para HBV, el LIDC se determinó analizando diluciones de muestras clínicas positivas para HBV. Se procesaron un mínimo de 36 réplicas de cada muestra del panel en cada uno de los dos lotes de reactivo para un mínimo de 72 réplicas por muestra del panel. Los resultados del lote de reactivo con la mayor concentración que ha cumplido el objetivo de precisión ($TE \leq 1 \log \text{IU/mL}$ y $TAE \leq 1 \log \text{IU/mL}$) con una detección del 100 % se indican en la Tabla 7 para el plasma y en la Tabla 8 para el suero. Los resultados de la menor concentración observada que ha cumplido el objetivo de precisión con una detección del 100 % están sombreados en ambas tablas y se resumen en la Tabla 9. El LIDC calculado de los genotipos A, B, C, D, E, F, G y H en plasma y suero se resumen en la Tabla 9. Estos valores establecen el LIDC del ensayo a 10 IU/mL.

Tabla 7: Determinación del LIDC en distintos genotipos en plasma

Genotipo	Concentración diana		Aptima HBV Quant	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
A	7	0,85	0,86	0,71	0,02	2,01	1,44
	8	0,90	0,76	0,34	0,14	0,96	0,82
	9	0,95	0,95	0,27	0,01	0,76	0,55
B	7	0,85	0,85	0,36	0,01	1,01	0,72
	8	0,90	0,93	0,24	0,03	0,67	0,51
	9	0,95	0,94	0,23	0,01	0,64	0,46
C	7	0,85	0,62	0,22	0,23	0,62	0,67
	8	0,90	0,65	0,25	0,25	0,70	0,75
	9	0,95	0,70	0,21	0,26	0,59	0,67
D	8	0,90	0,47	0,19	0,43	0,53	0,81
	9	0,95	0,58	0,17	0,38	0,48	0,72
	10	1,00	0,64	0,24	0,36	0,69	0,85
E	7	0,85	0,59	0,19	0,25	0,53	0,63
	8	0,90	0,59	0,23	0,31	0,66	0,78
	9	0,95	0,68	0,28	0,27	0,80	0,83
F	7	0,85	0,92	0,26	0,07	0,74	0,59
	8	0,90	1,09	0,29	0,18	0,83	0,77
	9	0,95	1,04	0,31	0,09	0,89	0,72
G	7	0,85	0,81	0,27	0,04	0,75	0,57
	8	0,90	0,91	0,26	0,01	0,72	0,52
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,64
H	7	0,85	0,65	0,25	0,19	0,71	0,69
	8	0,90	0,67	0,24	0,23	0,68	0,71
	9	0,95	0,62	0,21	0,33	0,59	0,75

DE = desviación estándar

Tabla 8: Determinación del LIDC en distintos genotipos en suero

Genotipo	Concentración diana		Aptima HBV Quant	DE	Sesgo	TE calculado	TAE calculado
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)	(log IU/mL)
A	7	0,85	0,67	0,28	0,18	0,79	0,74
	8	0,90	0,80	0,34	0,10	0,96	0,78
	9	0,95	0,83	0,26	0,12	0,74	0,65
B	7	0,85	0,56	0,19	0,29	0,54	0,67
	8	0,90	0,71	0,22	0,20	0,62	0,63
	9	0,95	0,59	0,21	0,36	0,59	0,78
C	7	0,85	0,64	0,27	0,20	0,77	0,75
	8	0,90	0,75	0,25	0,15	0,70	0,64
	9	0,95	0,79	0,21	0,16	0,58	0,57
D	8	0,90	0,42	0,14	0,48	0,40	0,76
	9	0,95	0,47	0,18	0,49	0,51	0,84
	10	1,00	0,60	0,23	0,40	0,64	0,85
E	7	0,85	0,56	0,24	0,29	0,69	0,78
	8	0,90	0,63	0,18	0,27	0,50	0,63
	9	0,95	0,67	0,25	0,28	0,70	0,78
F	7	0,85	0,88	0,21	0,03	0,60	0,46
	8	0,90	0,90	0,29	0,01	0,81	0,58
	9	0,95	0,98	0,24	0,02	0,67	0,49
G	7	0,85	0,82	0,24	0,03	0,67	0,50
	8	0,90	0,90	0,25	0,01	0,70	0,50
	9	0,95	1,01	0,23	0,05	0,64	0,51
H	8	0,90	0,69	0,29	0,21	0,81	0,78
	9	0,95	0,77	0,26	0,19	0,74	0,71
	10	1,00	0,78	0,28	0,22	0,80	0,79

DE = desviación estándar

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

Genotipo	LIDC del plasma		LIDC del suero	
	(log IU/mL)	(IU/mL)	(log IU/mL)	(IU/mL)
A	0,95	8,90	0,83	6,79
B	0,93	8,60	0,56	3,59
C	0,62	4,14	0,64	4,38
D	0,64	4,32	0,60	4,01
E	0,59	3,91	0,56	3,60
F	0,92	8,25	0,88	7,56
G	0,81	6,42	0,82	6,55
H	0,62	4,20	0,78	6,01

Reproducibilidad

Para evaluar la reproducibilidad, se elaboró un panel de 28 muestras diluyendo muestras clínicas positivas de HBV (genotipo A y C) o añadiendo DNA de HBV (genotipo A y C) en plasma y suero negativo para HBV. Tres usuarios analizaron el panel con tres lotes de reactivos en tres Panther Systems durante 20 días o más.

La Tabla 10 y la Tabla 11 indican la reproducibilidad de los resultados de los ensayos (en log IU/mL) entre instrumentos, entre usuarios, entre lotes, entre ciclos, en el ciclo y en total. La variabilidad tuvo su causa principal en la variabilidad en el ciclo (es decir, debido al error aleatorio).

Tabla 10: Reproducibilidad del Aptima HBV Quant Assay para el genotipo A

Matriz	N	Concentración media (log IU/mL)	Entre usuarios		Entre instrumentos		Entre lotes		Entre ciclos		Intraciclo		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Plasma	161	1,24	0,02	1,96	0,02	1,75	0,10	7,88	0,02	1,50	0,21	16,80	0,23	18,80
Plasma	162	1,97	0,01	0,75	0,01	0,71	0,08	3,84	0,02	0,76	0,14	7,36	0,17	8,40
Plasma	162	3,23	0,01	0,29	0,01	0,24	0,04	1,39	0,01	0,22	0,08	2,47	0,09	2,87
Plasma	162	4,14	0,03	0,76	0,01	0,28	0,04	0,90	0,01	0,15	0,06	1,38	0,08	1,84
Plasma	162	5,75	0,02	0,39	0,01	0,20	0,06	0,97	0,01	0,13	0,09	1,51	0,11	1,85
Plasma	162	6,98	0,05	0,79	0,03	0,48	0,06	0,91	0,01	0,11	0,09	1,35	0,13	1,87
Plasma	162	7,69	0,03	0,38	0,02	0,23	0,01	0,15	0,01	0,12	0,10	1,30	0,11	1,39
Suero	160	1,17	0,02	1,93	0,02	1,71	0,06	5,54	0,02	1,64	0,20	17,07	0,21	18,21
Suero	162	1,82	0,02	1,15	0,01	0,79	0,10	5,43	0,01	0,72	0,15	8,13	0,18	9,90
Suero	162	3,16	0,01	0,26	0,02	0,62	0,09	2,78	0,02	0,59	0,11	3,38	0,14	4,47
Suero	162	4,06	0,01	0,19	0,01	0,22	0,04	0,99	0,01	0,15	0,07	1,68	0,08	1,98
Suero	162	5,60	0,02	0,36	0,01	0,24	0,06	1,15	0,01	0,22	0,13	2,40	0,15	2,70
Suero	162	6,30	0,03	0,49	0,03	0,42	0,01	0,17	0,01	0,16	0,11	1,77	0,12	1,90
Suero	162	7,48	0,05	0,62	0,03	0,36	0,02	0,25	0,02	0,23	0,08	1,09	0,10	1,35

CV = coeficiente de variación, DE = desviación estándar

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.

Tabla 11: Reproducibilidad del Aptima HBV Quant Assay para el genotipo C

Matriz	N	Concentración media (log IU/mL)	Entre usuarios		Entre instrumentos		Entre lotes		Entre ciclos		Intraciclo		Total	
			DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
Plasma	161	1,28	0,02	1,73	0,02	1,40	0,07	5,39	0,02	1,28	0,18	14,32	0,20	15,52
Plasma	162	1,98	0,02	0,79	0,01	0,68	0,08	4,02	0,01	0,61	0,14	6,91	0,16	8,08
Plasma	162	3,23	0,01	0,31	0,01	0,39	0,05	1,49	0,01	0,18	0,06	1,97	0,08	2,52
Plasma	162	4,13	0,01	0,18	0,01	0,29	0,04	0,90	0,01	0,15	0,07	1,69	0,08	1,95
Plasma	162	5,78	0,01	0,14	0,02	0,41	0,06	1,04	0,01	0,16	0,10	1,70	0,12	2,05
Plasma	162	6,83	0,01	0,20	0,03	0,42	0,03	0,42	0,01	0,08	0,06	0,93	0,08	1,13
Plasma	162	7,75	0,03	0,33	0,02	0,19	0,02	0,24	0,01	0,08	0,07	0,94	0,08	1,04
Suero	160	1,20	0,02	1,54	0,02	1,55	0,05	4,24	0,02	1,78	0,18	14,74	0,19	15,59
Suero	162	1,90	0,02	1,20	0,02	0,87	0,05	2,73	0,01	0,72	0,15	8,10	0,17	8,71
Suero	162	3,19	0,03	0,93	0,03	0,92	0,05	1,68	0,00	0,05	0,07	2,34	0,10	3,16
Suero	162	4,04	0,01	0,14	0,01	0,31	0,04	0,94	0,00	0,12	0,05	1,30	0,07	1,64
Suero	162	5,69	0,01	0,16	0,02	0,36	0,05	0,88	0,01	0,13	0,09	1,50	0,10	1,78
Suero	162	6,32	0,04	0,64	0,03	0,45	0,04	0,66	0,01	0,14	0,10	1,57	0,12	1,87
Suero	162	7,23	0,04	0,55	0,02	0,25	0,05	0,68	0,01	0,13	0,10	1,42	0,12	1,69

CV = coeficiente de variación, DE = desviación estándar

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

Substancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del Aptima HBV Quant Assay a las interferencias causadas por altos niveles de sustancias endógenas y por medicamentos que se suelen recetar a las personas infectadas por HBV. Se analizaron muestras de plasma negativo para HBV y muestras enriquecidas con HBV hasta obtener una concentración de 4,3 log IU/mL de DNA de HBV.

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

Las muestras clínicas de plasma de pacientes con niveles alto de las sustancias definidas o de pacientes con las enfermedades indicadas en la Tabla 12 se analizaron con el Aptima HBV Quant Assay. No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo.

Tabla 12: Tipos de muestras clínicas analizadas

Tipos de muestras clínicas	
1	Anticuerpo antinuclear (AAN)
2	Factor reumatoide (FR)
3	Cirrosis alcohólica (CA)
4	Hepatitis alcohólica
5	Hepatitis no alcohólica
6	Hepatitis autoinmune
7	Alanina aminotransferasa elevada (ALT)
8	Carcinoma hepatocelular (CHC)
9	Esclerosis múltiple (EM)
10	Lupus eritematoso sistémico (LES)
11	Hiperglobulinemia
12	Artritis reumatoide (AR)
13	Anticuerpo anti-Jo1 (JO-1)
14	Mieloma múltiple (MM)
15	Hemolizado (hemoglobina elevada)
16	Ictérico (bilirrubina elevada)
17	Lipémico (lípidos elevados)
18	Proteínas elevadas
19	Anticuerpos anti HBV (vacunado)
20	Anticuerpos anti-HCV
21	Anticuerpos anti HIV-1 y anti HIV-2

No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo en presencia de las sustancias exógenas indicadas en la Tabla 13 a concentraciones de al menos tres veces la $C_{m\acute{a}x}$ (plasma humano).

Tabla 13: Sustancias exógenas

Mezcla de sustancias exógenas	Sustancias exógenas analizadas
1	Saquinavir, ritonavir, amprenavir, indinavir, lopinavir, nelfinavir mesilato
2	Claritromicina, clorhidrato de valganciclovir, efavirenz, nevirapina
3	Clorhidrato de paroxetina, enfuvirtida, zidovudina, didanosina, sulfato de abacavir
4	Ribavirina, entecavir, adefovir dipivoxil, tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina, ganciclovir, aciclovir
5	Estavudina, ciprofloxacina, fluoxetina, azitromicina, valaciclovir, sertralina, zalcitabina
6	Interferón alfa-2a, interferón alfa-2b, interferón alfa-2b pegilado

Especificidad

La especificidad se determinó utilizando 292 muestras clínicas recientes y 747 muestras clínicas congeladas negativas para HBV. Se analizaron un total de 521 muestras de plasma y 518 muestras de suero. La especificidad se calculó como el porcentaje de muestras negativas para HBV con resultados de "No detectado". El DNA de HBV no se detectó en las 1038 muestras. La especificidad fue del 99,9 % (1038/1039, 95 % IC: 99,5-100 %).

Tabla 14: Especificidad en muestras clínicas de suero y plasma

	Plasma reciente	Plasma congelado	Total del plasma	Suero reciente	Suero congelado	Total del suero	Combinado
Réplicas válidas (n)	145	376	521	147	371	518	1.039
No detectado	145	376	521	147	370	517	1.038
Especificidad (IC del 95 %)	100 % (97,4-100)	100 % (99,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (97,5-100)	99,7 % (98,5-100)	99,8 % (98,9-100)	99,9 % (99,5-100)

IC = Intervalo de confianza

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada con patógenos indicada en la Tabla 15 se evaluó en presencia o en ausencia de 4,3 log IU/mL de DNA de HBV en el plasma humano negativo para el HBV. No se observó reactividad cruzada o interferencia en plasma con contaminación bacteriana o en las muestras de sujetos infectados con otros patógenos de transmisión sanguínea o sujetos a los que se les había administrado vacunas contra el HBV y contra la gripe.

Tabla 15: Patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica

Microorganismo/Patógeno	Origen	Microorganismo/Patógeno	Origen
Virus de la hepatitis C	Muestra clínica	Herpesvirus humano tipo 8	Fluido de cultivo
Virus de la hepatitis A	Muestra clínica	Virus de la encefalitis japonesa	Líquido ascítico
Vacunado contra el HBV	Muestra clínica	Virus de la encefalitis del Valle Murray	Lisado celular
HIV-1 y -2	Muestra clínica	Virus de la encefalitis de San Luis	Fluido de cultivo
Virus linfotrópico de células T humano tipo 1 y 2	Muestra clínica	Vaccinia virus	Lisado celular
Parvovirus B19	Muestra clínica	Virus de la fiebre amarilla	Fluido de cultivo
Citomegalovirus	Muestra clínica	<i>Candida albicans</i>	Cultivo
Virus del dengue tipo 1-4	Muestra clínica	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Cultivo
Virus de Epstein-Barr	Muestra clínica	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Cultivo
Vacuna contra la gripe	Muestra clínica	<i>Mycobacterium gordonae</i>	Cultivo
Virus del papiloma humano	Muestra clínica	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	Cultivo
Virus del herpes simple 1 y 2	Muestra clínica	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Cultivo
Virus de la rubéola	Muestra clínica	<i>Propionibacterium acnes</i>	Cultivo
Virus varicela-zóster	Muestra clínica	<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultivo
Virus del Nilo occidental	Muestra clínica	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultivo
Poliomavirus humano BK	Lisado celular	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Cultivo
Herpesvirus humano 6B	Fluido de cultivo	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Cultivo

Repetibilidad de las muestras clínicas

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

Tabla 16: Repetibilidad de las muestras clínicas de plasma

Muestra de plasma	Concentración media (log IU/mL)	DE
1	2,08	0,09
2	2,98	0,01
3	2,45	0,09
4	2,32	0,06
5	2,58	0,08
6	3,60	0,06
7	3,45	0,04
8	3,95	0,04
9	3,81	0,05
10	4,26	0,03
11	5,65	0,07
12	6,32	0,06
13	6,79	0,06
14	7,40	0,05
15	8,17	0,02

DE = desviación estándar

Tabla 17: Repetibilidad de las muestras clínicas de suero

Muestra de suero	Concentración media (log IU/mL)	DE
1	1,93	0,17
2	2,29	0,09
3	2,78	0,05
4	1,98	0,06
5	2,53	0,07
6	3,53	0,06
7	3,38	0,03
8	3,77	0,02
9	3,45	0,17
10	4,26	0,04
11	6,31	0,02
12	5,45	0,04
13	5,74	0,08
14	7,44	0,04
15	8,47	0,03

DE = desviación estándar

Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras

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

Tabla 18: Dilución de muestras con el diluyente de muestras Aptima en plasma

Dilución	Concentración media sin diluir (log IU/mL)	Concentración media notificada ^a (log IU/mL)	Diferencia (log IU/mL)
1:3	2,08	1,71	-0,37
	2,98	3,02	0,04
	2,45	2,30	-0,15
	2,32	2,06	-0,26
	2,58	2,46	-0,12
	3,60	3,62	0,02
	3,45	3,36	-0,09
	3,95	3,91	-0,04
	3,81	3,72	-0,09
	4,26	4,24	-0,02
	5,65	5,50	-0,15
	6,32	6,08	-0,24
	6,79	6,40	-0,39
	7,40	7,06	-0,34
8,17	8,05	-0,12	
1:100	8,17	7,82	-0,35
	> 9,00 ^b (10,20 ^c)	10,40	0,20

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

^b Muestra enriquecida.

^c Valor de la concentración de la diana, que encuentra por encima del LSDC.

Tabla 19: Dilución de muestras con el diluyente de muestras Aptima en suero

Dilución	Concentración media sin diluir (log IU/mL)	Concentración media notificada ^a (log IU/mL)	Diferencia (log IU/mL)
1:3	1,93	1,50	-0,43
	2,29	2,00	-0,29
	2,78	2,45	-0,33
	1,98	1,50	-0,48
	2,53	2,23	-0,30
	3,53	3,59	0,06
	3,38	3,21	-0,17
	3,77	3,68	-0,09
	3,45	3,35	-0,10
	4,26	4,16	-0,10
	6,31	5,98	-0,33
	5,45	5,24	-0,21
	5,74	5,62	-0,12
	7,44	7,19	-0,25
8,47	8,31	-0,16	
1:100	8,47	8,19	-0,28
	> 9,00 ^b (10,20 ^c)	10,43	0,23

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

^b Muestra enriquecida.

^c Valor de la concentración de la diana, que encuentra por encima del LSDC.

Correlación de métodos

La eficacia del Aptima HBV Quant Assay se evaluó contrastando sus resultados con los de un ensayo comparativo con marca CE y con licencia de Health Canada, para lo que se analizaron muestras clínicas sin diluir de pacientes infectados por el HBV. Se utilizaron un total de 614 muestras clínicas dentro del intervalo lineal común a ambos ensayos para la regresión lineal, tal como se muestra en la Figura 8.

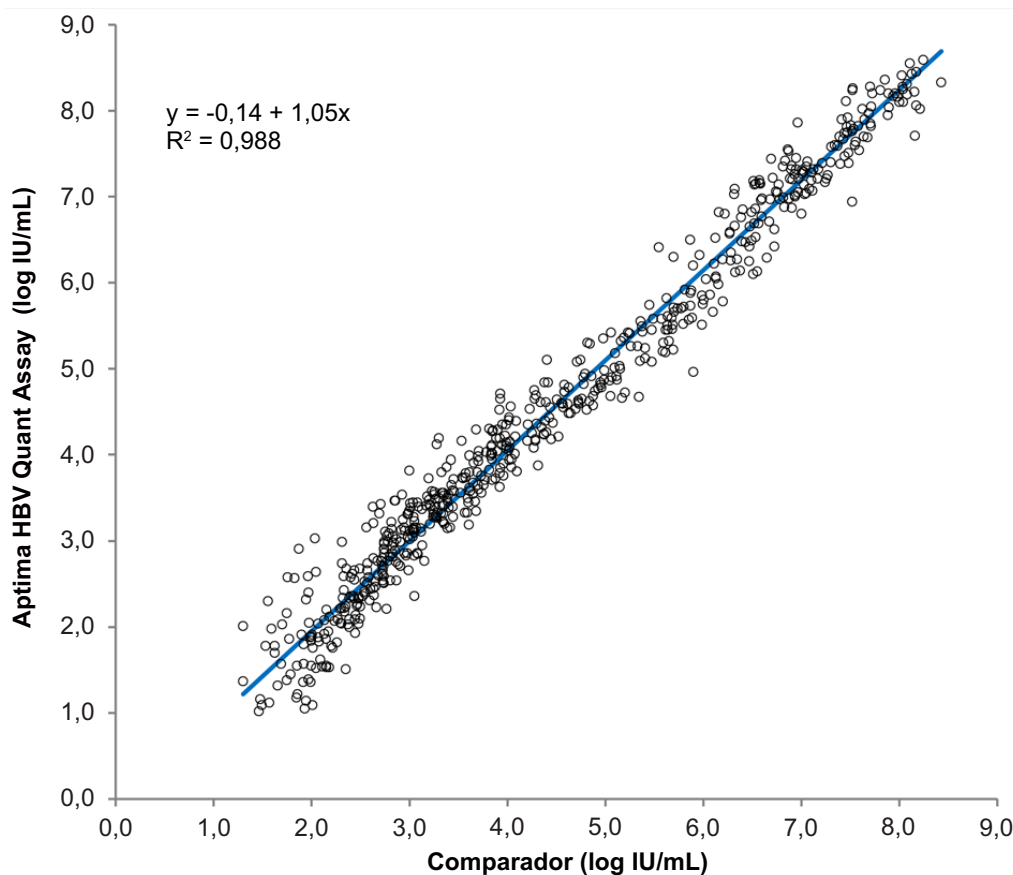


Figura 8. Correlación entre el Aptima HBV Quant Assay y el ensayo comparativo

Contaminación por arrastre

Para establecer que el Panther System reduce al mínimo el riesgo de resultados positivos falsos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio de varios paneles enriquecidos en tres sistemas Panther. La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras de plasma enriquecidas con DNA de HBV de título elevado (8 log IU/mL) entremezcladas con muestras negativas para HBV en un patrón de tablero de ajedrez. Las pruebas se realizaron en quince ciclos. La tasa global de contaminación por arrastre fue del 0,0 % (0/705).

Bibliografía

1. **Lok AS, McMahon BJ.** AASLD Practice Guideline Update. Chronic Hepatitis B: Update 2009. Hepatology. 2009; 50(3):661-662;1-36.
2. **Aspinall EJ, Hawkins G, Fraser A, Hutchinson SJ, Goldberg D.** Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. Occupational Medicine 2011; 61(8):531-540.
3. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Early Identification and Linkage to Care of Persons with Chronic Hepatitis B Virus Infection - Three U.S. Sites, 2012-2014. May 9, 2014, 63(18);399-401.
4. **Liaw YF, Chu CM.** Hepatitis B virus infection. Lancet. 2009;373(9663):582-92.
5. **European Association for the Study of the Liver.** EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. Journal of Hepatology 2012; 57:167-185.
6. **International Agency for Research on Cancer.** Hepatitis B Virus. IARC Monographs 2012; 100B: 93-133.
7. **Price, J.** An Update on Hepatitis B, D, and E Viruses. Topics in Antiviral Medicine 2014; 21(5): 157-163.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
9. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
10. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
11. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
12. **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.
13. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



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

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

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

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



Hologic N.V.
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima y Panther son marcas comerciales o registradas de Hologic, Inc. o sus filiales en Estados Unidos o en otros países. Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

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

© 2016-2018 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-13182-301 Rev. 004

2018-03