

Aptima™ Zika Virus 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	2
Advertencias y precauciones	3
Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos	5
Recogida y almacenamiento de muestras	6
Panther™ System	9
Reactivos y materiales suministrados	9
Material necesario que debe adquirirse por separado	10
Materiales opcionales	11
Procedimiento de prueba del Panther System	11
Notas de procedimiento	17
Control de calidad	18
Criterios de aceptación para el Aptima Zika Virus Assay	18
Criterios de aceptación para la calibración y cálculo del valor de corte	18
Interpretación de resultados	21
Limitaciones	22
Rendimiento	23
Sensibilidad analítica	23
Reproducibilidad	24
Interferencia	26
Reactividad cruzada	28
Evaluación clínica	29
Bibliografía	31

Información general

Uso indicado

El Aptima Zika Virus assay (ensayo Aptima para el virus Zika) es una prueba de amplificación mediada por transcripción indicada para la detección cualitativa del RNA del virus Zika en suero, plasma u orina procesada. Las muestras se analizan con el Panther™ system los procedimientos automáticos de procesamiento de muestras, amplificación y detección. Los resultados está destinados a la identificación del RNA del virus Zika.

Resumen y explicación de la prueba

El virus Zika (ZIKV) es un virus RNA miembro de la familia *Flaviviridae* y el género *Flavivirus*.¹ El virus se transmite a humanos por mosquitos pertenecientes al género *Aedes*.² El ZIKV fue identificado por primera vez en macacos rhesus infectados en el bosque Zika de Uganda en 1947, y los primeros casos en humanos se observaron en la República Unida de Tanzania y Uganda en 1952.³ Desde entonces, se han documentado brotes esporádicos del ZIKV en muchas zonas de África y Sudeste asiático. La primera aparición de un brote de ZIKV fuera de Asia o África se produjo en 2007, cuando tuvo lugar un gran brote en la isla de Yap en el Pacífico, en los Estados Federados de Micronesia.⁴

En 2013 y 2014, se notificó un gran brote de la enfermedad ZIKV asociada con complicaciones clínicas en la Polinesia Francesa.⁵ En mayo de 2015, se confirmaron los primeros casos de infección por ZIKV adquirida localmente en el continente americano, concretamente en Brasil.^{6,7} En diciembre de 2016, la Organización Mundial de la Salud informó que 75 países y territorios habían notificado desde 2007 evidencias de ZIKV transmitida por mosquitos. Sesenta y nueve de estos países notifican casos desde 2015.⁸ El ZIKV suele estar asociado a una enfermedad humana que va desde infecciones subclínicas a enfermedades leves similares a la gripe. Sin embargo, la infección por ZIKV también se ha asociado a casos graves, y en ocasiones mortales, de síndrome de Guillain-Barré.⁹ El virus también se ha asociado a microcefalia y otros defectos de nacimiento en bebés nacidos de madres infectadas.¹⁰ Aunque la principal vía de infección parece ser la picadura de un mosquito, también se ha notificado la transmisión sexual¹¹ y la posible transmisión del ZIKV por transfusión sanguínea¹².

Principios del procedimiento

El Aptima Zika Virus assay va dirigido a dos regiones muy conservadas de NS2 y NS4/NS5 para aumentar la tolerancia a posibles mutaciones. El ensayo consta de tres pasos principales que tienen lugar en un único tubo en el automatizado Panther system: preparación de la muestra, amplificación de la diana del RNA del ZIKV mediante amplificación mediada por transcripción (TMA)¹³ y detección de los productos de amplificación (amplicón) mediante ensayo de protección por hibridación (HPA).¹⁴ Los ensayos utilizan un control interno (IC) con el fin de controlar la captura, amplificación y detección de los ácidos nucleicos, así como los errores por parte del usuario o del instrumento.

Durante la preparación de la muestra, el RNA se aísla de las muestras a través de la captura de dianas. La muestra se trata con un detergente para solubilizar la envoltura vírica, desnaturalizar las proteínas y liberar el RNA genómico viral. Los oligonucleótidos ("oligonucleótidos de captura") complementarios a la regiones altamente conservadas hibridan con la diana del RNA del ZIKV, si estuviera presente, de la muestra analizada. A continuación, la diana hibridada se captura sobre micropartículas magnéticas que se separan de la muestra en un campo magnético. Se realizan lavados para eliminar los componentes extraños del tubo de reacción. La separación magnética y los pasos de lavado se realizan con un sistema de captura de dianas.

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 y RNA polimerasa T7. La transcriptasa inversa se utiliza para generar una ADN copia (que contiene una secuencia promotora para la RNA polimerasa T7) de la secuencia diana. La RNA polimerasa T7 genera múltiples copias del amplicón de RNA a partir del molde de ADN copia. El Aptima Zika Virus assay utiliza el método TMA para amplificar las regiones del RNA del ZIKV.

La detección se logra mediante HPA a través de sondas de ácido nucleico con marcas quimioluminiscentes que son complementarias del amplicón. Las sondas marcadas de ácidos nucleicos hibridan específicamente con el amplicón. El reactivo de selección distingue entre sondas hibridadas y no hibridadas mediante la inactivación de la marca en sondas no hibridadas. Durante el paso de detección, la señal quimioluminiscente producida por la sonda hibridada se mide en un luminómetro y su valor se notifica como unidades relativas de luz (relative light unit, RLU).

El control interno y el calibrador del ensayo se añaden a cada muestra analizada a través del reactivo de captura de dianas. El control interno en el Aptima Zika Virus assay controla los pasos de procesamiento, amplificación y detección de las muestras. La señal del control interno se discrimina de la señal del ZIKV mediante la cinética diferencial de emisión de luz procedente de las sondas con marcas diferentes.¹⁴ El amplicón específico del control interno se detecta usando una sonda con emisión rápida de luz (señal «flasher»). El amplicón específico del ZIKV se detecta utilizando sondas con cinéticas de emisión de luz relativamente más lentas (señal «glower»). El Ensayo de cinética doble (Dual Kinetic Assay, DKA) es un método utilizado para diferenciar entre las señales «flasher» y «glower».¹⁵

Los calibradores del Aptima Zika Virus assay se utilizan para determinar el valor de corte del ensayo y la validez del ensayo en cada ciclo. Consulte *Control de calidad* para obtener más detalles.

Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Manual del usuario del Panther System* antes de realizar este ensayo.

Información para laboratorios

- C. Este procedimiento solamente debe ser realizado por personal formado adecuadamente en el uso del Aptima Zika Virus assay y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente el lugar siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- D. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.
- E. Tome las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin talco, protección para los ojos y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- F. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).

- G. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa local, estatal y comunitaria.^{16,17,18,19} Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.
- H. El reactivo enzimático contiene 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.





Información sobre las muestras

- I. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones universales^{16,17,18} al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados según la normativa local.¹⁹ Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima Zika Virus assay y en la manipulación de materiales infecciosos.
- J. Es necesario realizar los procedimientos de recogida, transporte, almacenamiento y procesamiento de muestras descritos en este prospecto para obtener un rendimiento óptimo de esta prueba. La recogida, transporte o almacenamiento incorrecto de las muestras puede dar lugar a resultados incorrectos.
- K. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar la integridad de las mismas. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- L. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.

Información para los ensayos

- M. No utilice los kits de reactivos o los calibradores después de la fecha de caducidad.
- N. 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.
- O. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- P. Tape y conserve todos los reactivos del ensayo a las temperaturas especificadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente pueden afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos* y *Procedimiento de prueba del Panther System* para obtener más información.
- Q. No combine ningún reactivo ni fluido del ensayo sin instrucciones específicas. No rellene los frascos de reactivos o de fluidos que contengan aún líquido. El Panther system verifica los niveles de reactivo.

- R. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad y deben manipularse en consecuencia.

	Reactivo de amplificación ADVERTENCIA H315: provoca irritación cutánea H319: provoca irritación ocular grave
	Reactivo enzimático ADVERTENCIA H315: provoca irritación cutánea H319: provoca irritación ocular grave H412: nocivo para la vida acuática con efectos duraderos
 	Reactivo de selección <i>Ácido bórico al 1 - 5 %</i> <i>Hidróxido de sodio <1 %</i> ADVERTENCIA H315: provoca irritación cutánea H319: provoca irritación ocular grave H371: puede provocar lesiones en los órganos H373: puede provocar lesiones en los órganos con una exposición prolongada o repetida P264: lavarse a fondo la cara, las manos y todas las partes de la piel expuestas después de manipular P280: utilizar guantes protectores/ropa protectora/protección ocular/protección facial P305 + P351 + P338: SI ENTRA EN CONTACTO CON LOS OJOS: enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitarse las lentes de contacto si se llevan y resulta sencillo. Continuar enjuagando P337 + P313: si persiste la irritación ocular: recibir atención/consejos médicos P302 + P352: SI ENTRA EN CONTACTO CON LA PIEL: lavarse con abundante agua y jabón P332 + P313: si se produce irritación cutánea: recibir atención/consejos médicos P362: quitarse la ropa contaminada y lavarla antes de volver a utilizarla

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.

Requisitos de almacenamiento y manipulación de los reactivos

- A. La tabla siguiente muestra las condiciones de conservación y la estabilidad de los reactivos y los calibradores.

Reactivos	Conservación sin abrir	Kit abierto (descongelado) ^a	
		Conservación	Estabilidad
Reactivo de amplificación	De -35 °C a -15 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^b
Reactivo enzimático	De -35 °C a -15 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^b
Reactivo de sonda	De -35 °C a -15 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días ^b
Control interno	De -35 °C a -15 °C	De 15 °C a 30 °C	8 horas antes de combinarse con TCR
Reactivo de captura de dianas (TCR)	De 2 °C a 8 °C	N/A	N/A
Reactivo de trabajo de captura de dianas (wTCR)	N/A	De 2 °C a 8 °C	30 días ^b
Reactivo de selección	De 15 °C a 30 °C	De 15 °C a 30 °C	30 días ^b
NCAL (calibrador negativo)	De -35 °C a -15 °C	N/A	Vial de un solo uso Para uso en 8 horas
PCAL (calibrador positivo)	De -35 °C a -15 °C	N/A	Vial de un solo uso Para uso en 8 horas

^a Las condiciones de almacenamiento y estabilidad del kit abierto se basan en ensayos validados similares.

^b Al retirar los reactivos del Panther system, se deben volver a guardar inmediatamente a sus temperaturas de conservación adecuadas.

- B. Deseche todos los reactivos no utilizados que se hayan preparado previamente y el reactivo de trabajo de captura de dianas después de 30 días.
- C. Los reactivos almacenados en el Panther system tienen 120 horas (acumuladas) de estabilidad cuando están cargados. El Panther system registra cada vez que se cargan los reactivos.
- D. Si se forma un precipitado en el reactivo de captura de dianas (TCR) durante el almacenamiento, consulte las instrucciones indicadas en *Preparación de un nuevo kit*. NO AGITE CON MEZCLADOR VÓRTEX. NO CONGELE EL TCR.
- E. No vuelva a congelar el control interno, ni los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda después de la descongelación inicial.
- F. Los calibradores son viales de un solo uso y deben desecharse después del uso.
- G. Si se forma precipitado en el reactivo de selección, el reactivo de sonda, el calibrador negativo o el calibrador positivo, consulte las instrucciones indicadas en *Procedimiento de prueba del Panther System*.
- H. Los cambios en la apariencia física del reactivo suministrado pueden indicar inestabilidad o deterioro de estos materiales. Si se observan cambios en la apariencia física de los reactivos (ej.: cambios evidentes en el color del reactivo o solución turbia son indicativos de contaminación microbiana), no deben utilizarse.
- I. Tras descongelar los calibradores, la solución debe ser transparente, esto es, no debe estar turbia ni presentar precipitados.
- ⚠ J. El reactivo de sonda es fotosensible. Proteja el reactivo de la luz durante la conservación y la preparación para el uso.

Recogida y almacenamiento de muestras

El Aptima Zika Virus assay puede utilizarse con muestras de suero, plasma y orina procesada.

Una muestra de orina procesada es orina sin diluir añadida a un medio de transporte de orina en un tubo Aptima de transporte de muestras de orina.

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 producirse falsos resultados positivos si la contaminación cruzada de las muestras no se controla adecuadamente durante la manipulación y el procesamiento de las muestras.

Nota: 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 tubo de alícuotas de muestras (SAT) es de 700 μL para obtener un volumen de reacción de 500 μL .

A. Instrucciones de recogida

Consulte el prospecto del kit de recogida de muestras pertinente para conocer las instrucciones de recogida.

1. Muestras de suero y plasma

Pueden utilizarse muestras de sangre completa recogidas en los tubos de cristal o plástico siguientes según las instrucciones del fabricante:

- Tubos con anticoagulantes de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) o de ácido citrato dextrosa adenina (ACD-A) o citrato sódico (NAC)
- 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.

2. Muestras de orina

La recogida de las muestras debe realizarse según las instrucciones del fabricante.

B. Transporte y almacenamiento de las muestras antes de la prueba

1. Muestras de suero y plasma

Las muestras de plasma y suero pueden almacenarse durante un total de 13 días a partir del momento de la recogida hasta el momento de realizar la prueba según las condiciones siguientes:

- Las muestras de sangre completa deben centrifugarse en un período de 72 horas a partir de la recogida.
 - Las muestras deben almacenarse entre 2 °C y 8 °C a menos que se hayan congelado. Sin embargo, las muestras pueden almacenarse durante 72 horas a temperaturas de hasta 25 °C, y un máximo de 24 horas durante estas 72 horas a temperaturas de hasta 30 °C.
- a. Si es necesario un almacenamiento más prolongado, congele el plasma y el suero separado de las células y almacene entre -20 °C y -70 °C. No congele la sangre completa.
 - b. No se observó ningún efecto adverso en el rendimiento de la prueba cuando las muestras de suero y plasma se sometieron a tres ciclos de congelación y descongelación.
 - c. Asegúrese de que las muestras de suero y plasma tienen suficiente volumen de muestra por encima del gel separador o la superficie de contacto hemática.
 - d. Las muestras con precipitados o material fibrinoso visible deben aclararse por centrifugación durante 10 minutos a 1000 a 3000 g antes de la prueba.

2. Muestras de orina

- a. La orina debe transferirse a un tubo de transporte de muestras de orina Aptima que contenga medio de transporte de orina, y debe mezclarse completamente dentro de las 72 horas tras la recogida. Consulte el prospecto del kit de recogida correspondiente.
- b. Almacene la muestra de orina procesada entre 2 °C y 30 °C, y analice en los 30 días siguientes a su recogida. Si es necesario un almacenamiento más prolongado, congele a orina procesada entre -20 °C y -70 °C.
- c. No se observó ningún efecto adverso en el rendimiento de la prueba cuando la orina procesada se sometió a tres ciclos de congelación y descongelación.

- d. Asegúrese de que las muestras tienen suficiente volumen de muestra.
- e. Las muestras con precipitados o material fibrinoso visible deben aclararse por centrifugación durante 10 minutos de 1000 a 3000 g antes de la prueba.

C. Almacenamiento de muestras después de la prueba

1. Las muestras analizadas deben almacenarse en posición vertical en una gradilla.
2. Los tubos de muestras deben cubrirse con una nueva barrera de aluminio o película de plástico limpias.
3. Si es necesario congelar o enviar las muestras analizadas, coloque nuevos tapones en los tubos de muestras. Si es necesario enviar las muestras para su análisis a otro laboratorio, se deben mantener las temperaturas recomendadas. Antes de destapar las muestras anteriormente analizadas y tapadas, se deben centrifugar brevemente los tubos de muestras (5 minutos a 500g) para que todo el líquido pase al fondo del tubo. **Evite salpicaduras y todo tipo de contaminación cruzada.**

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

Panther™ System

Los reactivos del Aptima Zika Virus 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.

Los kits de calibrador del Virus Zika Aptima deben adquirirse por separado. Consulte el número del kit del catálogo individual a continuación.

Aptima Zika Virus Assay Kit, 1.000 pruebas (4 x 250 pruebas) N.º Cat. PRD-04232 (3 cajas de ensayos)

Caja del Aptima Zika Virus Assay

(conservar entre -35 °C y -15 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	Reactivo de amplificación <i>Ácidos nucleicos no infecciosos en solución de tampón.</i>	4 x 26 mL
E	Reactivo enzimático <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa en solución de tampón HEPES.</i>	4 x 13,4 mL
P	Reactivo de sonda <i>Sondas quimioluminiscentes en solución de tampón succinato.</i>	4 x 34,7 mL
IC	Reactivo de control interno <i>Una solución de tampón HEPES con detergente y un transcrito de RNA.</i>	4 x 2,8 mL
	Hoja de códigos de barras de lote maestro	1 hoja

Caja del Aptima Zika Virus Assay

(conservar entre 15 °C y 30 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
S	Reactivo de selección <i>Solución de tampón borato 600 mM con surfactante.</i>	4 x 91 mL

Caja del Aptima Zika Virus Assay

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

Símbolo	Componente	Cantidad
TCR	Reactivo de captura <i>Un tampón de solución salina con fase sólida unida ácidos nucleicos no infecciosos.</i>	4 x 161 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	N.º Cat.
Panther System	—
Kit de fluidos del ensayo Aptima (también denominado Kit de fluidos universales) <i>contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	303014 (1.000 pruebas)
Kit Auto Detect Aptima	303013 (1.000 pruebas)
Unidades multitubo (Multi-tube Unit, 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 <i>contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos, auto detect y fluidos del ensayo</i>	303096 (5.000 pruebas)
Puntas, conductoras de 1.000 µL, para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Kit de calibrador del Aptima Zika Virus <i>NCAL. Calibrador negativo, solución de tampón con detergente, 15 x 2,2 mL</i> <i>PCAL. Calibrador positivo, transcrito de RNA en solución de tampón con detergente, 15 x 2,2 mL</i>	PRD-04233
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapones de repuesto para reactivos para frascos de 250 pruebas	
<i>Reactivos de amplificación y de sonda</i>	<i>CL0042 (100 tapones)</i>
<i>Reactivo enzimático</i>	<i>501619 (100 tapones)</i>
<i>TCR y reactivos de selección</i>	<i>CL0039 (100 tapones)</i>
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	N.º Cat.
Tubos de alícuotas de muestras Aptima (SAT) (paquete de 100)	503762
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100) <i>tapón para SAT</i>	504415
Pipetas de transferencia	—
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	—
Kit de recolección de muestras de orina Aptima	301040
O bien, tubos de transporte de muestras de orina Aptima	105575
Sistema de equilibrado de reactivo SB100™ (SB100-RES)	—
Baño de agua	—

Procedimiento de prueba del Panther System

Nota: consulte el Manual del usuario del Panther System para obtener más información sobre los procedimientos.

Nota: consulte la Hoja de aplicación del sistema de equilibrado de reactivo SB100 para obtener información opcional de preparación de reactivos.

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 de un nuevo kit

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

Nota: el reactivo de sonda es fotosensible. Proteja el reactivo de la luz durante la conservación y la manipulación.

Nota: los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda pueden descongelarse hasta 24 horas entre 2 °C y 8 °C antes de la preparación de los reactivos.

Nota: El control interno puede descongelarse un máximo de 24 horas entre 2 °C y 8 °C o hasta 8 horas a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) antes de la preparación del wTCR.

Preparación de los reactivos de captura de dianas (TCR), de amplificación, enzimáticos y de sonda

1. Saque un nuevo conjunto de reactivos almacenado. Asegúrese de que los números de lote de los frascos de reactivos coincidan con los números de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
2. Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) utilizando una de las tres opciones descritas a continuación:

Preparación del SB100-RES (Opción 1)

1. **Inmediatamente** después de sacar el frasco almacenado (entre 2 °C y 8 °C), invierta vigorosamente el frasco de TCR para mezclar el gel en la solución (al menos diez inversiones y hasta que el gel desaparezca de la parte inferior). **NO AGITE CON MEZCLADOR VÓRTEX.**
2. Prepare los reactivos TCR, de amplificación, enzimáticos y de sonda con el instrumento SB100-RES.
3. Tras la descarga de LOS reactivos, registre la fecha de descongelación de los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda en el espacio provisto en la etiqueta.

Preparación del baño de agua (Opción 2)

Advertencia: la temperatura del baño de agua no deberá ser superior a 30 °C.

Nota: consulte las instrucciones de preparación a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) para preparar el TCR. No utilice un baño de agua para preparar el TCR.

1. Después de sacar los reactivos almacenados (entre -35 °C y -15 °C o entre 2 °C y 8 °C), coloque los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda en posición vertical en un baño de agua a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente los reactivos para mezclar a fondo y examine visualmente para garantizar la disolución de los precipitados. Siga invirtiendo con cuidado y examine visualmente hasta que no se muestre precipitado.
2. Asegúrese de que los precipitados se hayan disuelto. No utilice un reactivo si se produce formación de gel o precipitado o si la solución es turbia.
3. Registre la fecha de descongelación de los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda en el espacio provisto en la etiqueta.

Preparación a temperatura ambiente (Opción 3)

Nota: el reactivo de sonda almacenado entre -35 °C y -15 °C puede tardar hasta 4 horas en descongelarse completamente a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) con una inversión suave al menos cada 10 minutos.

1. Para preparar el TCR, realice lo siguiente:
 - a. **Inmediatamente** después de sacar el frasco almacenado (entre 2 °C y 8 °C), invierta vigorosamente el frasco de TCR para mezclar el gel en la solución (al menos diez inversiones y hasta que el gel desaparezca de la parte inferior). **NO AGITE CON MEZCLADOR VÓRTEX.**
 - b. Deje el frasco de TCR a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) durante un mínimo de 45 minutos. Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente el frasco de TCR (al menos 10 inversiones) para mezclar a fondo y examine visualmente el frasco para asegurarse de que no haya gel presente.
 - c. Asegúrese de que el gel se haya disuelto y que las partículas magnéticas estén suspendidas antes del uso.

Nota: si sigue apareciendo gel, no lo utilice. Vuelva a almacenar el frasco de TCR (entre 2 °C y 8 °C) para su posterior uso. Saque un frasco de TCR almacenado (entre 2 °C y 8 °C) y repita los pasos 1.a a 1.c.

2. Para preparar los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, realice lo siguiente:
 - a. Después de sacar los reactivos almacenados (entre -35 °C y -15 °C o entre 2 °C y 8 °C), coloque los reactivos en posición vertical a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente los reactivos para mezclar a fondo y examine visualmente para garantizar la disolución de los precipitados. Continúe descongelando hasta que no se muestre precipitado.
3. Asegúrese de que los precipitados se hayan disueltos. No utilice un reactivo si se produce formación de gel o precipitado o si la solución es turbia.
4. Registre la fecha de descongelación de los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda en el espacio provisto en la etiqueta.

Preparación del control interno y del reactivo de trabajo de captura de dianas (wTCR)

Nota: no utilice el instrumento SB100-RES para preparar el control interno.

1. Para preparar el control interno, realice lo siguiente:
 - a. Saque un tubo de control Interno almacenado (entre -35 °C y -15 °C o entre 2 °C y 8 °C).
 - b. Después de sacar el control interno almacenado (entre -35 °C y -15 °C o entre 2 °C y 8 °C), déjelo a temperatura ambiente durante un mínimo de 30 minutos (entre 15 °C y 30 °C).

Opción: el tubo de control interno puede colocarse en un baño de agua a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C).

- c. Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente el tubo de control interno para mezclar a fondo y examine visualmente la presencia de gel. Asegúrese de que el gel se haya disuelto antes del uso.

Opción: el tubo de control interno puede colocarse en un balancín para tubos para mezclarlo completamente durante la preparación a temperatura ambiente.

Nota: si se forma gel, debe disolverse antes del uso y dentro del período de 8 horas de descongelación a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Si sigue apareciendo gel, no lo utilice. Deseche el tubo, obtenga un nuevo tubo de control interno, y repita los pasos 1.a a 1.c.

2. Para preparar el wTCR, realice lo siguiente:
 - a. Una vez que el TCR esté listo para el uso, vierta todo el contenido del tubo de control interno en el frasco de TCR. Tape el frasco de TCR e invierta suavemente para mezclar bien.
 - b. En el espacio indicado en el frasco de TCR, registre la fecha de adición del control interno, la fecha de caducidad del wTCR (la fecha de adición del control interno más 30 días), el número de lote del control interno (lote del control interno) y las iniciales del usuario.
 - c. Conserve el tubo de control interno para escanear el código de barras en el Panther system.

Preparación del reactivo de selección

Nota: no utilice un reactivo si se produce precipitado o si la solución es turbia.

1. Para preparar el reactivo de selección, realice lo siguiente:
 - a. Saque un frasco de reactivo de selección almacenado a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Verifique que el número de lote del frasco de reactivo coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
 - b. Invierta el frasco suavemente para mezclar a fondo y examine visualmente para asegurarse de que no haya precipitado ni solución turbia.
 - c. Registre la fecha en que se abrió por primera vez (Fecha de apertura) en el espacio provisto en la etiqueta.

Nota: recuperación del reactivo de selección: Si un reactivo de selección se ha almacenado inadvertidamente entre 2 °C y 8 °C o la temperatura del laboratorio disminuye por debajo de 15 °C, se puede formar precipitado. Si se forma precipitado en el reactivo de selección durante su almacenamiento, caliente a 60 °C ± 1 °C durante no más de 45 minutos y mezcle suavemente el frasco con frecuencia (cada 5 a 10 minutos). Una vez que todo el precipitado se haya disuelto en la solución, coloque el frasco en un baño de agua a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) y deje que se equilibre el frasco durante al menos 1 hora.

C. Preparación del calibrador

Nota: evite que se forme demasiada espuma al invertir los calibradores. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

Nota: no utilice el instrumento SB100-RES para descongelar los calibradores.

1. Después de sacar los calibradores almacenados (entre -35 °C y -15 °C), déjelos a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) durante un mínimo de 30 minutos.

Opción: los calibradores pueden colocarse en un baño de agua a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) para descongelarlos.

2. Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente el tubo para mezclar a fondo. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.

Opción: los calibradores pueden colocarse en un balancín para tubos para mezclarlos completamente durante la preparación a temperatura ambiente.

3. Si se forma gel, invierta suavemente el tubo hasta que desaparezca el gel.

Nota: Si se forma gel, debe disolverse antes del uso y dentro del período de 8 horas de descongelación a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Si sigue apareciendo gel, no lo utilice. Deseche el/los tubo/s, obtenga un nuevo tubo o tubos de control interno, y repita los pasos C.1 a C.3.

4. Cuando el contenido de los tubos se haya descongelado por completo, seque la parte exterior del tubo con un paño desechable limpio y seco.

5. Para evitar la contaminación, no abra los tubos de calibrador en este momento.

D. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos**Preparación de los reactivos wTCR, de amplificación, enzimáticos y de sonda**

1. Saque los reactivos wTCR y los reactivos preparados anteriormente que estén almacenados.

2. Deje que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) utilizando una de las tres opciones descritas a continuación:

Preparación del SB100-RES (Opción 1)

1. **Inmediatamente** después de sacar el frasco almacenado (entre 2 °C y 8 °C), invierta vigorosamente el frasco de TCR para mezclar el gel en la solución (al menos diez inversiones y hasta que el gel desaparezca de la parte inferior). NO AGITE CON MEZCLADOR VÓRTEX.
2. Prepare los reactivos wTCR, de amplificación, enzimáticos y de sonda con el instrumento SB100-RES.

Preparación del baño de agua (Opción 2)

Advertencia: la temperatura del baño de agua no deberá ser superior a 30 °C.

Nota: consulte las instrucciones de preparación a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) para preparar el wTCR. No utilice un baño de agua para preparar el wTCR.

1. Después de sacar los reactivos almacenados (entre 2 °C y 8 °C), coloque los reactivos de amplificación, enzimáticos y de sonda en posición vertical en un baño de agua a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente los reactivos para mezclar a fondo y examine visualmente para garantizar la disolución de los precipitados. Continúe descongelando hasta que no se muestre precipitado.
2. Asegúrese de que los precipitados se hayan disueltos. No utilice un reactivo si se produce formación de gel o precipitado o si la solución es turbia.

Preparación a temperatura ambiente (Opción 3)

1. Para preparar el wTCR, realice lo siguiente:
 - a. **Inmediatamente** después de sacar el frasco almacenado (entre 2 °C y 8 °C), invierta vigorosamente el frasco de wTCR para mezclar el gel en la solución (al menos diez inversiones y hasta que el gel desaparezca de la parte inferior). NO AGITE CON MEZCLADOR VÓRTEX.
 - b. Deje el frasco de wTCR a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) durante un mínimo de 45 minutos. Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente el frasco de wTCR (al menos 10 inversiones) para mezclar a fondo y examine visualmente el frasco para asegurarse de que no haya gel presente.
 - c. Asegúrese de que el gel se haya disuelto y que las partículas magnéticas estén suspendidas antes del uso.

Nota: si sigue apareciendo gel, no lo utilice. Vuelva a almacenar el frasco de wTCR y los reactivos correspondientes (entre 2 °C y 8 °C) para su posterior uso.

2. Para preparar los reactivos de amplificación, enzimático y de sonda, realice lo siguiente:
 - a. Después de sacar los reactivos almacenados (entre 2 °C y 8 °C), coloque los reactivos en posición vertical a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C). Cada 10 minutos como mínimo, invierta suavemente los reactivos para mezclar a fondo y examine visualmente para asegurarse de que se haya disuelto el precipitado. Continúe descongelando hasta que no se muestre precipitado.
3. Asegúrese de que los precipitados se hayan disueltos. No utilice un reactivo si se produce formación de gel o precipitado o si la solución es turbia.

Preparación del reactivo de selección

Nota: no utilice un reactivo si se produce precipitado o si la solución es turbia.

1. Saque un frasco de reactivo de selección almacenado a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C).
2. Invierta el frasco suavemente para mezclar a fondo y examine visualmente para asegurarse de que no haya precipitado ni solución turbia.

Nota: recuperación del reactivo de selección: si un reactivo de selección se ha almacenado inadvertidamente entre 2 °C y 8 °C o la temperatura del laboratorio disminuye por debajo de 15 °C, se puede formar precipitado. Si se forma precipitado en el reactivo de selección durante su almacenamiento, caliente a 60 °C ± 1 °C durante no más de 45 minutos y mezcle suavemente el frasco con frecuencia (cada 5 a 10 minutos). Una vez que todo el precipitado se haya disuelto en la solución, coloque el frasco en un baño de agua a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C) y deje que se equilibre el frasco durante al menos 1 hora.

E. Manipulación de muestras

1. Deje que las muestras y los calibradores alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes del procesamiento.
2. Asegúrese de que cada tubo de muestras contenga suficiente volumen para cada tipo de muestra y tipo de tubo.
3. Mezcle a fondo las muestras frescas o descongeladas.
4. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla de muestras, centrifugue cada muestra durante 10 minutos entre 1.000 y 3.000g. No retire los tapones. La presencia de burbujas en el tubo afecta a la detección del nivel por parte del Panther System. El usuario debe validar los tiempos y las velocidades de centrifugación para hacer descender todo el líquido y precipitado. Si el precipitado no pasa a la solución, asegúrese visualmente de que el precipitado no obstaculice el suministro de la muestra.

Consulte *Preparación del sistema*, paso F.2, 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 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):
 - 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.

Nota: los tapones perforables del tubo de transporte de muestras Aptima también deben retirarse y desecharse.

- 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. Calibradores

1. Los tubos de calibrador pueden cargarse en cualquier posición en la gradilla de muestras y en cualquier carril del compartimento de muestras en el Panther system. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
 - a. El sistema está procesando actualmente los calibradores.
 - b. Los resultados válidos para el calibrador se registran en el sistema.
2. Una vez que los tubos de calibrador se hayan pipeteado y estén procesándose para el kit de reactivos del Aptima Zika Virus assay, las muestras podrán analizarse con el kit asociado durante un periodo máximo de 24 horas **a menos que:**
 - a. Los resultados del calibrador 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. Cada tubo de calibrador puede analizarse solo 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

Criterios de aceptación para el Aptima Zika Virus Assay

A. Validez del ciclo

Un ciclo (también identificado como lista de trabajo) es válido si el número mínimo de calibradores satisfacen sus criterios de aceptación y son válidos (consulte *Criterios de aceptación para la calibración y cálculo del valor de corte*).

1. En un ciclo del Aptima Zika Virus assay, al menos cuatro de las seis réplicas de calibrador deben ser válidas. Al menos dos de las tres réplicas de calibrador negativo y dos de las tres réplicas de calibrador positivo deben ser válidas.
2. El software del Panther System verifica automáticamente los criterios de validación del calibrador. Si menos de la cantidad mínima de réplicas del calibrador son válidas, el software del Panther System invalidará automáticamente el ciclo.
3. En un ciclo válido, los valores de corte se calcularán automáticamente para el control interno («flasher») y el analito («glower»).
4. Si un ciclo no es válido, se notifican los resultados de la muestra como no válidos y será necesario volver a analizar todas las muestras.

B. Validez de la muestra

1. En un ciclo válido, un resultado de muestra es válido si la señal del control interno es igual o superior al valor de corte del control interno, con las siguientes excepciones:
 - a. Las muestras con una señal de analito (señal «glower») mayor que el valor de corte del analito no se invalidan, incluso si la señal del control interno (IC) está por debajo del valor de corte.
 - b. Las muestra con una señal de IC por encima de 750.000 RLU son invalidadas por el software y su estado de reactivo no puede evaluarse. El software también invalida automáticamente los calibradores positivos con una señal de control interno por encima de 750.000 RLU.
2. También puede invalidarse una muestra debido a errores del instrumento y de procesamiento de los resultados. Consulte el *Manual del usuario del Panther System* para obtener más detalles.
3. Todos los resultados de muestras individuales que sean no válidas en un ciclo válido deben volver a analizarse.

Criterios de aceptación para la calibración y cálculo del valor de corte

A. Criterios de aceptación del calibrador negativo

El calibrador negativo (NC) se procesa por triplicado en el Aptima Zika Virus assay. Cada réplica de calibrador negativo debe tener un valor del control interno (IC) superior o igual a 50.000 RLU e inferior o igual a 500.000 RLU. Cada réplica de calibrador negativo debe tener también un valor de analito inferior o igual a 40.000 RLU y superior o igual a 0 RLU. Si uno de los valores de réplica de calibrador negativo no es válido debido a un valor de IC o de analito fuera de estos límites, se recalculará la media del calibrador negativo (NC_x) en función de los dos valores aceptables. El ciclo no es válido y debe repetirse si dos o más de los tres valores de réplica de calibrador negativo tienen valores de IC o de analito que están fuera de estos límites.

Determinación de la media de los valores de calibrador negativo (NC_x) para el control interno [NC_x (Control interno)]

Ejemplo:

Calibrador negativo	Control interno Unidades de luz relativas (Relative Light Units)
1	235.000
2	200.000
3	210.000
RLU total del control interno	= 645.000

$$NC_x (\text{Control interno}) = \frac{\text{RLU total del control interno}}{3} = 215.000$$

Determinación de la media de los valores de calibrador negativo (NC_x) para el analito [NC_x (Analito)]

Ejemplo:

Calibrador negativo	Analito Unidades de luz relativas (Relative Light Units)
1	14.000
2	16.000
3	15.000
RLU total de analito	= 45.000

$$NC_x (\text{Analito}) = \frac{\text{RLU total de analito}}{3} = 15.000$$

B. Criterios de aceptación del calibrador positivo

El calibrador positivo (PC) se procesa por triplicado en el Aptima Zika Virus assay. Los valores de analito de calibrador positivo (PC) deben ser inferiores o igual a 4.000.000 RLU y superiores o igual a 400.000 RLU. Los valores de IC no pueden exceder de 750.000 RLU. Si uno de los valores de réplica de calibrador positivo está fuera de estos límites, se recalculará la media del calibrador positivo (PC_x) en función de los dos valores aceptables de réplica de calibrador positivo. El ciclo no es válido y debe repetirse si dos o más de los tres valores de analito de calibrador positivo están fuera de estos límites.

Determinación de la media de los valores de calibrador positivo (PC_x) para el analito [PC_x (Analito)]

Ejemplo:

Calibrador positivo	Analito Unidades de luz relativas (Relative Light Units)
1	1.250.000
2	1.500.000
3	1.150.000
RLU total de analito	= 3.900.000

$$PC_x (\text{Analito}) = \frac{\text{RLU total de analito}}{3} = 1.300.000$$

C. Cálculo del valor de corte del control interno

Valor de corte del control interno = $0,5 \times [\text{NC}_x \text{ (Control Interno)}]$

Según los valores indicados en el ejemplo de calibrador negativo anterior:

Valor de corte del control interno = $0,5 \times (215.000)$

Valor de corte del control interno = 107.500 RLU

D. Cálculo del valor de corte del virus del Zika

Valor de corte del analito = $\text{NC}_x \text{ (Analito)} + [0,03 \times \text{PC}_x \text{ (Analito)}]$

Según los valores indicados en los ejemplos de calibrador negativo y calibrador positivo anteriores:

Valor de corte del analito = $15.000 + (0,03 \times 1.300.000)$

Valor de corte del analito = 54.000 RLU

E. Resumen de los criterios de aceptación para el Aptima Zika Virus Assay

Criterios de aceptación	
Calibrador negativo	
Analito	$\geq 0 \text{ y } \leq 40.000 \text{ RLU}$
Control interno	$\geq 50.000 \text{ y } \leq 500.000 \text{ RLU}$
Calibrador positivo	
Analito	$\geq 400.000 \text{ y } \leq 4.000.000 \text{ RLU}$
Control interno	$\leq 750.000 \text{ RLU}$

F. Resumen de los cálculos del valor de corte para el Aptima Zika Virus Assay

Valor de corte del analito = $\text{RLU media del analito del NC} + [0,03 \times (\text{RLU media del analito del PC})]$

Valor de corte del control interno = $0,5 \times (\text{RLU media del IC del calibrador negativo})$

Interpretación de resultados

El software del Panther System realiza todos los cálculos descritos anteriormente. Dos valores de corte se determinan para cada ensayo: uno para la señal del analito (señal «glower»), denominada valor de corte del analito, y otro para la señal del control interno (señal «flasher»), denominada valor de corte del control interno. Los cálculos de estos valores de corte se indican más arriba. Para cada muestra se determina un valor de RLU de la señal del analito y un valor de RLU de la señal del control interno. La RLU de la señal del analito dividida por el valor de corte del analito se abrevia como señal/valor de corte del analito (S/CO) en el informe.

Una muestra es negativa si la señal del analito es inferior al valor de corte del analito (es decir, la S/CO del analito $< 1,00$) y la señal del control interno (IC) es superior o igual al valor de corte del control interno (IC) e inferior o igual a 750.000 RLU. Una muestra es positiva si la señal del analito es superior o igual al valor de corte del analito (es decir, la S/CO del analito $\geq 1,00$) y la señal del control interno (IC) es inferior o igual a 750.000 RLU. El software establecerá los resultados. Una muestra no es válida si la señal del analito es inferior al valor de corte del analito (es decir, la S/CO del analito $< 1,00$) y la señal del control interno es inferior al valor de corte del control interno. Una muestra con valores del control interno superiores a 750.000 RLU se considera no válida.

Resumen de la interpretación de muestras

Interpretación de muestras	Criterio
Negativo	S/CO del analito $< 1,00$ y IC \geq Valor de corte del IC y IC \leq 750.000 RLU
Positivo	S/CO del analito $\geq 1,00$ y IC \leq 750.000 RLU*
No válido	IC $>$ 750.000 RLU o S/CO del analito $< 1,00$ y IC $<$ Valor de corte

*Para las muestras con una señal del IC superior a 750.000 RLU, la muestra será invalidada por el software.

- A. Todas las muestras interpretadas como no válidas en el Aptima Zika Virus assay deben reanalizarse por separado.
- B. Las muestras con un valor de control interno válido y con una S/CO del analito inferior a 1,00 en el Aptima Zika Virus assay se consideran negativas para el RNA del ZIKV.
- C. Las muestras con una S/CO del analito superior o igual a 1,00 con una señal del IC inferior o igual a 750.000 RLU se consideran positivas para el RNA del ZIKV.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento correctos de las muestras.
- C. El efecto sobre el rendimiento Aptima Zika Virus assay del almacenamiento a largo plazo de las muestras no ha sido evaluado en su totalidad.
- D. Aunque es raro, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma viral de unión de los cebadores y/o sondas en el Aptima Zika Virus assay pueden dar como resultado la imposibilidad de detectar el virus.
- E. Este ensayo se ha desarrollado para su uso exclusivo con el Panther system.
- F. La contaminación cruzada de las muestras puede dar lugar a resultados falsos positivos.
- G. Los ensayos y la interpretación de los resultados deben realizarse de acuerdo con los procedimientos establecidos.
- H. Las desviaciones de estos procedimientos, las condiciones adversas de envío y/o almacenamiento o la utilización de reactivos caducados pueden producir resultados no fiables.
- I. La imposibilidad de obtener los resultados previstos es una indicación de un ciclo no válido. Las posibles fuentes de error incluyen el deterioro del kit de tests, errores del usuario, rendimiento defectuoso del equipo, muestras deterioradas o contaminación de los reactivos.
- J. Este ensayo se ha analizado usando solo los tipos de muestras indicados. El rendimiento con otros tipos de muestras no se ha evaluado.
- K. Los resultados del Aptima Zika Virus assay deben interpretarse junto con otros datos clínicos a disposición del médico.
- L. Un resultado negativo no descarta una posible infección ya que los resultados dependen de una recogida de muestras correcta. Los resultados de la prueba pueden verse afectados por la recogida incorrecta de muestras, un error técnico, la mezcla de muestras o niveles de diana por debajo del límite de detección del ensayo.
- M. El Aptima Zika Virus assay proporciona resultados cualitativos. Por lo tanto, no se puede establecer una correlación entre la magnitud de una señal positiva del ensayo y el número de organismos existentes en la muestra.
- N. Los clientes deberán validar independientemente un proceso de transferencia al LIS.

Rendimiento

Sensibilidad analítica

Límite de detección (LDD) de las muestras de plasma

El límite de detección (LDD) se define como la concentración de RNA del ZIKV que se detecta con una probabilidad del 95 % o superior según el documento CLSI EP17-A2.²⁰ El LDD se determinó analizando una muestra de plasma positiva al ZIKV diluida en serie en plasma humano libre de fibrina y lípidos. La muestra de plasma positiva se obtuvo a partir de un donante de sangre durante el brote de Zika en Brasil en 2015. Se utilizaron dos lotes de reactivos y tres instrumentos Panther para analizar 72 réplicas de cada nivel de copia por lote de reactivo para un total de 144 réplicas por nivel, excepto para la muestra del panel con 90 copias/mL, que se analizó en 20 réplicas por lote de reactivo para un total de 40 réplicas. Los resultados se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1: Detección del ZIKV en plasma

Concentración (copias/mL)	% de positividad (IC del 95 %)		
	Lote 1 (n=72)	Lote 2 (n=72)	Combinado (n=144)
90	100 (84 - 100) ^a	100 (84 - 100) ^a	100 (91 - 100) ^b
30	100 (95 - 100)	100 (95 - 100)	100 (97 - 100)
10	100 (95 - 100)	100 (95 - 100)	100 (97 - 100)
3	86 (76 - 92)	92 (83 - 96)	89 (83 - 93)
1	38 (28 - 50)	60 (48 - 71)	49 (41 - 57)
0,3	19 (12 - 30)	14 (8 - 24)	17 (12 - 24)
0,1	1 (0 - 7)	6 (2 - 14)	3 (1 - 7)
0	0 (0 - 5)	0 (0 - 5)	0 (0 - 3)

IC = Intervalo de confianza

^an=20.

^bn=40.

Las probabilidades de detección del ZIKV de 50 % y 95 % en plasma fueron determinadas por el análisis Probit mediante los datos obtenidos de las pruebas de sensibilidad analítica. El límite de detección del ZIKV en el Aptima Zika Virus assay estaba en el intervalo entre 0,91 copias/mL y 1,22 copias/mL en la probabilidad de detección del 50 %, y entre 3,30 copias/mL y 4,41 copias/mL en la probabilidad de detección del 95 % (Tabla 2).

Tabla 2: Análisis Probit para la detección del ZIKV en plasma

Lote de reactivo	Límite de detección del 50 % (límites fiduciales del 95 %)	Límite de detección del 95% (límites fiduciales del 95 %)
Lote 1	1,22 (1,01 - 1,47)	4,41 (3,46 - 6,14)
Lote 2	0,91 (0,74 - 1,09)	3,30 (2,63 - 4,44)
Combinado	1,06 (0,92 - 1,20)	3,87 (3,25 - 4,78)

Límite de detección de las muestras de orina

El LDD se determinó analizando una muestra de plasma positiva al ZIKV diluida en serie en una mezcla de orinas negativas. Se prepararon las muestras del panel de sensibilidad en orina añadiendo plasma positivo al ZIKV en la orina, a la concentración indicada, anteriormente a la mezcla con UTM a una proporción de 1:1 (orina procesada). Se utilizaron dos lotes de reactivos y tres instrumentos Panther para analizar 30 réplicas de cada nivel de copias por lote de reactivo para un total de 60 réplicas por nivel. Los resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3: Detección del ZIKV en orina

Concentración ^a (copias/mL)	% de positividad (IC del 95 %)		
	Lote 1 (n=30)	Lote 2 (n=30)	Combinado (n=60)
90	100 (89 - 100)	100 (89 - 100)	100 (94 - 100)
30	100 (89 - 100)	100 (89 - 100)	100 (94 - 100)
10	97 (84 - 100)	83 (66 - 92)	90 (80 - 95)
3	63 (45 - 78)	43 (27 - 60)	53 (41 - 65)
1	27 (14 - 45)	30 (17 - 48)	28 (18 - 40)
0,3	7 (2 - 22)	3 (0 - 16)	5 (2 - 14)
0,1	0 (0 - 11)	0 (0 - 11)	0 (0 - 6)
0	0 (0 - 11)	0 (0 - 11)	0 (0 - 6)

IC = Intervalo de confianza

^a Concentración en la orina antes del procesamiento.

Las probabilidades de detección del ZIKV de 50 % y 95 % en orina, fueron determinadas por el análisis Probit mediante los datos obtenidos de las pruebas de sensibilidad analítica. El límite de detección del ZIKV en el Aptima Zika Virus assay estaba en el intervalo entre 2,26 copias/mL y 3,42 copias/mL en la probabilidad de detección del 50 %, y entre 8,25 copias/mL y 15,63 copias/mL en la probabilidad de detección del 95 % (Tabla 4).

Tabla 4: Análisis Probit para la detección del ZIKV en orina^a

Lote de reactivo	Límite de detección del 50 % (límites fiduciales del 95 %)	Límite de detección del 95% (límites fiduciales del 95 %)
Lote 1	2,26 (1,67 - 3,00)	8,25 (5,89 - 13,53)
Lote 2	3,42 (2,42 - 4,64)	15,63 (10,70 - 27,30)
Combinado	2,81 (2,23 - 3,47)	11,99 (9,17 - 17,04)

^a Concentración en la orina antes del procesamiento.

Reproducibilidad

Reproducibilidad de las muestras de sangre

Se evaluó la reproducibilidad del Aptima Zika Virus assay en el Panther System analizando un panel de ZIKV compuesto de muestras del panel positivo a 100 copias/mL y 30 copias/mL, y una muestra del panel negativo a partir de plasma negativo (Tabla 5). Las muestras del panel positivo se realizaron añadiendo plasma positivo al ZIKV a plasma negativo. Tres usuarios analizaron el panel con tres lotes de reactivo diferentes y en tres instrumentos Panther durante varios días. Se generaron un total de 27 ciclos válidos con el Aptima Zika Virus assay. Cada muestra del panel se analizó en un total de 486 réplicas. La tasa global de análisis no válidos fue del 0 % (0/1458).

Los análisis de reproducibilidad incluyeron la evaluación del porcentaje de acuerdo y el ratio entre la media de la señal y el valor de corte (S/CO) para las muestras del panel, así como la evaluación de la desviación estándar (DE) y el porcentaje de coeficiente de variación (% CV) de los ratios S/CO para cada uno de los cinco factores de varianza (Tabla 5). Se analizaron la media del ratio S/CO del analito para las muestras del panel positivo, así como los ratios S/CO del control interno para la muestra del panel negativo. El porcentaje de acuerdo entre los resultados de ensayo y el estado real de cada muestra del panel se calculó con la S/CO del analito para todas las muestras del panel.

El porcentaje de acuerdo total de los resultados de la prueba fue del 100 % para las muestras del panel positivo y del 100% para la muestra del panel negativo. No hubo correlación entre el número de copias de las muestras y los factores de varianza evaluados en este estudio. Con respecto a la variabilidad de la señal, la variabilidad en el ciclo fue el factor que más contribuyó a la varianza total (medida por los valores de desviación estándar) en el Aptima Zika Virus assay.

Tabla 5: Reproducibilidad del Aptima Zika Virus Assay para muestras de sangre

Muestra del panel	N	#P	% A	S/CO ^a media	Entre lotes		Entre instrumentos		Entre usuarios		Entre días		En el ciclo		Total	
					DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
Alta (100 copias/mL)	486	486	100	33,22	0,02	0 %	0,34	1 %	0,17	1 %	0,12	0 %	1,33	4 %	1,38	4 %
Baja (30 copias/mL)	486	486	100	33,35	0,17	1 %	0,27	1 %	0,08	0 %	0,08	0 %	1,27	4 %	1,31	4 %
Negativo	486	0	100	1,94	0,02	1 %	0,01	1 %	0,01	0 %	0,00	0 %	0,05	2 %	0,05	3 %

N = número de muestras del panel combinadas para este análisis; #P = número de positivos; %A = porcentaje de acuerdo; S/CO = relación señal/valor de corte solo en replicas de reactivo; DE = desviación estándar; CV = Coeficiente de variación.
^a S/CO media del analito para las muestras del panel positivo (alta y baja); S/CO media del control interno para la muestra del panel negativo.

Reproducibilidad de las muestras de orina

La reproducibilidad del Aptima Zika Virus assay en el Panther System se evaluó analizando un panel de ZIKV compuesto de muestras del panel positivo a 100 copias/mL y 30 copias/mL, y una muestra del panel negativo a partir de orina negativa mezclada (Tabla 6). Las muestras del panel positivo se prepararon añadiendo plasma positivo al ZIKV en orina negativa, a la concentración indicada. Todas las muestras del panel se mezclaron con UTM a una proporción 1:1 para crear paneles de reproducibilidad de orina procesada. Tres usuarios analizaron el panel con tres lotes de reactivo diferentes y en tres instrumentos Panther durante varios días. Se generaron un total de 27 ciclos válidos con el Aptima Zika Virus assay. Cada muestra del panel se analizó en un total de 486 réplicas. La tasa global de análisis no válidos fue del 0 % (0/1458).

Los análisis de reproducibilidad incluyeron la evaluación del porcentaje de acuerdo y la media del ratio entre señal y valor de corte (S/CO) para las muestras del panel, así como la evaluación de la desviación estándar (DE) y el porcentaje de coeficiente de variación (% CV) de los ratios S/CO para cada uno de los cinco factores de varianza (Tabla 6). Se analizaron la media del ratio S/CO del analito para las muestras del panel positivo, así como los ratios S/CO del control interno para la muestra del panel negativo. El porcentaje de acuerdo entre los resultados de ensayo y el estado real de cada muestra del panel se calculó con la S/CO del analito para todas las muestras del panel.

El porcentaje de acuerdo total de los resultados de la prueba fue del 100 % para la muestra del panel positivo alto, 96,5 % para la muestra del panel positivo bajo y 100 % para la

muestra del panel negativo. No hubo correlación entre el número de copias de las muestras y los factores de varianza evaluados en este estudio. Con respecto a la variabilidad de la señal, la variabilidad en el ciclo fue el factor que más contribuyó a la varianza total (medida por los valores de desviación estándar) en el Aptima Zika Virus assay.

Tabla 6: Reproducibilidad del Aptima Zika Virus Assay para muestras de orina

Muestra del panel ^a	N	#P	%A	S/CO media ^b	Entre lotes		Entre instrumentos		Entre usuarios		Entre días		En el ciclo		Total	
					DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
Alta (100 copias/mL)	486	486	100	34,36	0,09	0 %	0,25	1 %	0,08	0 %	0,07	0 %	1,31	4 %	1,34	4 %
Baja (30 copias/mL)	486	469	96,5	32,02	1,01	3 %	0,30	1 %	0,46	1 %	1,46	5 %	5,21	16 %	5,53	17 %
Negativo	486	0	100	1,99	0,02	1 %	0,01	1 %	0,02	1 %	0,01	0 %	0,04	2 %	0,05	2 %

N = número de muestras del panel combinadas para este análisis; #P = número de positivos; %A = porcentaje de acuerdo; S/CO = relación señal/valor de corte solo en replicas de reactivo, DE = desviación estándar; CV = Coeficiente de variación.

^a Concentración en la orina antes del procesamiento.

^b S/CO media del analito para las muestras del panel positivo (altas y bajas); S/CO media del control interno para la muestra del panel negativo.

Interferencia

Sustancias de interferencia de las muestras de sangre

Se evaluó el potencial de interferencia de las sustancias endógenas mediante el análisis de muestras de pacientes con enfermedades autoinmunes y otras afecciones. Se evaluaron diez muestras de plasma de cada grupo de pacientes con las siguientes enfermedades autoinmunes y otras afecciones: ictericia, lipemia, hemólisis, anticuerpos antinucleares, mieloma múltiple, lupus eritematoso sistémico y factor reumatoide. Cada muestra se dividió en dos alícuotas. A una de las alícuotas se añadió plasma positivo al ZIKV a una concentración de 18 copias/mL. Las alícuotas positiva y no positiva a ZIKV se analizaron con el Aptima Zika Virus assay. Todas las muestras sin plasma positivo a ZIKV fueron negativas. Todas las muestras con plasma positivo a ZIKV fueron positivas, excepto una alícuota de un paciente con lupus eritematoso sistémico. Se preparó y reanalizó una nueva alícuota de la muestra. El resultado fue positivo después de repetir el análisis.

El potencial de interferencia de las sustancias endógenas fue nuevamente evaluado mediante el análisis de plasma con las sustancias siguientes: albúmina (60.000 mg/L), hemoglobina (2.000 mg/L), bilirrubina (200 mg/L) y lípidos (30.000 mg/L). No se observó ninguna interferencia al evaluar la especificidad y la sensibilidad.

Para evaluar la interferencia de los anticoagulantes y el dispositivo de recogida, se comparó el rendimiento de las muestras de suero y plasma en el Aptima Zika Virus assay. Se recogió sangre de 10 donantes normales con los siguientes anticoagulantes y tipos de tubos: 1) ácido etilendiaminotetraacético dipotásico (K2 EDTA), 2) ácido etilendiaminotetraacético tripotásico (K3 EDTA) 3) ácido-citrato-dextrosa-adenina (ACD-A), 4) citrato de sodio (NAC), 5) tubos de preparación de plasma (PPT), 6) tubos separadores de suero (SST) y 7) tubo de suero (suero). Para cada uno de los 10 donantes, la extracción de sangre se realizó utilizando cada uno de los siete tipos de tubos. Cada muestra de donante se dividió en dos alícuotas. A una de las alícuotas se añadió plasma positivo al ZIKV a una concentración de 18 copias/mL. Las alícuotas positivas y negativas se analizaron con el Aptima Zika Virus assay.

Para las alícuotas negativas, todas las 70 muestras fueron negativas en el Aptima Zika Virus assay. La media de los ratios S/CO medias de control interno tenían unos valores entre 1,83 y 1,90 con el % CV entre el 2 % y el 3 % para cada tipo de tubo (Tabla 7). Para las alícuotas positivas, todas las 70 muestras fueron positivas en el Aptima Zika Virus assay. La media de los ratios S/CO del analito para cada uno de los siete tipos de tubos estaba entre 31,90 y 34,20 con el % CV entre el 3 % y el 4 % (Tabla 8). No se observó ninguna interferencia de los anticoagulantes y el dispositivo de recogida.

Tabla 7: Resultados del Aptima Zika Virus Assay para muestras de plasma y suero negativas y recogidas en diferentes tipos de tubos

Tubo de recogida	N	#P	%P	S/CO del control interno			S/CO del analito		
				Media	DE	CV	Media	DE	CV
K2EDTA	10	0	0 %	1,89	0,06	3 %	0,00	0,01	N/A
K3EDTA	10	0	0 %	1,87	0,04	2 %	0,00	0,00	N/A
ACD-A	10	0	0 %	1,87	0,04	2 %	0,00	0,00	N/A
PPT	10	0	0 %	1,83	0,04	2 %	0,00	0,00	N/A
NAC	10	0	0 %	1,84	0,06	3 %	0,00	0,00	N/A
Suero	10	0	0 %	1,85	0,06	3 %	0,00	0,00	N/A
SST	10	0	0 %	1,90	0,05	3 %	0,00	0,00	N/A

N = número de muestras; #P = número de positivos; %P = porcentaje de positivos; IC = control interno; S/CO = relación señal/valor de corte; DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación; N/D = no disponible.

Tabla 8: Resultados del Aptima Zika Virus Assay para muestras de plasma y suero positivas recogidas en diferentes tipos de tubos

Tubo de recogida	N	#P	%P	S/CO del control interno			S/CO del analito		
				Media	DE	CV	Media	DE	CV
K2EDTA	10	10	100 %	2,05	0,45	22 %	32,77	1,23	4 %
K3EDTA	10	10	100 %	1,99	0,39	20 %	32,63	0,82	3 %
ACD-A	10	10	100 %	1,88	0,44	23 %	32,02	1,32	4 %
PPT	10	10	100 %	1,92	0,25	13 %	32,32	1,24	4 %
NAC	10	10	100 %	1,91	0,50	26 %	31,90	1,31	4 %
Suero	10	10	100 %	1,78	0,31	18 %	34,20	1,34	4 %
SST	10	10	100 %	1,77	0,51	29 %	32,52	1,32	4 %

N = número de muestras; #P = número de positivos; %P = porcentaje de positivos; IC = control interno; S/CO = relación señal/valor de corte; DE = desviación estándar; CV = coeficiente de variación; N/D = no disponible.

Sustancias de interferencia de las muestras de orina

Para comprobar los efectos de los metabolitos de orina, el control Urinalysis con Urobilinógeno KOVA-Trol I High Abnormal se diluyó en medio de transporte de orina (UTM) en lugar de orina. Este material de control de análisis de orina humana contiene interferentes potenciales tales como proteínas (albúmina), glucosa, cetonas, bilirrubina, glóbulos rojos, nitritos, urobilinógeno y leucocitos. Además, se analizó la orina que contenía

sangre completa a una concentración de 5 % de volumen/volumen. No se observó interferencia con ninguna de las sustancias cuando se enriquecieron con ZIKV a una concentración final de 18 copias/mL o sin enriquecer con ZIKV en el Aptima Zika Virus assay.

Reactividad cruzada

Reactividad cruzada de las muestras de sangre

Se analizó la reactividad cruzada y la interferencia de otros patógenos de transmisión sanguínea en las muestras de sangre. La reactividad cruzada del Aptima Zika Virus assay se evaluó mediante el análisis de muestras clínicas de 10 pacientes que presentaban las siguientes infecciones virales: Virus del dengue, virus de la hepatitis A (VHA), virus de la hepatitis B (VHB), virus de la hepatitis C (VHC), virus de la inmunodeficiencia humana (VIH 1 y 2), parvovirus B19, y virus del Nilo Occidental (VNO). También se analizaron muestras de 10 sujetos a los que se les había administrado la vacuna del VHB. Las muestras se obtuvieron de un proveedor comercial y estaban caracterizadas por los proveedores a través de métodos validados. Además, se evaluaron muestras de plasma negativo y plasma al que se había añadido virus de la hepatitis E (VHE) a 1×10^5 copias/mL y muestras de plasma negativo y plasma al que se había añadido virus de Chikungunya a 1×10^5 U/mL. Cada muestra anterior se dividió en dos alícuotas. Una alícuota se utilizó para la evaluación de la reactividad cruzada. A la otra alícuota se le añadió plasma positivo al ZIKV y se utilizó como muestra artificial en la evaluación clínica. Para la reactividad cruzada, se analizaron una sola vez alícuotas de muestras de donantes con infecciones de origen natural a los que se les había administrado la vacuna contra el VHB. Las muestras con VHE y virus del Chikungunya se analizaron en réplicas de 10.

Los resultados del Aptima Zika Virus assay fueron negativos para todas las muestras. No se observó reactividad cruzada en las muestras de sujetos infectados con otros patógenos de transmisión sanguínea ni en las muestras de sujetos a los que se les había administrado vacunas contra el VHB, ni en las muestras con virus VHE y Chikungunya. Se analizó el potencial de interferencia mediante una alícuota de cada muestra con ZIKV a 18 copias/mL, y todos los resultados fueron positivos. No se observó reactividad cruzada ni interferencia en las muestras que contenían otros patógenos de transmisión sanguínea.

Se analizó la reactividad cruzada y la interferencia con microorganismos. Se utilizó plasma negativo para preparar las muestras con 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC/mL) o unidad formadora de inclusión por mL (IFU/mL) con cada uno de los siguientes microorganismos: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Propionibacterium acnes*, *Candida albicans*, *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis*. La reactividad cruzada se analizó mediante muestras sin ZIKV, y todos los resultados fueron negativos. Se analizó el potencial de interferencia microbiana mediante una alícuota de cada muestra con ZIKV a 18 copias/mL, y todos los resultados fueron positivos. No se observó reactividad cruzada ni interferencia en las muestras que contenían bacterias u hongos.

Reactividad cruzada de las muestras de orina

Se analizó la reactividad cruzada y la interferencia de los microorganismos en orina para el Aptima Zika Virus assay. Se utilizó orina negativa para preparar las muestras con 1×10^6 unidades formadoras de colonias (UFC/mL) o unidad formadora de inclusión por mL (IFU/mL) con cada uno de los siguientes microorganismos: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Chlamydia*

trachomatis (5×10^5 IFU/mL), *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Gardnerella vaginalis*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii* o *Proteus mirabilis* (1×10^6 rRNA/mL). La reactividad cruzada se analizó mediante muestras sin ZIKV, y todos los resultados fueron negativos. Se analizó el potencial de interferencia microbiana mediante una alícuota de cada muestra con ZIKV a 18 copias/mL, y todos los resultados fueron positivos. No se observó reactividad cruzada ni interferencia en las muestras que contenían estos microorganismos.

Evaluación clínica

Evaluación clínica de las muestras de sangre

Se obtuvieron veintiséis (26) muestras de plasma de tres proveedores comerciales. Los proveedores determinaron que las 26 muestras eran positivas al ZIKV según los resultados del Ensayo CDC TrioPlex (dos proveedores) o según una prueba validada RT-PCR en tiempo real. Las muestras se reanalizaron con una prueba validada diferente RT-PCR en tiempo real, y se confirmó que 24 de las 26 eran positivas. Las dos muestras que eran negativas en el nuevo análisis se consideraron negativas para el resultado de referencia en los análisis siguientes. El Aptima Zika Virus assay fue positivo para el total de las 26 muestras clínicas. La Tabla 9 indica los resultados de las 24 muestras positivas de referencia.

Tabla 9: Resultados del Aptima Zika Virus Assay de 24 muestras clínicas positivas al ZIKV

ID de la muestra	País de origen	Ct/Cp de referencia	Resultado Aptima	S/CO Aptima
08847156	Colombia	34,14	Positivo	30,5
08847163	Colombia	34,90	Positivo	31,3
08847229	Colombia	31,43	Positivo	31,3
08847260	Colombia	32,75	Positivo	32,5
08847264	Colombia	36,32	Positivo	32,8
08847284	Colombia	33,14	Positivo	32,5
08847325	Colombia	36,22	Positivo	31,2
08847716	Colombia	31,76	Positivo	29,8
1043-TDS-0112	República Dominicana	31,80	Positivo	30,9
1043-TDS-0114	República Dominicana	35,20	Positivo	31,8
1043-TDS-0115	República Dominicana	24,74	Positivo	32,3
1043-TDS-0119	República Dominicana	30,69	Positivo	32,1
1043-TDS-0122	República Dominicana	35,05	Positivo	30,6
1043-TDS-0129	República Dominicana	37,24	Positivo	31,8
1043-TDS-0130	República Dominicana	34,23	Positivo	33,4
1043-TDS-0131	República Dominicana	29,66	Positivo	30,3
1043-TDS-0134	República Dominicana	37,30	Positivo	31,0
1043-TDS-0135	República Dominicana	34,07	Positivo	32,1
1043-TDS-0137	República Dominicana	29,54	Positivo	31,7
1043-TDS-0141	República Dominicana	30,71	Positivo	32,0
1043-TDS-0143	República Dominicana	28,73	Positivo	29,6
1043-TDS-0144	República Dominicana	34,19	Positivo	29,8
1043023924	Colombia	34,69	Positivo	30,3
8798593	Colombia	22,75	Positivo	31,7

Se prepararon un total de 90 muestras artificiales añadiendo plasma positivo de ZIKV en muestras de plasma a una concentración de 18 copias/mL. Las 90 muestras incluyeron 10 muestras de plasma de pacientes que eran positivos al parvovirus B19, dengue, VHA, VHB, VHC, VIH o VNO; 10 muestras de plasma de un donante vacunado contra el VHB; y 10 muestras de plasma de donantes normales.

Se utilizaron un total de 72 muestras de plasma como muestras negativas al ZIKV. Setenta (70) muestras incluyeron 10 muestras de plasma, cada una con anticuerpos antinucleares positivos, hemolizadas (niveles elevados de hemoglobina), ictericas (bilirrubina), lipémicas (niveles elevados de lípidos), con mieloma múltiple, artritis reumatoide o lupus eritematoso sistémico. También se incluyeron dos muestras positivas mediante análisis inicial pero negativas al analizarlas de nuevo. Estas dos muestras resultaron positivas en el Aptima Zika Virus assay. Los resultados de la evaluación clínica se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10: Resultados de la evaluación clínica para el Aptima Zika Virus Assay

Categoría de muestra	Aptima Zika Virus Assay		
	Número analizado	Positivo al ZIKV	Negativo al ZIKV
Muestras positivas al Zika naturales	24	24 / 24	0 / 24
Muestras clínicas positivas al Zika artificiales (3 x LDD)	90 ^a	90 / 90	0 / 90
Muestras clínicas negativas al Zika previstas	72 ^b	2 / 72	70 / 72
Porcentaje de concordancia positiva	100 % (114 / 114) IC de 95 %: 96,7 % al 100 %		
Porcentaje de concordancia negativa	97,2 % (70 / 72) ^b IC de 95 %: 90,4 al 99,2 %		

IC = Intervalo de confianza.

^a Incluye las alícuotas enriquecidas con ZIKV de 90 muestras de plasma evaluadas en los estudios de interferencia.

^b Incluye dos muestras de pacientes que eran positivas en las pruebas de referencia iniciales y negativas al analizarlas de nuevo mediante un método PCR alternativo, y se consideraron como falsas positivas.

Evaluación clínica de las muestras de orina

Se obtuvieron diez (10) muestras emparejadas (muestras emparejadas de plasma/suero/orina recogidas de 10 pacientes sintomáticos) de un proveedor comercial. El proveedor determinó que los 10 pacientes sintomáticos eran positivos al ZIKV según los resultados de las muestras de suero analizadas con una prueba diferente RT-PCR validada en tiempo real. Las muestras de orina se procesaron antes del análisis. Los 10 muestras de orina procesadas se analizaron junto con las muestras de plasma y orina de cada uno de los 10 pacientes que utilizaron el Aptima Zika Virus assay. Todas las muestras fueron positivas tras el análisis inicial. La Tabla 11 indica los resultados de las 10 muestras.

Tabla 11: Resultados del Aptima Zika Virus Assay de 10 muestras clínicas positivas al ZIKV emparejadas

ID de la muestra	País de origen	Cpa de referencia (suero)	Plasma		Suero		Orina procesada	
			Resultado	S/CO	Resultado	S/CO	Resultado	S/CO
1043-TDS-0159	República Dominicana	36,31	Positivo	33,1	Positivo	31,7	Positivo	32,9
1043-TDS-0163	República Dominicana	32,54	Positivo	33,4	Positivo	33,4	Positivo	17,0
1043-TDS-0165	República Dominicana	40,38	Positivo	32,8	Positivo	32,6	Positivo	33,7

Tabla 11: Resultados del Aptima Zika Virus Assay de 10 muestras clínicas positivas al ZIKV emparejadas

ID de la muestra	País de origen	Cpa de referencia (suero)	Plasma		Suero		Orina procesada	
			Resultado	S/CO	Resultado	S/CO	Resultado	S/CO
1043-TDS-0173	República Dominicana	33,15	Positivo	32,6	Positivo	32,8	Positivo	34,1
1043-TDS-0206	República Dominicana	36,62	Positivo	31,6	Positivo	30,8	Positivo	32,4
1043-TDS-0221	República Dominicana	38,11	Positivo	17,8	Positivo	33,5	Positivo	32,8
1043-TDS-0223	República Dominicana	32,50	Positivo	34,0	Positivo	33,4	Positivo	31,9
1043-TDS-0224	República Dominicana	31,81	Positivo	33,8	Positivo	31,6	Positivo	33,6
1043-TDS-0230	República Dominicana	30,51	Positivo	33,8	Positivo	33,7	Positivo	34,7
1043-TDS-0231	República Dominicana	35,63	Positivo	31,6	Positivo	33,8	Positivo	34,4

Se prepararon un total de 99 muestras de orina añadiendo plasma positivo al ZIKV en muestras de orina: 33 muestras a 20 copias/mL, 33 muestras a 36 copias/mL y 33 muestras a 100 copias/mL. Cada muestra de orina se procesó antes del análisis con el Aptima Zika Virus assay. Todas las muestras de orina procesadas fueron positivas.

Se utilizaron un total de 123 muestras de orina como muestras negativas al RNA del ZIKV. De estas muestras, se recogieron 87 muestras de orina de una población normal: Se obtuvieron 36 muestras de orina de mujeres a partir de una población de pacientes (7 pacientes con cáncer de mama, 6 pacientes con enfermedad renal crónica, 6 pacientes con lupus eritematoso sistémico, 4 pacientes con neumonía, 8 pacientes con diabetes y 5 pacientes con infección del tracto urinario). Cada muestra de orina se procesó antes del análisis con el Aptima Zika Virus assay. Todas las muestras fueron negativas. Los resultados de la evaluación clínica se resumen en la Tabla 12.

Tabla 12: Resultados de la evaluación clínica para muestras de orina procesadas

Categoría de muestra	Aptima Zika Virus Assay		
	Número analizado	Positivo al ZIKV	Negativo al ZIKV
Muestras positivas al Zika naturales	10	10/10	0/10
Muestras clínicas positivas al Zika artificiales	99	99/99	0/99
Muestras clínicas negativas al Zika previstas	123	0/123	123/123
Porcentaje de concordancia positiva		100 % (109/109)	IC de 95 %: 96,6 % al 100 %
Porcentaje de concordancia negativa		100 % (123/123)	IC de 95 %: 97,0 % al 100 %

IC = Intervalo de confianza

Bibliografía

1. **International Committee on Taxonomy of Viruses.** <http://www.ictvonline.org/>
2. **Musso D, Gubler DJ.** 2016. Zika virus. Clin Microbiol Rev. Jul;29(3):487-524.
3. **Kitchen SF, Haddow AJ.** 1952. Zika virus. I. Isolations and serological specificity. Trans R Soc Trop Med Hyg. 46:509-520.

4. **Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, Pretrick M, Marfel M, Holzbauer S, Dubray C, Guillaumot L, Griggs A, Bel M, Lambert AJ, Laven J, Kosoy O, Panella A, Biggerstaff BJ, Fischer M, Hayes EB.** 2009. Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 360:2536–2543. doi: 10.1056/NEJMoa0805715.
5. **Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, Mallet HP, Sall AA, Musso D.** 2014. Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 20:1085–1086.
6. **Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI.** 2015. Zika virus outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 21:1885–1886. doi: 10.3201/eid2110.150847.
7. **Zanluca C, Melo VC, Mosimann AL, Santos GI, Santos CN, Luz K.** 2015. First report of autochthonous transmission of Zika virus in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 110:569-572.
8. **World Health Organization.** 2016. Situation report: Zika virus, microcephaly, Guillain-Barré syndrome. 8 December 2016.
9. **Cao-Lormeau V-M et al.** Guillain-Barré syndrome outbreak associated with Zika virus infection in French Polynesia: a case-control study. *Lancet* [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00562-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00562-6).
10. **Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA, Petersen LR.** 2016. Zika virus and birth defects — reviewing the evidence for causality. *N Engl J Med.* 2016 May 19;374(20):1981-1987. doi: 10.1056/NEJMSr1604338. PubMed PMID: 27074377.
11. **Musso D, Roche C, Robin E, Nhan T, Teissier A, Cao-Lormeau VM.** 2015. Potential sexual transmission of Zika virus. *Emerg Infect Dis* 21: 359-361.
12. **U.S. Centers for Disease Control and Prevention.** <http://www.cdc.gov/zika/transmission/blood-transfusion.html>
13. **Kacian DL, Fultz TJ** 1995. Nucleic acid sequence amplification methods. U.S. Patent 5,399,491.
14. **Arnold LJ, Hammond PW, Wiese WA, Nelson NC.** 1989. Assay formats involving acridinium-ester-labeled DNA probes. *Clin Chem* 35:1588-1594.
15. **Nelson NC, Cheikh A, Matsuda E, Becker M.** 1996. Simultaneous detection of multiple nucleic acid targets in a homogeneous format. *Biochem.* 35:8429-8438.
16. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
17. **29 CFR Part 1910.1030.** *Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens*; current version.
18. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL)*; current version.
19. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
20. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline.* 2nd ed. CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

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

Información de contacto en EE.UU. y en otros países:

Asistencia al cliente: +1 844 Hologic (+1 844 465 6442)
customersupport@hologic.com

Servicio técnico: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

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

Hologic, Aptima, Panther, SB100 y sus logotipos asociados 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 patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

© 2017 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-15988-301 Rev. 002
2017-02