

Xpert[®] HBV Viral Load

REF GXHBV-VL-CE-10

Instrucciones de uso

CE 2797 **IVD**

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2018-2023 Cepheid.

Cepheid[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®] y Xpert[®] son marcas comerciales de Cepheid, registradas en los EE. UU. y otros países.

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTAS INSTRUCCIONES DE USO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

© 2018-2023 Cepheid.

Xpert[®] HBV Viral Load

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert[®] HBV Viral Load

2 Denominación común o habitual

Xpert HBV VL

3 Indicaciones

El ensayo Xpert[®] HBV Viral Load (VL) es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la cuantificación rápida del ADN del virus de la hepatitis B (VHB) en suero o plasma (con EDTA) humano de personas con infección crónica por VHB, utilizando sistemas GeneXpert[®] automatizados.

La prueba está concebida para utilizarse junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio como un indicador del pronóstico de la enfermedad, y como ayuda en la valoración de la respuesta vírica al tratamiento antiviral, que se mide por los cambios en los niveles séricos o plasmáticos del ADN del VHB.

La prueba no está indicada para utilizarse como prueba de cribado de donantes para el HBV, ni como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de infección por HBV.

4 Resumen y explicación

El virus de la hepatitis B (VHB) es un pequeño virus de ADN con envoltura de la familia Hepadnaviridae y es responsable de la hepatitis aguda y crónica por VHB. El virus tiene un pequeño genoma de ADN circular que es parcialmente bicatenario, parcialmente monocatenario y tiene 42 nm de diámetro. El VHB contiene numerosos componentes antigénicos, que incluyen el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), el antígeno del núcleo de la hepatitis B (HBcAg) y el antígeno e de la hepatitis B (HBeAg). El VHB se transmite por exposición percutánea o de las mucosas a la sangre o los fluidos corporales de una persona infectada, de una madre infectada a su recién nacido, a través del contacto cercano en el hogar, a través de transfusiones de sangre no controladas o inyecciones inseguras en entornos sanitarios, a través del uso de drogas inyectables, y por contacto sexual con una persona infectada.

La hepatitis B crónica (HBC) puede presentarse como positiva al antígeno e de la hepatitis B (HBeAg) o negativa al HBeAg. La seroprevalencia del HBsAg específica por edad varía notablemente según la región geográfica, con la prevalencia más alta (>5 %) en África subsahariana, Asia oriental, algunas partes de las regiones de los Balcanes, las islas del Pacífico y la cuenca del Amazonas de América del Sur. Se observa una prevalencia por debajo del 2 % en regiones como Centroamérica, América del Norte y Europa Occidental. En general, casi la mitad de la población mundial vive en áreas de alta tasa endémica.¹ La morbilidad y la mortalidad de la HBC están relacionadas con la persistencia de la replicación viral y la evolución a cirrosis o carcinoma hepatocelular (CHC).² La mortalidad por hepatitis vírica ha aumentado con el tiempo y seguirá aumentando a menos que se realice un diagnóstico y tratamiento de la población.³

La vacuna contra el VHB está disponible para bebés y ha reducido considerablemente el número de nuevas infecciones crónicas, pero la cobertura es de solo el 39 %.³ En 2015, el 3,5 % de la población mundial vivía con una infección crónica por VHB, siendo las regiones del Pacífico Occidental y África las más afectadas.³ Solo el 9 % de las personas con VHB conocían su diagnóstico y, de las diagnosticadas, solo el 8 % recibían tratamiento.³ Se recomiendan nucleósidos y análogos de nucleótidos, como tenofovir y entecavir, para las personas elegibles para el tratamiento, ya que estos agentes antivirales son eficaces para suprimir la replicación del VHB, previniendo la progresión a cirrosis y reduciendo las muertes relacionadas con el hígado.¹ El tratamiento para el VHB es continuo durante toda la vida.¹

5 Principio del procedimiento

La prueba Xpert® HBV VL es una prueba automatizada para la detección cuantitativa del virus de la hepatitis B. La prueba se realiza en los sistemas GeneXpert y GeneXpert Infinity de Cepheid.

Los sistemas GeneXpert automatizan e integran la purificación de muestras, la amplificación de ácidos nucleicos y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de PCR en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal, y software precargado para realizar los ensayos y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso que contienen los reactivos para la PCR y también alojan los procesos de purificación y PCR. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Si desea obtener una descripción completa de los sistemas, consulte el *Manual del operador del GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del GeneXpert Infinity*, adecuados.

La prueba Xpert® HBV VL incluye reactivos para la detección de ADN del VHB en muestras, así como dos controles internos que se utilizan para la cuantificación del ADN del VHB. Los controles internos también se utilizan para controlar el procesamiento adecuado de la diana y la presencia de inhibidores en las reacciones de PCR. El control de comprobación de la sonda (PCC) comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del colorante.

La prueba se estandarizó en comparación con el 4º estándar internacional de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el ADN del VHB para tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) (código NIBSC: 10/266).⁴

6 Reactivos e instrumentos

6.1 Materiales suministrados

El kit de la prueba Xpert HBV VL contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos de HBV VL con tubos de reacción integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas) • Reactivo de lisis (tiocianato de guanidinio) • Reactivo de enjuague • Reactivo de elución • Reactivo de unión • Reactivo de proteínasa K 	1 de cada por cartucho 1,7 ml por cartucho 0,5 ml por cartucho 1,5 ml por cartucho 1,5 ml por cartucho 0,48 ml por cartucho
Pipetas de transferencia de 1 ml, desechables	10 por kit
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> • Archivo de definición del ensayo (ADF) • Instrucciones para importar los ADF en el software GeneXpert e Infinity • Instrucciones de uso (prospecto) 	

Nota Las fichas de datos de seguridad están disponibles en la pestaña **ASISTENCIA (SUPPORT)** en www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com.

Nota La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

7 Conservación y manipulación

- Conserve los cartuchos de la prueba Xpert® HBV VL a una temperatura entre 2 C y 35 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- Deje que los cartuchos alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos si se han almacenado en frío.

- No utilice cartuchos cuya fecha de caducidad haya vencido.
- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- No utilice cartuchos que presenten fugas.

8 Materiales requeridos pero no suministrados

- Sistema GeneXpert Dx® o sistema GeneXpert® Infinity (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software GeneXpert patentado versión 4.7b o posterior (sistemas GeneXpert Dx) o Xpertise 6.4b o posterior (Infinity-80/Infinity-48s), lector de códigos de barras y manual del operador del sistema GeneXpert adecuado.
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Lejía o hipoclorito sódico
- Etanol desnaturalizado

9 Declaraciones de atención y precaución

9.1 General

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como agentes capaces de transmitir agentes infecciosos. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)⁵ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).⁶
- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, se recomienda seguir las buenas prácticas de laboratorio, lo que incluye el cambio de guantes entre las manipulaciones de muestras.
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- No sustituya los reactivos de la prueba Xpert HBV VL por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de la prueba Xpert HBV VL hasta que esté preparado para añadir la muestra.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del empaquetado.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- No cubra la etiqueta del código de barras del cartucho.
- Utilice una pipeta de transferencia o una pipeta de precisión para agregar la muestra al cartucho. No vierta la muestra directamente del dispositivo de recogida al cartucho.
- Cada cartucho de un solo uso de la prueba Xpert HBV VL se utiliza para procesar una sola prueba. No vuelva a utilizar los cartuchos.
- Cada pipeta desechable de un solo uso se utiliza para transferir una sola muestra. No vuelva a utilizar las pipetas desechables usadas.
- Use guantes y bata de laboratorio limpios. Cámbiese los guantes cada vez que procese muestras diferentes.
- En caso de que la zona o el equipo de trabajo resulten contaminados con muestras o controles, limpie minuciosamente la zona contaminada con una solución recién preparada de hipoclorito sódico al 0,5 % (o una dilución 1:10 de lejía de uso doméstico). A continuación, limpie la superficie con un paño con etanol al 70 %. Deje secar por completo las superficies de trabajo antes de seguir.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos, y requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar características propias de los residuos químicos peligrosos, que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) relativas a la manipulación y eliminación de desechos médicos.⁷

10 Peligros químicos^{8,9}

Reactivo de lisis (tiocianato de guanidinio)

- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
 - Nocivo en caso de ingestión
 - Provoca irritación cutánea leve
 - Provoca irritación ocular
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
 - **Prevención**
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - **Respuesta**
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.
 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.

11 Recogida, transporte y conservación de muestras

La sangre completa debe recogerse en tubos con K₂-EDTA, PPT-EDTA o de recogida de suero, y centrifugarse para separar el plasma/suero de los hematíes según las instrucciones del fabricante.

- Se requiere un mínimo de 0,6 ml de plasma o suero para realizar la prueba Xpert HBV VL. Si está utilizando la pipeta de transferencia incluida en el kit, llénela hasta la cuarta marca (1,0 ml) con plasma o suero. De modo alternativo, si se usa una pipeta de precisión, se requiere 0,6 ml de plasma o suero. Consulte las instrucciones en Apartado 12.2, Opción 1 y Opción 2, respectivamente.
- La sangre completa puede mantenerse a una temperatura entre 2 °C y 35 °C durante 24 horas como máximo, o entre 2 °C y 8 °C durante 3 días como máximo, antes de preparar el plasma o el suero. La centrifugación debe llevarse a cabo según las instrucciones del fabricante.
- Después de la centrifugación y la separación, el plasma y el suero pueden mantenerse a una temperatura de 2 °C a 35 °C durante 24 horas como máximo, o de 2 °C a 8 °C durante 7 días como máximo, antes de la prueba.
- Las muestras de plasma y suero son estables congeladas (-80 a -20 °C) durante seis semanas.
- Las muestras de plasma y suero son estables durante tres ciclos de congelación y descongelación como máximo.
- Las muestras de plasma y suero deben descongelarse y equilibrarse a la temperatura ambiente antes de transferirlas al cartucho.
- El transporte de muestras de sangre completa, plasma o suero debe cumplir la normativa local estatal, regional y nacional vigente para el transporte de agentes etiológicos.

12 Procedimiento

12.1 Preparación de la muestra

Nota Comience el ensayo en las 4 horas siguientes a añadir la muestra al cartucho.

1. Después del centrifugado de las muestras de sangre completa, el plasma se puede pipetear directamente en el cartucho. Es esencial utilizar un volumen suficiente para poder obtener resultados válidos en la prueba (consulte las instrucciones en Apartado 12.2. Preparación del cartucho).
2. Si utiliza muestras congeladas, déjelas a temperatura ambiente entre 20 °C y 35 °C hasta que se descongelen completamente y se equilibren con la temperatura ambiente antes de su uso.
3. Las muestras de plasma y suero conservadas a una temperatura entre 2 °C y 8 °C deben sacarse del refrigerador y equilibrarse a la temperatura ambiente antes de utilizarse.

4. Las muestras de plasma conservadas a una temperatura de 2-8 °C o congeladas y descongeladas deben agitarse en un mezclador vórtex durante 10 segundos antes de utilizarse. Si la muestra está turbia, aclárela mediante un centrifugado rápido.

12.2 Preparación del cartucho

1. Lleve guantes de protección desechables.
2. Deje que los cartuchos alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos si se han almacenado en frío.
3. Inspeccione el cartucho para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.
4. Etiquete el cartucho con la identificación de la muestra.
5. Abra la tapa del cartucho.
6. Añada la muestra al cartucho.
 - **Opción 1:** Si se usa la pipeta de transferencia incluida en el kit (consulte la Figura 1), llene la pipeta hasta la cuarta marca (1,0 ml), o ligeramente por encima, con plasma o suero del tubo de recogida.. Vacíe el contenido de la pipeta en la cámara de muestras del cartucho (consulte la Figura 2).
 - **Opción 2:** Si está utilizando una pipeta de precisión, transfiera 0,6 ml de plasma o suero del tubo de recogida a la cámara de la muestra del cartucho (consulte la Figura 2).

Nota No retire la fina lámina de plástico que cubre el anillo interior de 13 orificios del cartucho.

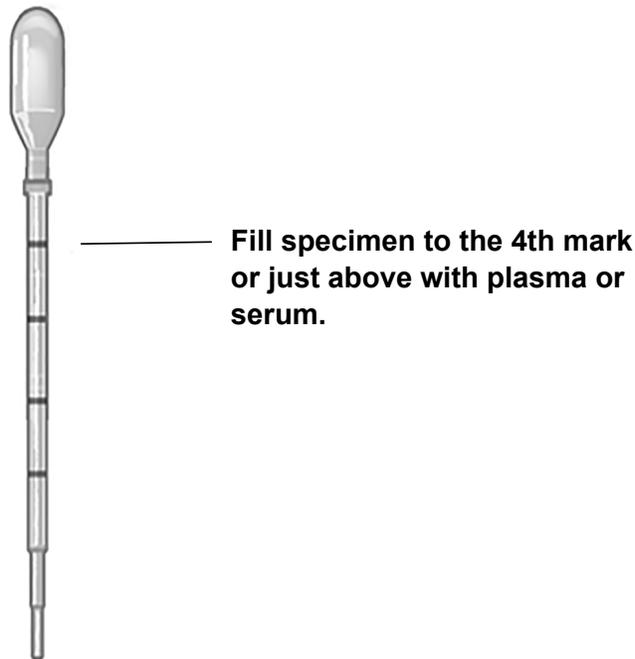


Figura 1. Pipeta de transferencia de la prueba Xpert HBV VL

7. Cierre la tapa del cartucho. Asegúrese de que la tapa encaje firmemente en su sitio.



Figura 2. Cartucho de la prueba Xpert HBV VL (vista superior)

12.3 Inicio de la prueba

Importante

Antes de iniciar la prueba, asegúrese de que se haya importado al software el archivo de definición del ensayo de la prueba Xpert HBV VL.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para ver instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Dx)* o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity)*, según el instrumento que se esté utilizando.

Nota

Los pasos que debe seguir pueden variar si el administrador del sistema ha cambiado el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

1. Encienda el sistema GeneXpert:

- Si está utilizando el instrumento GeneXpert Dx, encienda primero el instrumento GeneXpert Dx y, a continuación, encienda el ordenador. El software GeneXpert Dx se iniciará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.

o

- Si está utilizando el instrumento GeneXpert Infinity, ponga en marcha el instrumento. El software GeneXpert se ejecutará automáticamente o podría ser necesario hacer doble clic en el icono de acceso directo del software Xpertise en el escritorio de Windows®.

2. Inicie sesión en el software del sistema GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.

3. En la ventana del sistema GeneXpert, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx), o en **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order Test)** (Infinity). Se abre la ventana **Crear prueba (Create Test)**.

4. Escanee la Id. paciente (Patient ID) (opcional). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se muestra en el lado izquierdo de la ventana Ver resultados (View Results) y está asociada a los resultados de la prueba.

5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se muestra en el lado izquierdo de la ventana Ver resultados (View Results) y está asociada a los resultados de la prueba.

6. Escanee el código de barras del cartucho de la prueba Xpert HBV VL. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Id. del lote del reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si el código de barras del cartucho del Xpert HBV VL no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (Infinity). Escriba su contraseña en el cuadro de diálogo que aparece.

8. En el sistema GeneXpert Infinity, coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se cargará automáticamente, se realizará la prueba y el cartucho usado se colocará en el recipiente de residuos.

o

En el instrumento GeneXpert Dx:

- Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
- Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
- Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retirar el cartucho.
- Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados, de acuerdo con las prácticas habituales del centro.

13 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones más detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*, según el instrumento utilizado.

- Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** para ver los resultados.
- Una vez finalizada la prueba, haga clic en el botón **Informe (Report)** de la ventana Ver resultados (View Results) para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

14 Control de calidad

Cada prueba incluye un control de adecuación del volumen de la muestra (SVA), un estándar cuantitativo interno alto y bajo (IQS-H e IQS-L), parámetros específicos de lotes (LSP) y un control de comprobación de la sonda (PCC).

- Adecuación del volumen de la muestra (Sample Volume Adequacy, SVA):** Asegura que se haya añadido correctamente la muestra al cartucho. El SVA verifica que se ha añadido el volumen correcto de muestra en la cámara de la muestra. El SVA se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados. Si no se supera la prueba SVA, se mostrará el **error 2096** si no se ha agregado ninguna muestra al cartucho o **ERROR 2097** si se agregó una cantidad insuficiente de muestra al cartucho. El sistema no dejará que el usuario reanude la prueba.
- Patrón cuantitativo interno alto y bajo (IQS-H e IQS-L):** IQS-H e IQS-L son dos plásmidos linealizados con una secuencia no relacionada con el VHB que se incluyen en cada cartucho y pasan por todo el proceso de prueba. Se utilizan para calcular la concentración de ADN del VHB en la muestra. Además, el IQS-H y el IQS-L detectan la inhibición asociada a la muestra de la reacción RT-PCR, por lo que actúan como controles del procesamiento de la muestra. El IQS-H y el IQS-L se consideran superados si cumplen los criterios de aceptación validados.
- Parámetros específicos del lote (LSP) para la cuantificación:** Cada lote del kit tiene LSP integrados que se generan a partir de un panel de calibración del VHB contrastable con el 4.º estándar internacional de la OMS para el VHB (código NIBSC 10/266)⁴ y con el IQS-H y el IQS-L. Los LSP son exclusivos de cada lote del kit y se utilizan para asegurar una cuantificación correcta.
- Control de comprobación de la sonda (PCC):** Antes de iniciar la reacción PCR, el sistema GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas para monitorizar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. El PCC se considera superado si las señales de fluorescencia cumplen los criterios de aceptación validados.
- Controles externos:** Siguiendo las buenas prácticas de laboratorio, los controles externos, no suministrados en el kit, deben utilizarse de acuerdo con los requisitos de las organizaciones acreditadoras locales y regionales, según sea pertinente.

15 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpreta automáticamente los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ventana Ver resultados (View Results) (vea de la Figura 3 a la Figura 8). Los resultados posibles se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados e interpretación de la prueba Xpert HBV VL

Resultado	Interpretación
VHB DETECTADO UI/ml (log X.XX) (HBV DETECTED IU/mL [log X.XX]) Consulte la Figura 3.	El ADN del VHB se detecta a XX UI/ml (log X.XX). <ul style="list-style-type: none"> El ADN del VHB tiene un título dentro del intervalo cuantitativo del ensayo (10-1.00E09 UI/ml). IQS-H e IQS- L: SUPERADO (PASS). Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
VHB DETECTADO >1,00E09 UI/ml (HBV DETECTED >1.00E09 IU/mL) Consulte la Figura 4.	Se ha detectado ADN del VHB por encima del intervalo cuantitativo de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS- L: SUPERADO (PASS). Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
VHB DETECTADO <10 UI/ml (HBV DETECTED <10 IU/mL) Consulte la Figura 5.	Se ha detectado ADN del VHB por debajo del intervalo cuantitativo de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS- L: SUPERADO (PASS). Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
VHB NO DETECTADO (HBV NOT DETECTED) Consulte la Figura 6.	NO se ha detectado ADN del VHB. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H e IQS- L: SUPERADO (PASS). Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID) Consulte la Figura 7.	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN del VHB. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 16.2. Procedimiento de repetición de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> IQS-H y/o IQS-L: NO SUPERADO (FAIL); los umbrales de ciclo (Ct) no están dentro del intervalo válido. Comprobación de la sonda – SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR Consulte la Figura 8.	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN del VHB. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 16.2. Procedimiento de repetición de la prueba. <ul style="list-style-type: none"> Comprobación de la sonda – NO SUPERADO (FAIL)*; todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no han sido correctos. <p>* Si se superó la comprobación de la sonda, el error se debe a que el límite máximo de presión excedió el intervalo válido o a que falló un componente del sistema.</p>
SIN RESULTADO (NO RESULT)	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN del VHB. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 16.2. Procedimiento de repetición de la prueba. SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.

Nota

Las capturas de pantalla de la prueba son solo para ejemplo. El número de versión puede variar respecto a las capturas de pantalla mostradas en estas instrucciones de uso.

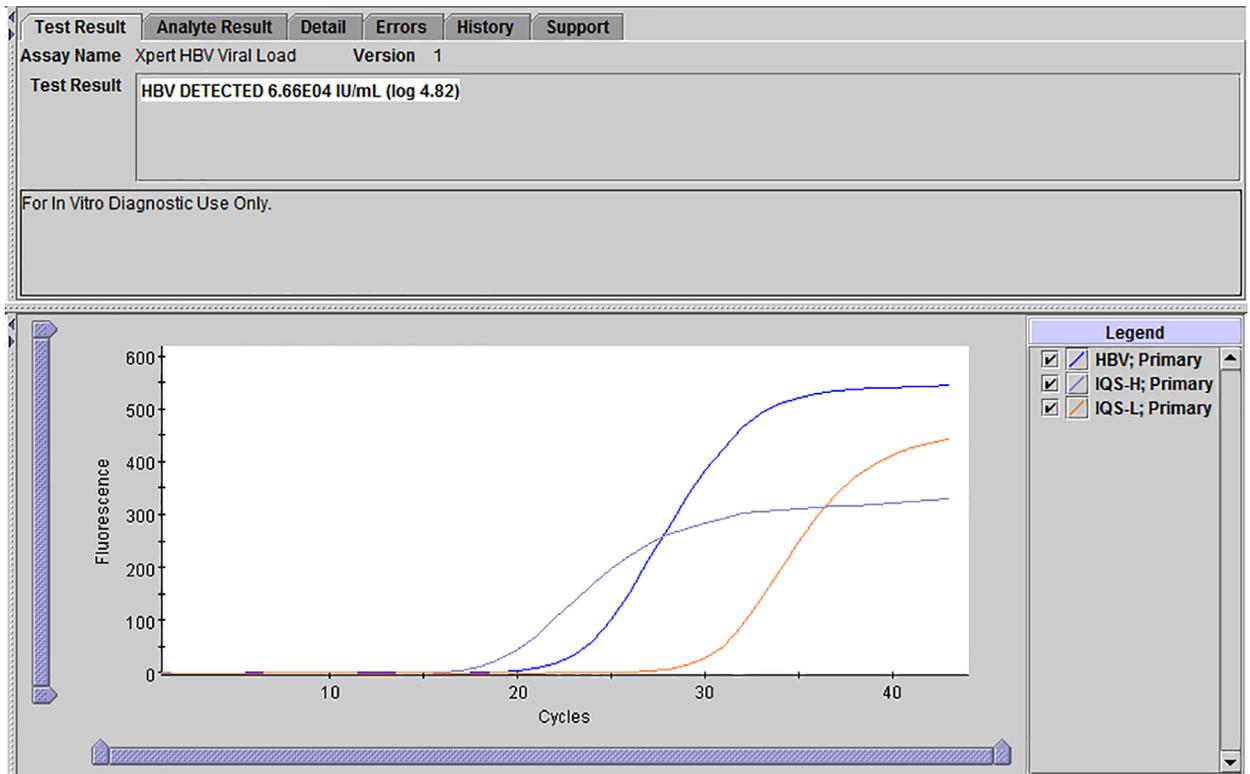


Figura 3. Resultado: VHB detectado y cuantificado

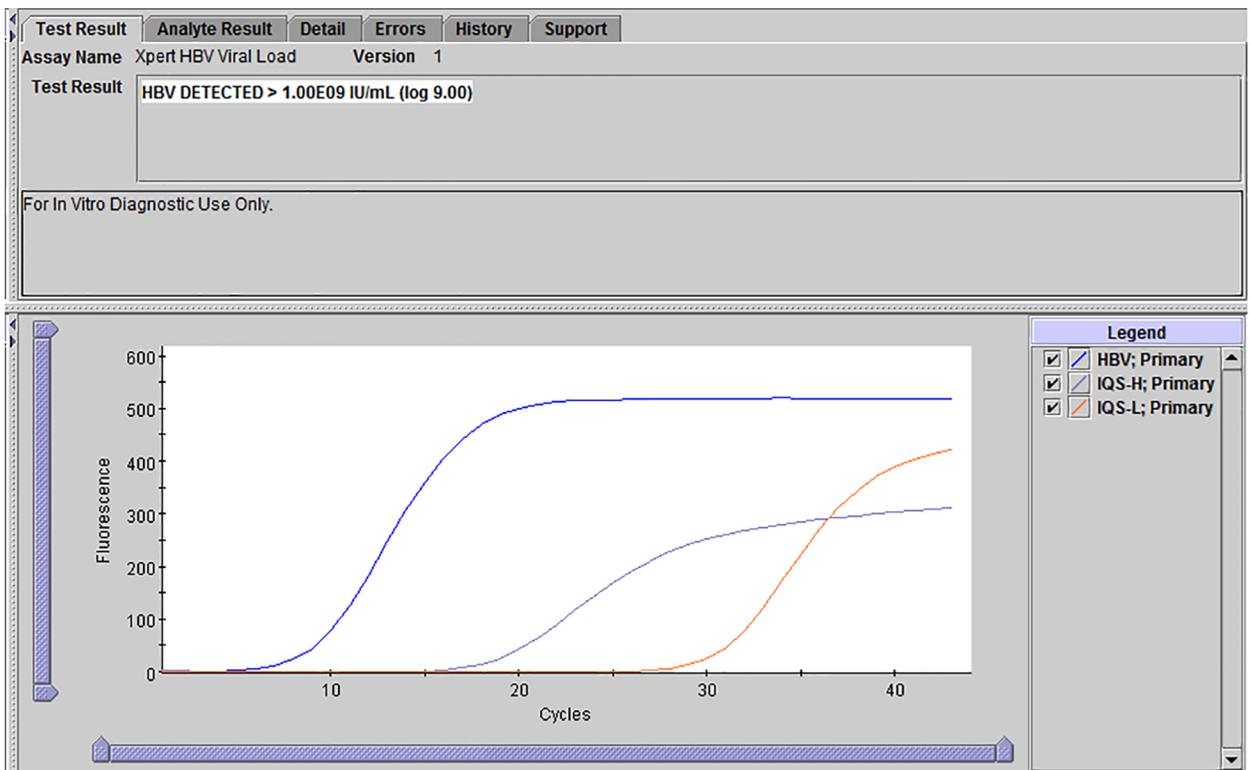


Figura 4. Resultado: VHB detectado, pero con el título por encima del intervalo cuantitativo de la prueba

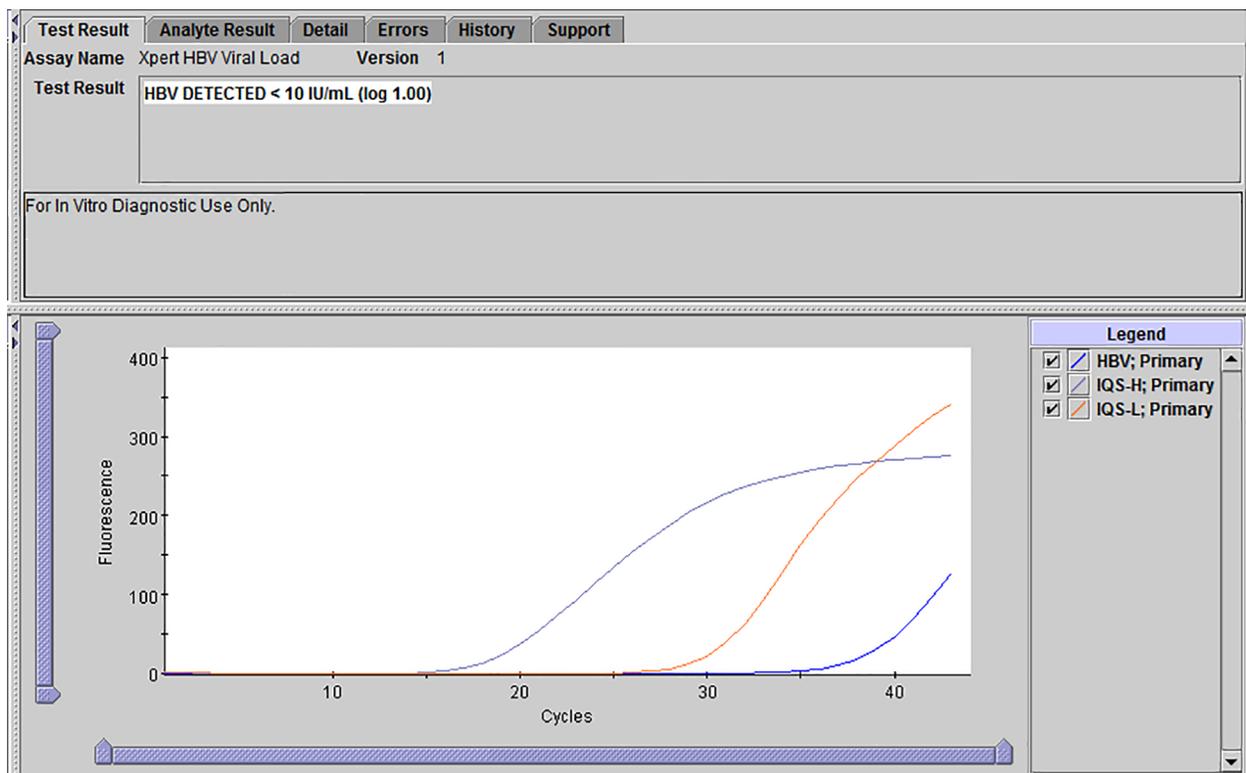


Figura 5. Resultado: VHB detectado, pero con el título por debajo del intervalo cuantitativo de la prueba

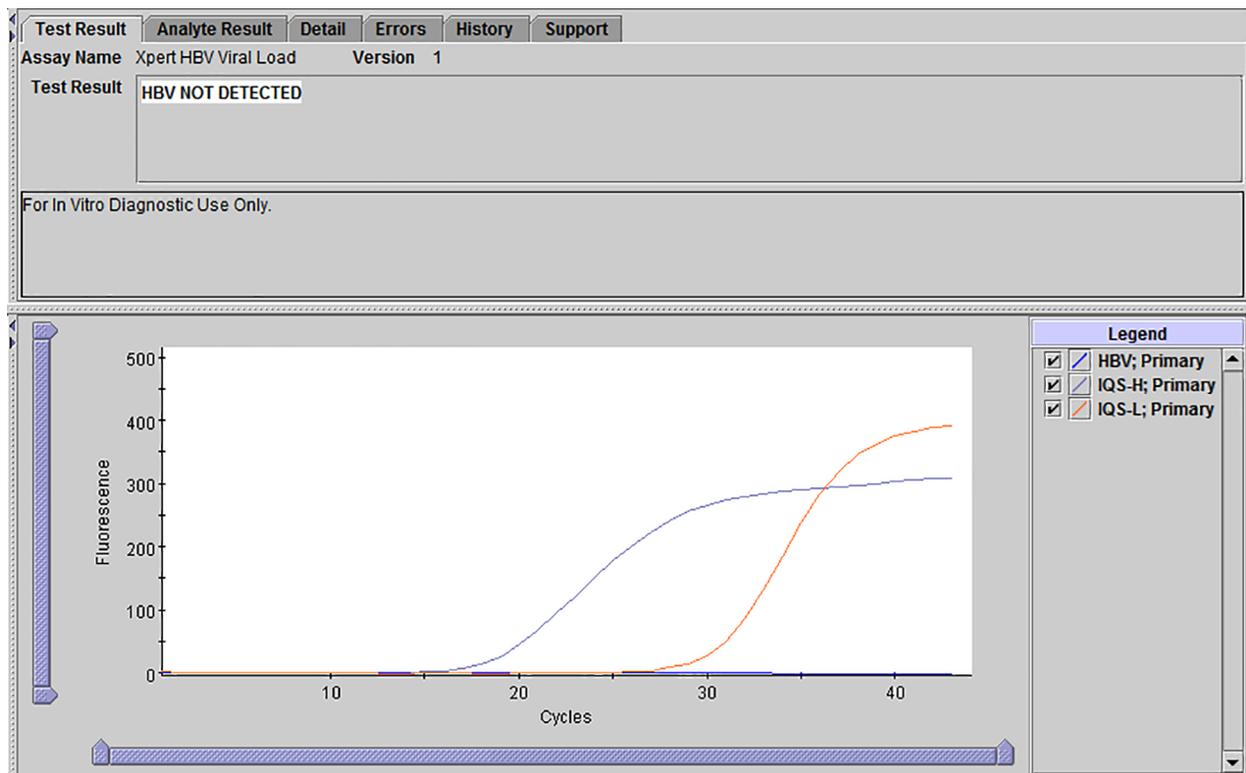


Figura 6. Resultado: VHB no detectado (HBV Not Detected)

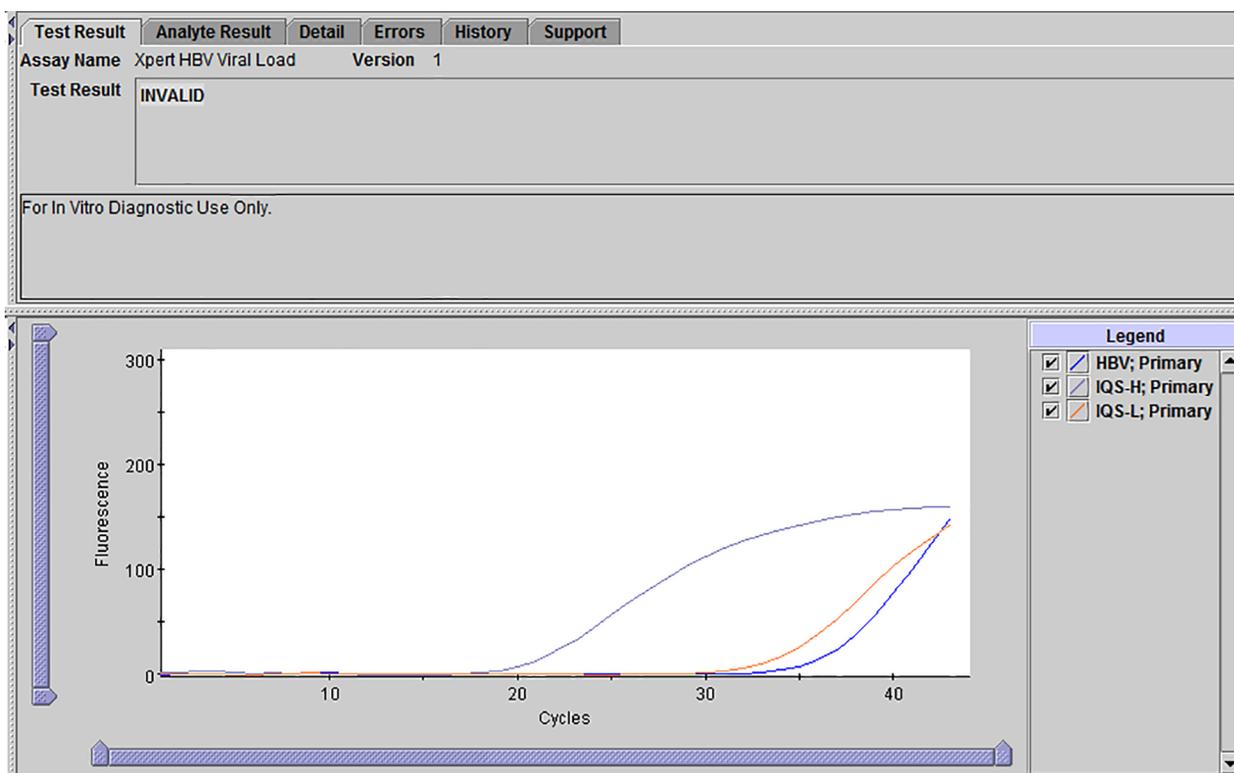


Figura 7. Resultado: Resultado no válido

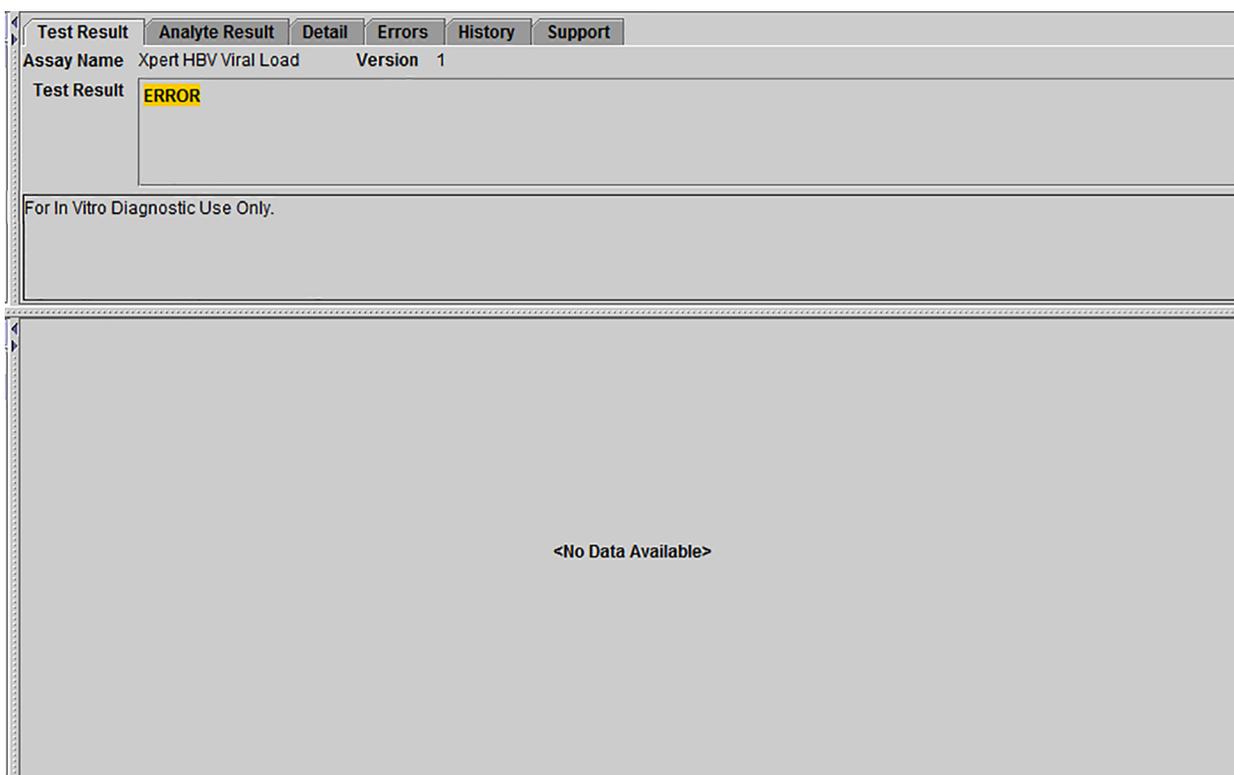


Figura 8. Resultado: Error

16 Repetición de pruebas

16.1 Razones para repetir la prueba

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del Apartado 16.2. Procedimiento de repetición de la prueba.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica una o más de las siguientes causas:
 - Los valores de Ct del IQS-H o el IQS-L no están dentro del intervalo válido.
 - La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.
- Un resultado de **ERROR** indica que el ensayo se canceló. Las causas posibles incluyen: se añadió un volumen insuficiente de muestra, el tubo de reacción no se llenó correctamente, se detectó un problema de integridad en la sonda del reactivo o se excedió el límite máximo de presión.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba en curso o se produjo un corte del suministro eléctrico.

16.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Si el resultado de una prueba es **NO VÁLIDO (INVALID)**, **ERROR** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)**, utilice un nuevo cartucho para repetir la prueba en la muestra afectada (no vuelva a utilizar el mismo cartucho).

1. Saque un cartucho nuevo del kit.
2. Siga los procedimientos indicados en Apartado 12. Procedimiento, incluidos Apartado 12.2. Preparación del cartucho y Apartado 12.3. Inicio de la prueba.

17 Limitaciones

- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, se recomienda seguir las buenas prácticas de laboratorio y cambiarse los guantes entre manipulaciones de muestras.
- Las mutaciones infrecuentes que tienen lugar en el interior de la región diana de la prueba Xpert HBV VL pueden afectar a la unión de los cebadores o las sondas, lo que genera una subestimación o impide detectar el virus.
- Esta prueba se ha validado solamente para su uso con suero y plasma con EDTA. Analizar otros tipos de muestras puede generar resultados inexactos.
- Un resultado negativo de la prueba no excluye la infección por VHB. Por lo tanto, la prueba Xpert HBV VL no debe utilizarse como prueba de diagnóstico para confirmar la presencia de infección por el VHB.

18 Eficacia diagnóstica

18.1 Límite de detección

El límite de detección (LD) de la prueba Xpert HBV VL se determinó para el genotipo A del VHB mediante el análisis de diluciones seriadas del 4° estándar internacional de la OMS para el ADN del VHB (código NIBSC 10/266)⁴ diluido en plasma con EDTA y suero negativo para el VHB. Se analizaron paneles de seis niveles de concentración y uno negativo utilizando cuatro o tres lotes de reactivos para paneles de plasma con EDTA y suero, respectivamente. Cada miembro del panel se analizó durante tres días con 24 réplicas por lote de reactivo. En total, se analizaron 96 réplicas por miembro del panel de plasma y 72 réplicas por miembro del panel de suero.

Los resultados para el plasma con EDTA y suero se muestran en la Tabla 2. El estudio demostró que el ensayo Xpert HBV VL detectó ADN del VHB para el estándar internacional de la OMS a una concentración de 3,20 UI/ml en plasma con EDTA y a una concentración de 5,99 UI/ml en suero con una tasa de positividad del 95 %, según se determinó mediante regresión PROBIT.

Tabla 2. Límite de detección del ensayo Xpert HBV VL utilizando el 4º estándar internacional de la OMS para el VHB

Genotipo	Matriz	Concentración nominal de VHB (IU/ml)	Número de réplicas válidas	Número de positivos	Tasa de positividad (%)	LD con probabilidad del 95 % calculado mediante PROBIT (intervalo de confianza del 95 %)
A	Plasma	10	95	95	100	3,20 UI/ml (2,79 – 3,60 UI/ml)
		5	96	94	98	
		2,5	96	82	85	
		1.25	96	62	65	
		0.625	96	41	43	
		0	96	0	0	
A	Suero	10	72	70	97	5,99 UI/ml (5,13 – 6,86 UI/ml)
		5	72	63	88	
		2,5	72	58	81	
		1.25	72	37	51	
		0.625	71	15	21	
		0	72	0	0	

El límite de detección para los genotipos B a H del VHB se determinó analizando paneles de seis o siete miembros preparados mediante la adición de muestras positivas al VHB que representan cada genotipo (genotipos B a G del Panel de Referencia Internacional de la OMS, código PEI: 5086/08 y una muestra clínica del genotipo H) en plasma con EDTA negativo para VHB. Cada miembro del panel se analizó durante tres días utilizando tres lotes de reactivos para un total de 24 réplicas por miembro. Los resultados se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Límite de detección para los genotipos B a H del VHB en plasma con EDTA

Genotipo	LD del 95 % calculado mediante PROBIT (UI/ml)	Intervalo de confianza del 95 % (UI/ml)
B	1,34	0,98 – 1,69
C	1,63	1,23 – 2,03
D	3,96	3,01 – 4,92
E	3,77	2,76 – 4,78
F	2,39	1,82 – 2,96
G	1,21	0,95 – 1,47
H	3,84	2,91 – 4,77

El límite de detección para los genotipos B a H del VHB se verificó en suero de acuerdo con la pauta EP17-A2 del CLSI¹⁰ utilizando 24 réplicas. Se analizó una concentración más alta si no se alcanzaba una tasa de positividad > 85 %. Consulte los resultados en la Tabla 4.

Tabla 4. Verificación del LD para los genotipos B a H en suero

Genotipo	Concentración nominal de VHB (IU/ml)	Tasa de positividad (%)
B	1,34	88
C	3,25	96
D	3,96	96
E	3,77	96
F	2,39	92
G	1,21	88
H	3,84	100

La eficacia del ensayo Xpert HBV VL también se evaluó con una mutación prenúcleo analizando una muestra clínica secuenciada del VHB que incluía las dos mutaciones prenúcleo (C1858T y G1896A) y las dos mutaciones promotoras del núcleo basales (A1762T y G1764A), diluidas a una concentración de 10 UI/ml en plasma con EDTA y suero con un lote de reactivo. Se logró una tasa de positividad del 100 % para cada una de las 24 réplicas analizadas en cada matriz.

18.2 Límite de cuantificación inferior (LCI)

El límite de cuantificación inferior (LCI) se define como la concentración mínima de ADN del VHB que puede cuantificarse con un grado de precisión y certeza aceptable, y puede determinarse usando el error analítico total (EAT) y un enfoque basado en la diferencia entre las dos mediciones. El LCI se evaluó con cuatro muestras independientes, que representan los genotipos A a D del VHB, en plasma con EDTA cerca del límite de detección de la prueba. Cada muestra se analizó utilizando cuatro lotes de reactivos con 8-24 réplicas por lote. El EAT se estimó con el modelo Westgard de acuerdo con la pauta EP17-A2 del CLSI¹⁰ con el criterio, $[(\text{Sesgo absoluto}) + 2 \text{ DE} \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$. La diferencia entre dos enfoques de mediciones se evaluó con el criterio, $[(2 \times \text{SQRT}(2) \times \text{DE}) \leq 1 \log_{10} \text{ UI/ml}]$.

Los análisis del LCI de cada muestra se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Determinación del LCI de la prueba Xpert HBV VL

Genotipo del VHB	Lote	N	Concentración de VHB (\log_{10} UI/ml)		Sesgo	DE total	Error analítico total ^a	Enfoque de dos mediciones ^b
			Esperado	Observado				
A	1	24	1,00	1,02	0,02	0,20	0,42	0,57
	2	24	1,00	1,05	0,05	0,16	0,37	0,45
	3	24	1,00	0,94	-0,06	0,20	0,46	0,57
	4	23	1,00	1,02	0,02	0,14	0,30	0,40
B	1	16	1,00	1,18	0,18	0,11	0,39	0,30
	2	24	1,00	1,18	0,18	0,17	0,53	0,49
	3	8	1,00	1,17	0,17	0,19	0,54	0,53
	4	8	1,00	1,25	0,25	0,19	0,64	0,55
C	1	16	1,00	1,10	0,10	0,17	0,44	0,47
	2	24	1,00	1,11	0,11	0,22	0,55	0,61
	3	8	1,00	0,83	-0,17	0,24	0,65	0,68
	4	8	1,00	1,01	0,01	0,18	0,36	0,50
D	1	16	1,00	0,81	-0,19	0,28	0,74	0,78

Genotipo del VHB	Lote	N	Concentración de VHB (log ₁₀ UI/ml)		Sesgo	DE total	Error analítico total ^a	Enfoque de dos mediciones ^b
			Esperado	Observado				
	2	24	1,00	0,79	-0,21	0,27	0,75	0,76
	3	8	1,00	0,83	-0,14	0,14	0,42	0,39
	4	8	1,00	0,91	-0,09	0,11	0,31	0,32

^a EAT calculado de acuerdo con el modelo Westgard en el que $[EAT = (|\text{Sesgo}| + (2 \times DE) \leq 1 \log_{10} \text{UI/ml}]$, asegurando que haya una probabilidad del 95 % de que la medición sea menos de 1 log₁₀ UI/ml respecto al valor verdadero.

^b Enfoque de dos mediciones en el que $[2 \times (\text{SQRT}(2) \times DE) \leq 1 \log_{10} \text{UI/ml}]$ indica que una diferencia de menos de 1 log₁₀ UI/ml se puede explicar mediante un error de medición aleatorio.

Los resultados demuestran que la prueba Xpert HBV-VL puede cuantificar 10 UI/ml de ADN del VHB con una certeza y precisión aceptables.

18.3 Precisión y reproducibilidad

La precisión/reproducibilidad de la prueba Xpert HBV VL se evaluó en sangre completa con EDTA K₂ utilizando un análisis de varianza (ANOVA) para estimar la varianza total.

El estudio fue un estudio multicéntrico (3 centros; 2 externos y 1 interno) con enmascaramiento para estimar los componentes principales de la varianza de la prueba Xpert HBV VL utilizando un grupo de ocho miembros que consta de ocho miembros positivos para el VHB. Los miembros positivos para el VHB se prepararon diluyendo un plásmido del VHB bien caracterizado o una muestra clínica positiva para el VHB en plasma humano con EDTA. Dos operadores, uno con experiencia previa con la PCR y otro sin ella, en cada uno de los tres centros del estudio, analizaron un grupo por duplicado dos veces al día (equivalente a ocho réplicas al día) a lo largo de seis días de análisis para un total de 144 réplicas por miembro del panel. Se utilizaron tres lotes de la prueba Xpert HBV VL, cada uno de los cuales representó dos días de análisis. Se evaluaron la precisión y la reproducibilidad de acuerdo con la pauta EP05-A3 del CLSI¹¹ y la pauta EP15-A3 del CLSI.¹²

La reproducibilidad y la precisión de la prueba Xpert HBV VL se evaluaron mediante análisis ANOVA con términos para el centro/instrumento, lote, día, operador/ciclo e intraciclo. Se calcularon la desviación estándar y el porcentaje de variabilidad debido a cada componente de las concentraciones transformadas del VHB mediante log₁₀, tal como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Precisión y reproducibilidad de la prueba Xpert HBV VL

Concentración de ADN del VHB (log ₁₀ UI/ml)			Contribución a la DE de la varianza total (CV%)										Precisión total	
			Centro/instrumento		Lote		Día		Operador/ciclo		Intraciclos			
Esperado	Observado	N	DE	(%) ^a	DE	(%) ^a	DE	(%) ^a	DE	(%) ^a	DE	(%) ^a	DE	CV (%) ^b
9,00	9,13 ^c	144	<0,01	<0,01	0,04	23,4	<0,01	<0,01	0,02	4,9	0,07	71,7	0,08	19,7
8,00	8,17	144	<0,01	<0,01	0,04	26,7	<0,01	<0,01	0,02	5,4	0,06	67,9	0,07	16,9
7,00	7,15	144	0,01	2,2	0,03	12,2	0,01	3,9	<0,01	<0,01	0,07	81,8	0,07	16,8
6,00	6,18	144	<0,01	<0,01	0,04	32,1	0,01	4,3	<0,01	<0,01	0,05	63,6	0,06	14,7
4,70	4,87	144	0,02	4,5	0,03	15,3	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,07	80,2	0,07	17,1
3,00	3,19	144	<0,01	<0,01	0,03	28,8	<0,01	<0,01	0,02	11,5	0,04	59,7	0,06	13,2
2,00	2,17	144	<0,01	<0,01	0,02	8,6	<0,01	<0,01	0,01	1,0	0,08	90,5	0,08	19,0
1,00	1,13	144	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,05	11,0	0,01	0,3	0,15	88,8	0,16	37,7

^a (%) es la contribución del componente de la varianza a la varianza global

^b «CV» es el CV de la distribución logarítmica normal, obtenido mediante la

$$\text{Lognormal CV(\%)} = 100 * \sqrt{10^{(\ln(10) * \sigma_{\log_{10} \text{data}}^2)} - 1}$$

fórmula:

^c El valor observado está por encima del intervalo cuantitativo de la prueba Xpert HBV VL.

18.4 Intervalo lineal

Genotipo A

El intervalo lineal de la prueba Xpert HBV VL se determinó mediante el análisis de un panel de ocho miembros que cubría un intervalo de concentración de VHB de 1,00 a 9,00 log₁₀ UI/ml. Los paneles se prepararon añadiendo una muestra clínica del genotipo A del VHB o un cultivo madre de ADN plasmídico del VHB de alto título en plasma con EDTA y suero negativo para el VHB. Cada miembro del panel se analizó en réplicas de ocho por lote de reactivo, excepto las diluciones más bajas que se analizaron en réplicas de dieciséis por lote de reactivo, con dos lotes de reactivos. Los resultados se presentan en la Figura 9 y en la Figura 10.

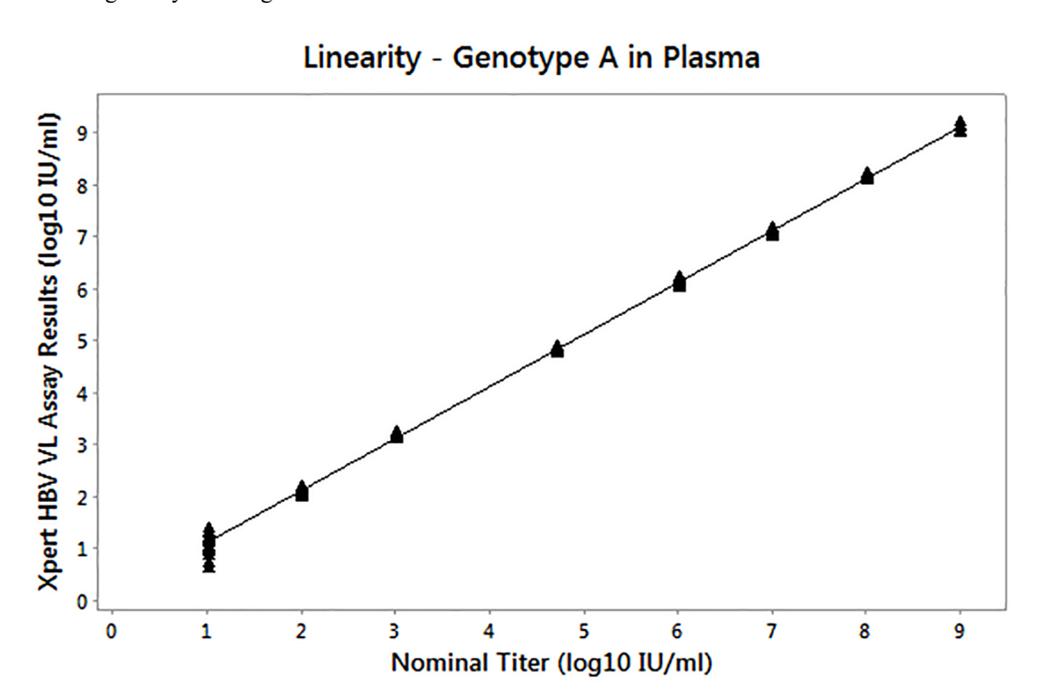


Figura 9. Linealidad de la prueba Xpert HBV VL en plasma con EDTA

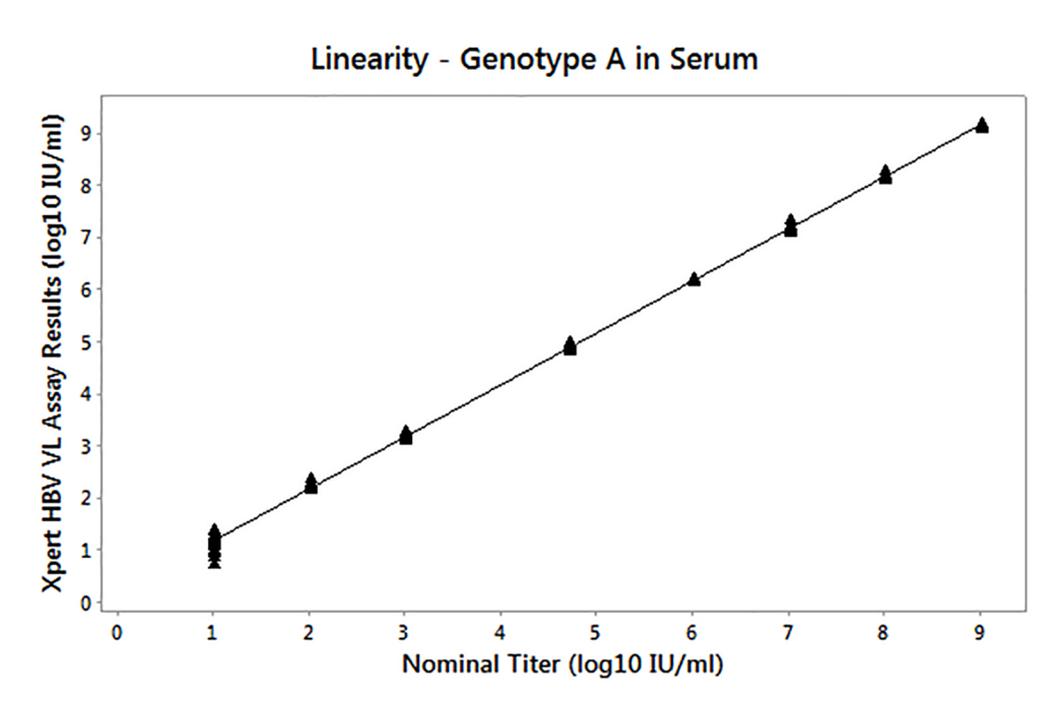


Figura 10. Linealidad de la prueba Xpert HBV VL en suero con EDTA

Genotipos B-H

Para confirmar la linealidad, se prepararon paneles de dilución que representan los genotipos B a H del VHB para cubrir un rango de medición lo más amplio posible, diluyendo una muestra clínica que representa cada genotipo en plasma con EDTA negativo para el VHB. Los miembros del panel se analizaron con el mismo número de réplicas que para el genotipo A del VHB utilizando un lote de reactivo.

La linealidad se demostró de acuerdo con la pauta EP06-A del CLSI¹³ para el genotipo A-H con un $R^2 > 0,99$. La prueba Xpert HBV VL es lineal en un rango de 1,00 - 9,00 log₁₀ UI/ml para el genotipo A y en todo el intervalo analizado para los genotipos B a H (consulte la Tabla 7).

Tabla 7. Linealidad de la prueba Xpert HBV VL por genotipo

Genotipo	Ecuación de la regresión lineal	R ²	Intervalo de títulos analizado (Log ₁₀ UI/ml)
A (plasma)	$y = 1,005x + 0,093$	0,999	1,00 – 9,00
A (suero)	$y = 1,000x + 0,167$	0,999	1,00 – 9,00
B	$y = 0,998x - 0,027$	0,995	1,00 – 6,83
C	$y = 0,998x - 0,119$	0,998	1,00 – 7,69
D	$y = 0,993x + 0,101$	0,998	1,00 – 7,41
E	$y = 1,010x - 0,149$	0,999	1,00 – 8,14
F	$y = 0,994x - 0,068$	0,999	1,00 – 7,96
G	$y = 0,990x + 0,538$	0,999	1,00 – 8,61
H	$y = 0,991x + 0,122$	0,999	1,00 – 6,35

18.5 Especificidad analítica (exclusividad)

La especificidad analítica de la prueba Xpert HBV VL se evaluó añadiendo microorganismos que podían causar una reacción cruzada a una concentración de 1×10^6 UFC/ml, en el caso de los microorganismos, o de 1×10^5 copias/ml o TCID₅₀/ml, en el caso de los virus, en plasma con EDTA negativo para el VHB y plasma con EDTA que contenía aproximadamente 30 UI/ml de material de referencia del VHB (4° estándar internacional primario de la OMS para VHB, NIBSC código: 10/266)⁴. Los microorganismos analizados se indican en la Tabla 8. Ninguno de los microorganismos analizados mostró reactividad cruzada ni interfirió con la cuantificación de la prueba Xpert HBV VL.

Tabla 8. Microorganismos de especificidad analítica

Virus		Bacterias	Levadura
Poliomavirus humano BK	Virus de inmunodeficiencia humana 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus	Virus de inmunodeficiencia humana 2	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Virus de Epstein-Barr	Virus del papiloma humano 16		
Virus de la hepatitis A	Virus del papiloma humano 18		
Virus de la hepatitis C	Virus linfotrópico humano de células T tipo 1		
Virus herpes simple tipo 1	Virus linfotrópico humano de células T tipo 2		
Virus herpes simple tipo 2	Virus de la varicela-zóster		
Virus herpes humano 6	Virus vacuna		
Virus herpes humano 8			

18.6 Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la sensibilidad de la prueba Xpert HBV VL a las interferencias producidas por niveles elevados de sustancias endógenas, por marcadores de enfermedades autoinmunitarias y por fármacos prescritos a pacientes infectados con el VHB. Se evaluaron los efectos inhibitorios tanto en presencia como en ausencia de aproximadamente 30 UI/ml de material de referencia de ADN del VHB (4° estándar internacional de la OMS, código NIBSC: 10/266).⁴

Se demostró que los niveles elevados de sustancias endógenas indicados en la Tabla 9 no interfieren en la cuantificación de la prueba Xpert HBV VL con el título \log_{10} medio de cada una de las muestras positivas al VHB que contienen sustancias potencialmente interferentes dentro de $\pm 0,10 \log_{10}$ UI/ml del control positivo. Se obtuvieron resultados negativos para todas las muestras sin diana del VHB, lo que demuestra que no hubo impacto en la especificidad del ensayo.

Sustancias endógenas

Tabla 9. Sustancias endógenas y concentración analizada

Sustancia	Concentración analizada
Albúmina	9 g/dl
Bilirrubina	20 mg/dl
Hemoglobina	500 mg/dl
ADN humano	0,4 mg/dl
Triglicéridos	3000 mg/dl

Fármacos

Se demostró que los componentes de fármacos que se presentan en la Tabla 10 no interfirieron en la cuantificación de la prueba Xpert HBL VL ni afectaron a la especificidad de este cuando se analizaron al triple de la concentración máxima del nivel de plasma ($C_{máx}$) en presencia y ausencia de ADN del VHB.

Tabla 10. Grupos de fármacos analizados

Grupo	Fármacos
1	Zidovudina, saquinavir, claritomicina, interferón-alfa-2b, ritonavir, ombitasvir, paritaprevir, dasabuvir, didanosina
2	Sulfato de abacavir, fosamprenavir, peginterferón-alfa-2a, ribavirin, entecavir, adefovir dipivoxil
3	Fumarato de tenofovir disoproxilo, lamivudina, sulfato de indinavir, ganciclovir, clorhidrato de valganciclovir, aciclovir, paroxetina, telbivudina
4	Estavudina, efavirenz, lopinavir, enfuvirtida, ciprofloxacino, fluoxetina
5	Nevirapina, nelfinavir, azitromicina, valaciclovir, sertralina, tenofovir, alafenamida

Marcadores de enfermedades autoinmunitarias

Pruebas con muestras de plasma con EDTA K₂ de cinco individuos de cada marcador de enfermedad autoinmunitaria; los de lupus eritematoso sistémico (LES), anticuerpos antinucleares (ANA) o factor reumatoide (FR) no mostraron interferencia con la eficacia de la prueba Xpert HBV VL. Las concentraciones medias log₁₀ de las muestras a las que se añadió ADN del VHB estaban en el intervalo de $\pm 0,10 \log_{10}$ UI/ml del control positivo. Se obtuvieron resultados negativos para todas las muestras sin diana del VHB, lo que demuestra que no hubo impacto en la especificidad del ensayo.

18.7 Equivalencia de matrices (plasma con EDTA K₂, PPT-EDTA y suero)

La equivalencia de matrices para la prueba Xpert HBV VL se llevó a cabo con 32 muestras clínicas positivas para VHB coincidentes y 23 muestras clínicas negativas para HBV coincidentes recogidas en tubos de recogida de plasma con EDTA K₂, plasma con PPT-EDTA y suero. A 23 muestras clínicas negativas para el VHB coincidentes se les añadió material positivo para el VHB, a partir de muestras clínicas que representan los genotipos B a G del VHB y un plásmido de ADN que expresa la secuencia diana del genotipo A del VHB, con títulos en todo el intervalo lineal.

La equivalencia de matrices del ensayo se demostró en las muestras analizadas como se muestra en la Figura 11 y en la Figura 12.

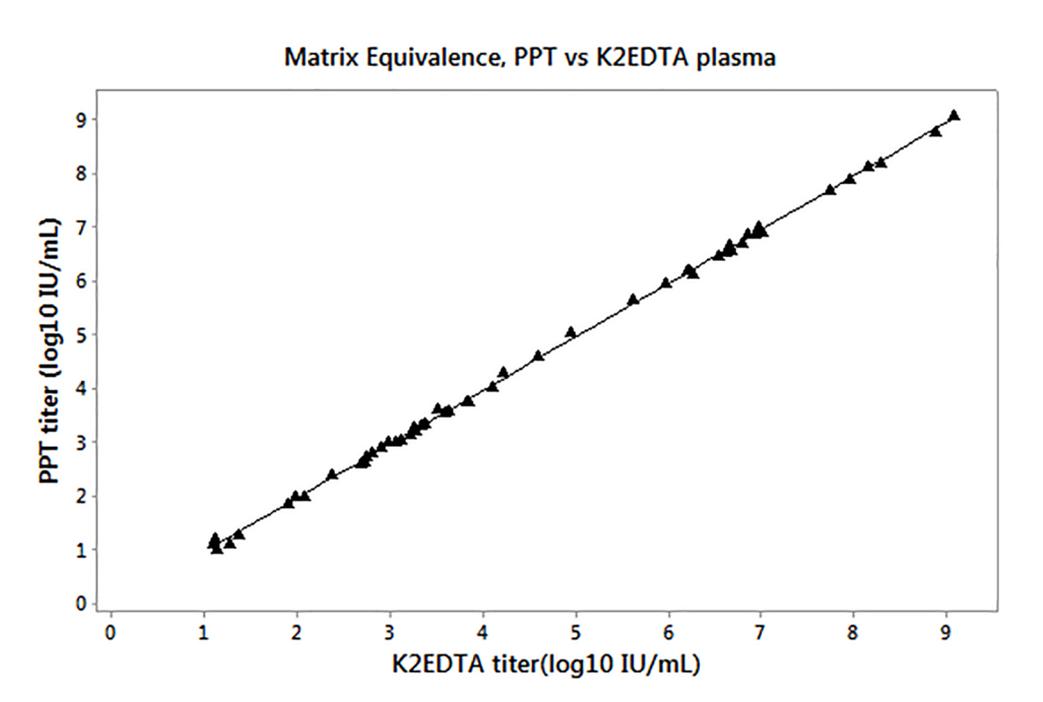


Figura 11. Gráfico de regresión lineal de plasma con PPT-EDTA frente a plasma con EDTA K₂

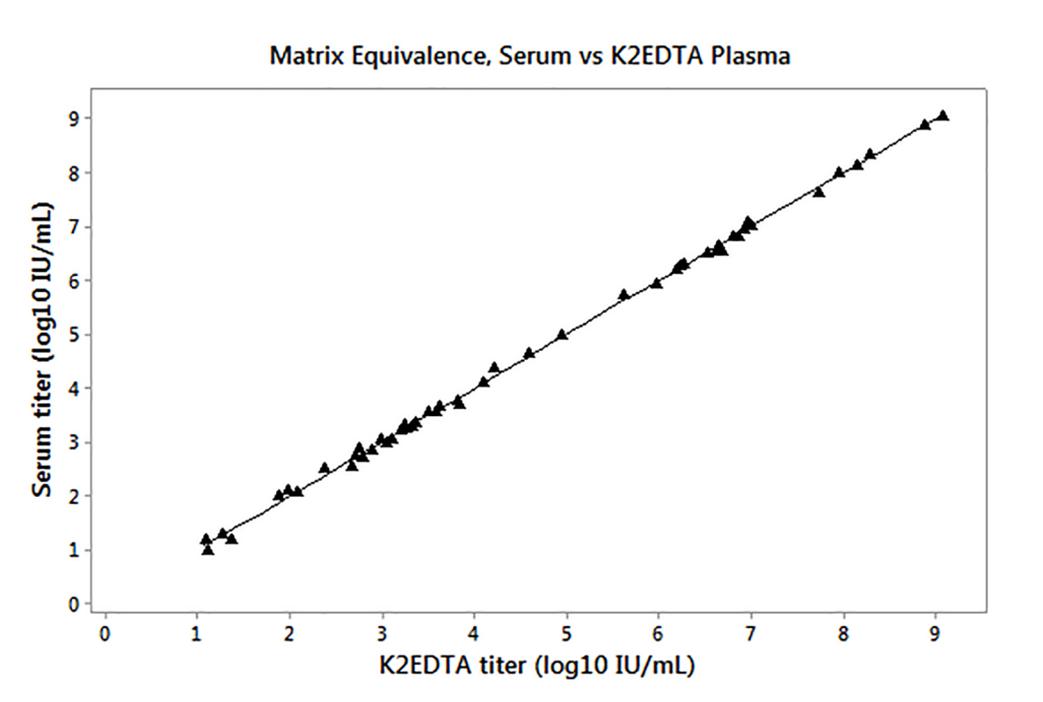


Figura 12. Gráfico de regresión lineal de suero frente a plasma con EDTA K₂

Los resultados muestran que la prueba Xpert HBV VL tiene un rendimiento equivalente en plasma con K₂-EDTA, plasma con PPT-EDTA y suero para muestras en el intervalo aproximado de 1,0 a 9,0 log₁₀ UI/ml.

18.8 Fallo del sistema completo

La tasa de fallos del sistema completo del ensayo HBV VL se ha determinado analizando 100 réplicas de plasma con EDTA añadidas con el 4.º estándar internacional de la OMS para el ADN de HBV (código NIBSC 10/266)⁴, una muestra de genotipo A. Las muestras añadidas se analizaron a una concentración objetivo de aproximadamente 3 x LCI (30 IU/ml).

Los resultados de este estudio determinaron que todas las réplicas eran válidas y positivas para el objetivo de HBV, lo que conlleva una tasa de fallo del sistema completo del 0,0 %

18.9 Contaminación por arrastre

Se analizó una muestra positiva para HBV de alto título ($>1 \times 10^7$ IU/ml); inmediatamente después, se analizó una muestra negativa para HBV en el mismo módulo del instrumento GeneXpert. El procedimiento se repitió veinte (20) veces en dos módulos. La tasa de arrastre de la prueba Xpert HBV VL fue del 0 %.

19 Eficacia clínica

19.1 Especificidad en donantes de sangre sanos normales

La especificidad de la prueba Xpert HBV VL se evaluó utilizando 99 muestras de suero y 100 muestras de plasma con EDTA procedentes de donantes de sangre negativos para VHB. La especificidad de la prueba Xpert HBV VL fue del 100,0 % (IC del 95 %: 98,1-100,0 [199/199]).

19.2 Correlación de métodos

Se realizó un estudio multicéntrico sitios para evaluar el rendimiento de la prueba Xpert HBV VL en comparación con un método comparador cuantitativo de ADN del VHB utilizando muestras sobrantes de suero y plasma con EDTA estándar de individuos que se sabía que tenían infección por VHB.

De los 876 sujetos idóneos, 351 (40,1 %) eran mujeres y 489 (55,8 %) eran hombres. La edad promedio fue de $47,2 \pm 15,9$ años con edades comprendidas entre los 18 y los 89 años. De estas 876 muestras, 560 estaban dentro del intervalo de cuantificación tanto del ensayo HBV VL como del ensayo comparador. El resultado de la regresión de Deming y los análisis de regresión lineal simple se muestran en la Figura 13.

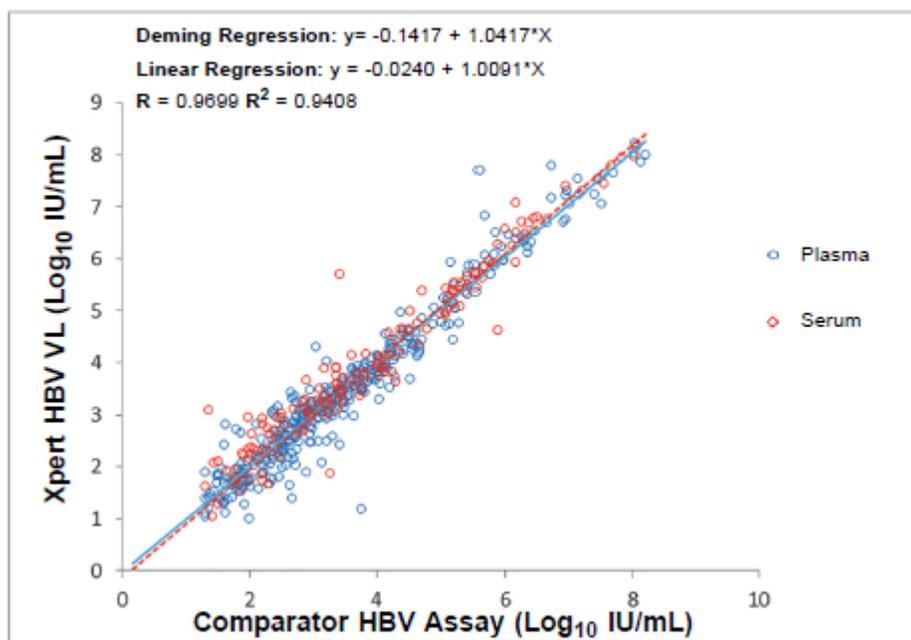


Figura 13. Correlación de la prueba Xpert HBV VL frente al método comparador utilizando muestras de suero y plasma con EDTA

20 Bibliografía

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Guidelines for the Prevention, Care and Treatment of Persons with Chronic Hepatitis B Infection. Marzo de 2015. Acceso el 14 de marzo de 2018 en: <http://www.who.int/hiv/pub/hepatitis/hepatitis-b-guidelines/en/>.
2. European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J. Hepat.* 2012; 57:167-185. Disponible en: <http://dxdoi.org/10.1016/j.jhep.2012.02.010>.
3. World Health Organisation. Global hepatitis report, 2017. WHO. April 2017.
4. The 4th WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC code: 10/266). National Institute for Biological Standards and Control; 2016.
5. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* (5th edition), Acceso el 5 de marzo de 2018 en <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections, Approved Guideline*. Documento M29 (consultar la última edición).
7. World Health Organization. Safe management of wastes from health-care activities. 2nd Edition. WHO, 2014. Acceso el 20 de abril de 2018 en http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/wastemanag/en/.
8. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre la clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE, que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006.
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de marzo de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures*; Approved Guideline – Second Edition. Documento EP17-A2 del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2012.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures*; Approved Guideline —Third Edition. Documento EP05-A3 del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
12. Clinical and Laboratory Standards Institute. *User Verification of Precision and Estimation of Bias*; Approved Guideline – Third Edition. Documento EP15-A3 del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2014.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach*. Approved Guideline. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2003.

21 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Teléfono: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sede central europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Teléfono: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador

Información de contacto

Estados Unidos

Teléfono: + 1 888 838 3222

Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

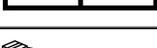
Francia

Teléfono: + 33 563 825 319

Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web: www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

23 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	<i>Producto sanitario para diagnóstico in vitro</i>
	No reutilizar
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene cantidad suficiente para n pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Marca CE: conformidad europea
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Precaución
	Advertencia
	Representante autorizado en Suiza
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland

