

REF 201300 NeuMoDx™ HBV Quant Test Strip

R only

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System

 Para ver actualizaciones en los folletos adjuntos, vaya a: www.qiagen.com/neumodx-ifu

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108

Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317

USO PREVISTO

El NeuMoDx HBV Quant Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* automatizada para la cuantificación del ADN del virus de la hepatitis B (HBV) en muestras de plasma y suero humano para los genotipos del A al H del HBV en personas infectadas por HBV. El NeuMoDx HBV Quant Assay implementado en el NeuMoDx 288 Molecular System y el NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Systems) incorpora la extracción automatizada de ADN para aislar el ácido nucleico diana de la muestra y la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) inmediata para tratar las secuencias altamente conservadas en el genoma del virus de la hepatitis B.

El NeuMoDx HBV Quant Assay está diseñado para utilizarse como ayuda en el tratamiento de pacientes con infecciones por HBV. Los resultados del NeuMoDx HBV Quant Assay se deben interpretar en el contexto de todos los hallazgos de laboratorio y clínicos relevantes. El NeuMoDx HBV Quant Assay no está diseñado para su uso como prueba de detección en sangre o en hemoderivados ni como herramienta de diagnóstico para diagnosticar el estado clínico de la infección por HBV.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La sangre completa humana recogida en tubos estériles de recogida de sangre que contienen ácido etilendiaminetetracético (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) o solución con ácido cítrico, citrato sódico y glucosa (Acid Citrate-Dextrose, ACD) como anticoagulantes, o en tubos de preparación de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), se puede utilizar para la preparación del plasma; mientras que el suero se debe recoger en tubos de recogida de suero o tubos de separación (Separation Tubes, SST). Para preparar el análisis, el plasma o el suero recogido en un tubo de muestras secundario o la sangre fraccionada recogida en un tubo de muestras primario compatibles con el NeuMoDx System se carga en el NeuMoDx System mediante un soporte de tubos de muestras compatible. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de muestra de suero o plasma con el NeuMoDx Lysis Buffer 1 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ADN aislado para la amplificación mediante RCP inmediata y, si corresponde, amplificar y detectar los productos de la amplificación (secciones del genoma del HBV diana en la *proteína X* y la proteína *preC* de codificación de regiones altamente conservadas). El NeuMoDx HBV Quant Assay incluye un control de proceso de muestras de ADN (Sample Process Control, SPC1) para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse durante los procesos de extracción y amplificación.

El virus de la hepatitis B (HBV) es el agente causante de la infección hepática por hepatitis B y es un problema de salud global. La hepatitis B puede provocar hepatitis aguda o convertirse en una enfermedad crónica que derive en cirrosis o cáncer hepático. El riesgo de desarrollar una enfermedad crónica está relacionado principalmente con la edad; si el virus se transmite en el momento de nacer, hay >90 % de probabilidades de que se desarrolle una enfermedad crónica mientras que en el caso de infección en adultos, las probabilidades son de entre 2 y 6 %.¹ El HBV se transmite por contacto de sangre con sangre de una persona infectada, por transmisión sexual, por el uso compartido de agujas con una persona infectada para la administración intravenosa de drogas o por transmisión vertical de la madre al hijo en el momento del nacimiento. En Estados Unidos, hay aproximadamente 850 000 personas infectadas por HBV; la mayoría de las nuevas infecciones se producen por transmisión sexual o a través de drogas inyectables.² En África y en el Pacífico occidental, se sabe que hasta el 5 % de la población está infectada. En 2015, la infección por HBV provocó 885 000 muertes, en su mayoría por cirrosis o carcinoma hepatocelular.³ Existe una vacuna cuya eficacia es de un 95 % para evitar la infección por HBV, por lo que los casos diagnosticados anualmente disminuyen.⁴

El estándar de atención actual para tratar la infección por HBV es la terapia antiviral, que requiere una supervisión constante para garantizar que el tratamiento avanza según lo deseado. La supervisión de la terapia con el NeuMoDx HBV Quant Assay puede proporcionar a los médicos la información necesaria para controlar a los pacientes infectados por HBV.

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx HBV Quant Assay combina la extracción automatizada de ADN, la amplificación y la detección mediante RCP inmediata. Se recogen muestras de sangre completa en tubos con EDTA o con ACD, o en tubos PPT para la preparación del plasma y/o en tubos SST para la preparación del suero. Se etiqueta la muestra de sangre primaria (fraccionada), o una alícuota de plasma/suero recogida en un tubo de muestras secundario compatible, con un código de barras y se coloca en el NeuMoDx System. El NeuMoDx System aspira automáticamente una alícuota del plasma/suero para mezclarla con el NeuMoDx Lysis Buffer 1 y los agentes que contiene la NeuMoDx Extraction Plate para empezar el procesamiento. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y la concentración de ADN, la preparación de los reactivos y la amplificación/detección del ácido nucleico de las secuencias diana mediante RCP inmediata. El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) incluido ayuda a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos, del proceso o del sistema. No es necesaria la intervención del operador una vez cargada la muestra en el NeuMoDx System.

El NeuMoDx System utiliza una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis, la extracción del ADN y la eliminación de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con ácido nucleico unido, se cargan en el NeuMoDx Cartridge donde los elementos no unidos se eliminan con el NeuMoDx Wash Reagent. A continuación, el ADN unido se eluye utilizando el NeuMoDx Release Reagent. El NeuMoDx System utiliza el ADN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación de los analitos de HBV y SPC1. Esto permite la amplificación y la detección simultáneas tanto del analito como de las secuencias de ADN de control. Tras la reconstitución de los reactivos secos para la RCP, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para la RCP en una cámara de RCP (por muestra) del NeuMoDx Cartridge. La amplificación y la detección de las secuencias de ADN de control y diana (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para contener el amplicón tras la RCP, eliminando prácticamente el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en tiempo real utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) con moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos. Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, lo que permite que la molécula supresora de la señal extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster Transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa de ADN Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la polimerasa de ADN Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y rompe su proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador de RCP cuantitativa del NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de analito presente.

Se utiliza una sonda TaqMan marcada con un fluorocromo (excitación: 490 nm y emisión: 521 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el ADN del HBV. Para detectar el SPC1, la sonda TaqMan está marcada con un colorante fluorescente alternativo (excitación: 535 nm y emisión: 556 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3'. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe final del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], UNRESOLVED [No resuelto], NO RESULT [Sin resultado]). Si un resultado es positivo y la concentración calculada está dentro de los límites de la cuantificación, el software del NeuMoDx System también proporciona un valor cuantitativo asociado a la muestra.

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Unidades por paquete	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
201300	NeuMoDx HBV Quant Test Strip <i>Reactivos secos para RCP que contienen cebadores y sondas TaqMan específicos para HBV y SPC1</i>	6	16	96

Materiales necesarios pero no suministrados (disponibles por separado en NeuMoDx)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secas</i>
800100 o 800102	NeuMoDx HBV Calibrators <i>Conjuntos de calibradores altos y bajos de HBV de un solo uso para establecer la validez de la curva de calibración</i>
900101 o 900102	NeuMoDx HBV External Controls <i>Conjuntos de controles positivos y negativos de un solo uso</i>
400400	NeuMoDx Lysis Buffer 1
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntas Hamilton® CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

Instrumentos necesarios

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]



PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La NeuMoDx HBV Quant Test Strip es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Systems exclusivamente.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- Debe haber una calibración de prueba válida (generada mediante el procesamiento de calibradores altos y bajos de los NeuMoDx HBV Calibrators) para que puedan generarse resultados de la prueba para muestras clínicas.
- Los NeuMoDx HBV External Controls se deben procesar cada 24 horas a lo largo del análisis con el NeuMoDx HBV Quant Assay.
- El volumen mínimo de la muestra depende del tamaño del tubo, del soporte de muestras y del procesamiento del volumen de la muestra tal y como se define a continuación. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados erróneos o no válidos.
- Evite la contaminación de todos los reactivos y consumibles con microbios y desoxirribonucleasa (DNasa) en todo momento. Se recomienda el uso de pipetas de transferencia estériles sin desoxirribonucleasa y desechables cuando se utilizan tubos secundarios. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx HBV Quant Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual como los guantes y las batas de laboratorio y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip y de la NeuMoDx Extraction Plate o la superficie superior del NeuMoDx Lysis Buffer 1; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar las superficies laterales.
- Se proporcionan las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) de cada reactivo (según proceda) en www.qiagen.com/neumodx-ifu.
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fumar, beber ni comer en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio, como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁵ y en el documento M29-A4 del CLSI.⁶
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.
- No reutilizar.



ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx HBV Quant Test Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de 4 a 28 °C.
- No utilice consumibles ni reactivos que estén caducados.
- No utilice productos para pruebas si el embalaje primario o secundario no está visualmente intacto.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en otro NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx HBV Quant Test Strip puede permanecer en el NeuMoDx System durante 62 días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

1. Manipule todas las muestras, calibradores y controles como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.
2. No congele la sangre completa ni ninguna muestra almacenada en los tubos primarios.
3. Para preparar las muestras de plasma, la sangre completa se debe recoger en tubos estériles con EDTA o ACD como anticoagulantes. Siga las instrucciones del fabricante relativas a los tubos de recogida de muestras para su preparación y almacenamiento.
4. Para preparar muestras de suero, la sangre completa se debe recoger en tubos SST. Siga las instrucciones del fabricante relativas a los tubos de recogida de muestras para su preparación y almacenamiento.

5. Las muestras se pueden analizar en tubos de recogida primarios o en tubos de muestras secundarios. Para el análisis de tubos principales, se recomienda lo siguiente:
 - a. Muestras de plasma: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD n.º 368589) o BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD n.º 362799).
 - b. Muestras de suero: BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube (BD n.º 367820) o BD Vacutainer SST™ Tube (BD n.º 367988).
6. Las muestras preparadas se pueden almacenar en el NeuMoDx System hasta 8 horas en el caso del plasma y hasta 24 horas en el caso del suero antes del procesamiento. Si es necesario prolongar el tiempo de almacenamiento, se recomienda refrigerar o congelar las muestras como alícuotas de secundarias.
7. Las muestras preparadas deben almacenarse a una temperatura de 2-8 °C durante 7 días como máximo antes de realizar el análisis y durante 8 horas como máximo en el caso del plasma y 24 horas en el caso del suero a temperatura ambiente.
8. Las muestras preparadas pueden almacenarse a una temperatura ≤-20 °C durante un máximo de 4 semanas (en el caso de suero) o 6 meses (en el caso de plasma) antes del procesamiento; las muestras congeladas no deben someterse a más de 2 ciclos de congelación/descongelación (en el caso de plasma) y 4 ciclos de congelación/descongelación (en el caso de suero) antes del uso.
 - a. Si las muestras están congeladas, deje que se descongelen por completo a temperatura ambiente (15-30 °C); agite en vórtex para generar una muestra distribuida de manera uniforme.
 - b. Una vez que las muestras congeladas se han descongelado, la prueba debe realizarse dentro de las 24 horas posteriores.
 - c. No se recomienda la congelación de plasma/suero en tubos de recogida primarios.
9. Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.
10. Etiquete claramente las muestras e indique que son para análisis del HBV.
11. Continúe con la sección *Preparación de las pruebas*.

El proceso general para la implementación del NeuMoDx HBV Quant Assay se resume a continuación en la *figura 1*.

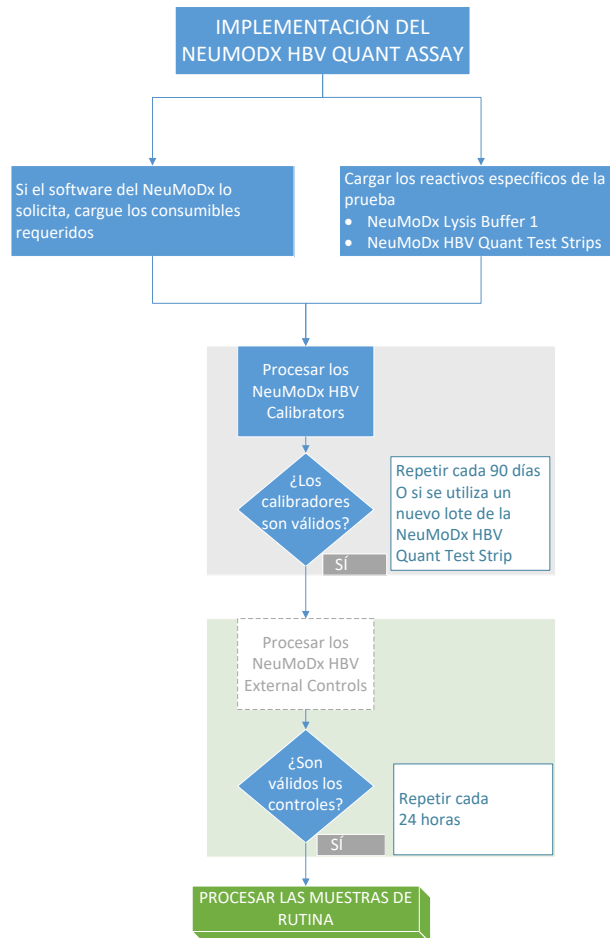


Figura 1: Flujo de trabajo de la implementación del NeuMoDx HBV Quant Assay

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de las pruebas

El NeuMoDx HBV Quant Assay se puede ejecutar directamente desde tubos de recogida de sangre primarios o desde alícuotas de muestras en tubos secundarios. El procesamiento se puede ejecutar siguiendo uno de los dos flujos de trabajo para el procesamiento de volúmenes de muestras: flujo de trabajo utilizando un volumen de muestra de 550 µl o flujo de trabajo para el procesamiento de la muestra de 200 µl. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System.

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System. El tubo de recogida de sangre primario puede etiquetarse y colocarse directamente en un soporte de tubos de muestras de 32 tubos tras la centrifugación según indique el fabricante. Como alternativa, una alícuota del plasma/suero se puede transferir a un tubo secundario para su procesamiento en el NeuMoDx System.
2. Si realiza el análisis de la muestra en el tubo de recogida primario, coloque el tubo etiquetado con el código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quite el tapón antes de cargarlo en el NeuMoDx System. A continuación, se definen los volúmenes mínimos **sobre la** capa leucocitaria/gel los cuales se cumplirán si las muestras se recogen y procesan de acuerdo con las instrucciones del fabricante de tubos. El rendimiento no está garantizado para las muestras que no se recojan correctamente.

Tipo de tubo	Volumen de muestra mínimo necesario	
	Flujo de trabajo de 550 µl	Flujo de trabajo de 200 µl
SST: 3,5 ml	1550 µl	1200 µl
PPT/SST: 5,0 ml	1800 µl	1450 µl
PPT/SST: 8,5 ml	2500 µl	2200 µl
K ₂ EDTA/suero: 4,0 ml	1050 µl	700 µl
K ₂ EDTA/suero: 6,0 ml	1250 µl	900 µl
K ₂ EDTA/suero: 10,0 ml	1600 µl	1250 µl

3. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota del plasma/suero al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System, en función de los volúmenes que se definen a continuación:

Soporte de tubos de muestras	Tamaño del tubo	Volumen de muestra mínimo necesario	
		Flujo de trabajo de 550 µl	Flujo de trabajo de 200 µl
32-Tube Specimen Tube Carrier (Soporte de tubos de muestras de 32 tubos)	11-14 mm de diámetro por 60-120 mm de altura	700 µl	400 µl
24-Tube Specimen Tube Carrier (Soporte de tubos de muestras de 32 tubos)	14,5-18 mm de diámetro por 60-120 mm de altura	1100 µl	800 µl
Low Volume Specimen Tube Carrier (Soporte de tubos de muestras de volumen bajo)	Tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml	650 µl	300 µl

Funcionamiento de los NeuMoDx Systems

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 y del 96 Molecular System (ref. 40600108 y 40600317)

1. Cargue el pedido de pruebas en el NeuMoDx System según el flujo de trabajo utilizando el volumen de procesamiento de muestras deseado y el tipo de tubo de muestras.
 - El volumen de la muestra de 550 µl se prueba definiendo el tipo de muestra como "Plasma" o "Serum" (Suero).
 - El volumen de la muestra de 200 µl se prueba definiendo el tipo de muestra como "Plasma2" (Plasma 2) o "Serum2" (Suero 2).
 - Si no se define en el pedido de prueba, se utilizará el tipo de muestra Plasma en un Secondary Tube (Tubo secundario) por defecto.
2. Rellene uno o más soportes de NeuMoDx System Test Strip con las NeuMoDx HBV Quant Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.

3. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
4. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent y el NeuMoDx Release Reagent, y vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96 Molecular System), según resulte adecuado.
5. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, procese los NeuMoDx HBV Calibrators y/o NeuMoDx HBV External Controls. Puede encontrar más información sobre los calibradores y los controles en la sección *Procesamiento de los resultados*.
6. Cargue los tubos de muestras/calibrador/control en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos.
7. Coloque los soportes de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

LIMITACIONES

1. La NeuMoDx HBV Quant Test Strip solo puede utilizarse en NeuMoDx Systems.
2. Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip para muestras de plasma preparadas con EDTA/ACD como anticoagulantes o muestras de suero preparadas en tubos de separación de suero. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip con otras fuentes y se desconocen las características del rendimiento para otros tipos de muestras.
3. Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip para el análisis del tubo principal mediante el uso de BD Vacutainer Plus Plastic K₂EDTA Tubes, BD PPT Plasma Preparation Tube, BD Vacutainer Plus Plastic Serum Tube y BD SST Tube.
4. Se ha observado un pequeño aumento en el límite de detección y en el límite inferior de cuantificación del NeuMoDx HBV Quant Assay cuando se utiliza el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 200 µl.
5. El NeuMoDx HBV Quant Assay solo se utiliza para la supervisión cuantitativa. No se debe utilizar para la detección cualitativa.
6. El NeuMoDx HBV Quant Assay no se debe utilizar con muestras heparinizadas de seres humanos.
7. Dado que la detección del HBV depende del número de partículas de ADN diana presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
8. Los NeuMoDx HBV Calibrators y los NeuMoDx HBV External Controls deben procesarse según lo recomendado en los prospectos cuando lo solicite el software del NeuMoDx System antes del procesamiento de muestras clínicas de rutina.
9. Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a la confusión de los tubos de muestras. Además, podrían producirse resultados negativos falsos debido a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx HBV Quant Assay.
10. El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
11. Si tanto la diana del HBV como la diana del SPC1 no se amplifican, se notificará un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado], No Result [Sin resultado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
12. Si el resultado del NeuMoDx HBV Quant Assay es Positive (Positivo), pero el valor de cuantificación supera los límites de la cuantificación, el NeuMoDx System informará si el HBV detectado estaba *por debajo* del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) o *por encima* del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).
13. En caso de que el HBV detectado estuviera *por debajo* del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), el ensayo puede repetirse, si se desea, con otra alícuota de la muestra.
14. En caso de que el HBV detectado estuviera *por encima* del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), el NeuMoDx HBV Quant Assay puede repetirse con una alícuota diluida de la muestra original. Se recomienda una dilución de 1:1000 en plasma negativo para HBV o Basematrix 53 Diluent (Basematrix) (SeraCare, Milford, MA). La concentración de la muestra original se puede calcular de la siguiente forma:

$$\text{concentración de la muestra original} = \log_{10}(\text{factor de dilución}) + \text{concentración notificada de la muestra diluida}$$
15. La presencia ocasional de inhibidores de la RCP en plasma puede causar un error de cuantificación en el sistema. Si esto sucede, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra diluida en Basematrix en una proporción de 1:10 o de 1:100.
16. Un resultado positivo no indica necesariamente la presencia de microorganismos viables. Sin embargo, un resultado positivo puede indicar la presencia de ADN del virus de la hepatitis B.
17. Las eliminaciones o las mutaciones en las regiones conservadas diana del NeuMoDx HBV Quant Assay pueden afectar a la detección y podrían dar lugar a un resultado erróneo con la NeuMoDx HBV Quant Test Strip.

18. Los resultados del NeuMoDx HBV Quant Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición; el ensayo no está diseñado para diagnosticar la infección.
19. Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña 'Results' (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System. El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del NeuMoDx HBV Quant Assay utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento de los resultados especificados en el archivo de definición de ensayo de NeuMoDx HBV Quant Assay (HBV Assay Definition File, HBV ADF). Un resultado puede notificarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo) con una concentración de HBV notificada, Positive (Positivo) por encima del ULoQ, Positive (Positivo) por debajo del LLoQ, Indeterminate (IND [Indeterminado]), Unresolved (UNR [No resuelto]) o No Result (NR [Sin resultado]) en función del estado de amplificación del analito y el control de proceso de muestras. Los resultados se notifican en función del algoritmo de decisión del archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF), como se resume a continuación en la *tabla 1*.

Tabla 1: Resumen del algoritmo de decisión del HBV Quant Assay

RESULTADO	Analito de HBV	Control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1)	Interpretación del resultado
Positive (Positivo) con concentración notificada	Amplified (Amplificado) $0,9 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flujo de trabajo de 550 μl) $1,4 \leq [\text{HBV}] \leq 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flujo de trabajo de 200 μl)	Amplified (Amplificado) o Not Amplified (No amplificado)	ADN de HBV detectado dentro del intervalo cuantitativo
Positive (Positivo), por encima del ULoQ	Amplified (Amplificado) $[\text{HBV}] > 9,0 \log_{10} \text{ UI/ml}$	Amplified (Amplificado) o Not Amplified (No amplificado)	ADN de HBV detectado por encima del intervalo cuantitativo
Positive (Positivo), por debajo del LLoQ	Amplified (Amplificado) $[\text{HBV}] < 0,9 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flujo de trabajo de 550 μl) $[\text{HBV}] < 1,4 \log_{10} \text{ UI/ml}$ (flujo de trabajo de 200 μl)	Amplified (Amplificado) o Not Amplified (No amplificado)	ADN de HBV detectado por debajo del intervalo cuantitativo
Negative (Negativo)	Not Amplified (No amplificado)	Amplified (Amplificado)	ADN de HBV no detectado
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra completado)		Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra†
No Result* (Sin resultado)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (No amplificado, se ha detectado un error del sistema, procesamiento de la muestra anulado)		El procesamiento de la muestra fue anulado; vuelva a realizar la muestra†
Unresolved (No resuelto)	Not Amplified, No System Error Detected (No amplificado, No se ha detectado ningún error del sistema)		Todos los resultados del analito fueron no válidos; vuelva a analizar la muestra†

*La indicación No Result (Sin resultado) solo se notifica en las versiones de software 1.8 y superiores del NeuMoDx System.

†El NeuMoDx System está equipado con una función Rerun/Repeat (Nuevo análisis/Repetición) automática que el usuario final puede elegir para asegurar que se vuelva a procesar de manera automática un resultado IND/UNR/NR (Indeterminado/No resuelto/Sin resultado) para así minimizar los retrasos en el informe de resultados.

Cálculo de la prueba

1. En el caso de las muestras comprendidas dentro del intervalo de cuantificación del NeuMoDx HBV Quant Assay, la concentración de ADN del HBV en las muestras se calcula usando la curva estándar guardada junto con el coeficiente de calibración y el volumen de la muestra.
 - a. Se calcula un coeficiente de calibración en función de los resultados de los NeuMoDx HBV Calibrators procesados para establecer la validez de la curva estándar para un lote determinado de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip en un NeuMoDx System específico.
 - b. El coeficiente de calibración se incorpora en la determinación final de la concentración de ADN del HBV.
 - c. El software NeuMoDx contabiliza el volumen de entrada de la muestra cuando determina la concentración de ADN del HBV por ml de muestra.
2. Los resultados del NeuMoDx HBV Quant Assay se indican en $\log_{10} \text{ UI/ml}$.
3. La cuantificación resultante de las muestras desconocidas concuerda con el 4.º estándar internacional de la OMS para el HBV.

Calibración de prueba

Se requiere una calibración válida basada en la curva estándar para cuantificar el ADN del HBV en las muestras. Para generar resultados válidos, se debe llevar a cabo una calibración de prueba con los calibradores externos proporcionados por NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibradores

1. Se debe procesar un conjunto de NeuMoDx HBV Calibrators con cada lote nuevo de NeuMoDx HBV Quant Test Strips si se carga un nuevo archivo de definición de ensayo del HBV Quant en el NeuMoDx System, si el conjunto de calibradores actual ha pasado el período de validez (establecido actualmente en 90 días) o si se modifica el software del NeuMoDx System.
2. El software del NeuMoDx System notificará al usuario cuando los calibradores deban procesarse. No se puede utilizar un nuevo lote de tiras reactivas para realizar el análisis hasta que los calibradores se hayan procesado correctamente.
3. La validez de la calibración se establece de la siguiente manera:
 - a) Es necesario procesar un conjunto de dos calibradores, uno (1) alto y uno (1) bajo, para establecer la validez.
 - b) Al menos dos (2) de las tres (3) réplicas deben proporcionar resultados dentro de los parámetros predefinidos. El objetivo nominal del calibrador bajo es de $3,7 \log_{10}$ UI/ml y el del calibrador alto es de $5,7 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Se calcula un coeficiente de calibración para contemplar la variación esperada entre los lotes de tiras reactivas. Este coeficiente de calibración se utiliza para determinar la concentración final del HBV.
4. Si uno o ambos calibradores no superan la comprobación de validez, repita el procesamiento de los calibradores no aprobados con un nuevo vial. En caso de que un solo calibrador no supere la comprobación de validez, es posible repetir únicamente el calibrador no aprobado, ya que el sistema no requiere que el usuario procese ambos calibradores de nuevo.
5. Si los calibradores no superan la comprobación de validez de forma consecutiva, póngase en contacto con NeuMoDx Molecular, Inc.

Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

Controles externos

1. Los controles externos positivos y negativos se deben procesar cada 24 horas durante el análisis con el NeuMoDx HBV Quant Assay. Si no existe un conjunto de resultados de controles externos válidos, el software del NeuMoDx System indicará al usuario que se deben procesar los controles para que puedan notificarse los resultados de las muestras.
2. El NeuMoDx System evaluará la validez de los controles externos en función del resultado esperado. El control positivo debe proporcionar un resultado Positivo (Positivo) para HBV y el control negativo debe proporcionar un resultado Negative (Negativo) para HBV.
3. La gestión de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
 - a) El resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo indica que existe un problema de contaminación de la muestra.
 - b) El resultado Negative (Negativo) de una prueba notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con un reactivo o con el instrumento.
 - c) En cualquiera de los casos anteriores, o en el caso de un resultado Indeterminate (IND [Indeterminado]) o No Result (NR [Sin resultado]), repita los NeuMoDx HBV External Controls con viales nuevos de los controles que no superaron la prueba de validez.
 - d) Si el NeuMoDx HBV External Control positivo sigue notificando un resultado Negative (Negativo), póngase en contacto con el servicio técnico de NeuMoDx.
 - e) Si el NeuMoDx HBV External Control negativo sigue notificando un resultado Positive (Positivo), intente eliminar todas las fuentes de posible contaminación, lo que incluye sustituir todos los reactivos antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de NeuMoDx.

Controles (internos) de proceso de muestras

Se incorpora un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC1) exógeno a la NeuMoDx Extraction Plate y se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y amplificación mediante RCP inmediata con cada muestra. La sonda y los cebadores específicos para el SPC1 también se incluyen en cada NeuMoDx HBV Quant Test Strip, lo que permite detectar el SPC1 con el ADN del HBV diana (si está presente) mediante RCP múltiple. La detección de la amplificación del SPC1 permite al software del NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ADN y amplificación por RCP.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx HBV Quant Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido tras el procesamiento de la muestra, se notificará como Indeterminate (IND [Indeterminado]), No Result (NR [Sin resultado]) o Unresolved (UNR [No resuelto]) en función del tipo de error que se haya presentado.

Se notificará un resultado IND (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En el caso de que se notifique un resultado IND (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado UNR (No resuelto) si no se detecta ninguna amplificación válida del ADN del HBV ni del SPC1 sin que haya errores del sistema, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. Si se notifica un resultado UNR (No resuelto), se recomienda repetir la prueba como primer paso. Si una nueva prueba falla, puede utilizarse una dilución de la muestra para mitigar los efectos de cualquier inhibición de la muestra.

Si un NeuMoDx HBV Quant Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido y el procesamiento de la muestra se cancela antes de que finalice, se notificará como No Result (NR [Sin resultado]). En el caso de que se notifique un resultado NR (Sin resultado), se recomienda repetir la prueba.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica: límite de detección con el estándar de la OMS

La sensibilidad analítica del NeuMoDx HBV Quant Assay se caracterizó analizando muestras negativas y diluciones sucesivas del 4.^º estándar internacional de la OMS en suero y plasma humano de cribado negativo para determinar el límite de detección (Limit of Detection, LoD) en los NeuMoDx Systems. El LoD se definió como el nivel de diana más bajo que se detecta en una tasa del 95 % según lo determinado mediante el análisis probit. Los estudios se realizaron durante 3 días en varios NeuMoDx Systems con varios lotes de reactivos NeuMoDx. Se realizó un estudio adicional para confirmar el LoD del NeuMoDx HBV Quant Assay cuando se utiliza el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 200 μ l. La tasa de detección de ambos estudios se muestra en la *tabla 2*.

Tabla 2: Tasas de detección positivas para la determinación del LoD del NeuMoDx HBV Quant Assay

	Concentración de analitos [UI/ml]	Concentración de analitos [\log_{10} UI/ml]	PLASMA			SUERO		
			Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección	Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección
550 μl	20	1,30	108	108	100 %	107	107	100 %
	10	1	108	107	99 %	108	104	96 %
	5	0,70	108	98	91 %	108	95	88 %
	2,5	0,40	108	97	90 %	108	72	67 %
	1,25	0,10	108	73	68 %	108	44	42 %
	NEG	N/A (N/D)	108	0	0 %	107	0	0 %
200 μl	25	1,40	43	43	100 %	44	44	100 %

El LoD del NeuMoDx HBV Quant Assay para el genotipo A del HBV (4.^º estándar internacional de la OMS) en plasma era de 5,2 UI/ml (IC del 95 % de 4,1 a 7,6 UI/ml) [(0,72 \log_{10} UI/ml) (IC del 95 % de 0,61 a 0,88 \log_{10} UI/ml)] para el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 550 μ l (*figura 2*). El LoD del NeuMoDx HBV Quant Assay para las muestras de suero era de 8,0 UI/ml (IC del 95 % de 6,5 a 10,8 UI/ml) [(0,9 \log_{10} UI/ml) (IC del 95 % de 0,8 a 1,0 \log_{10} UI/ml)] para el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 550 μ l (*figura 2*).

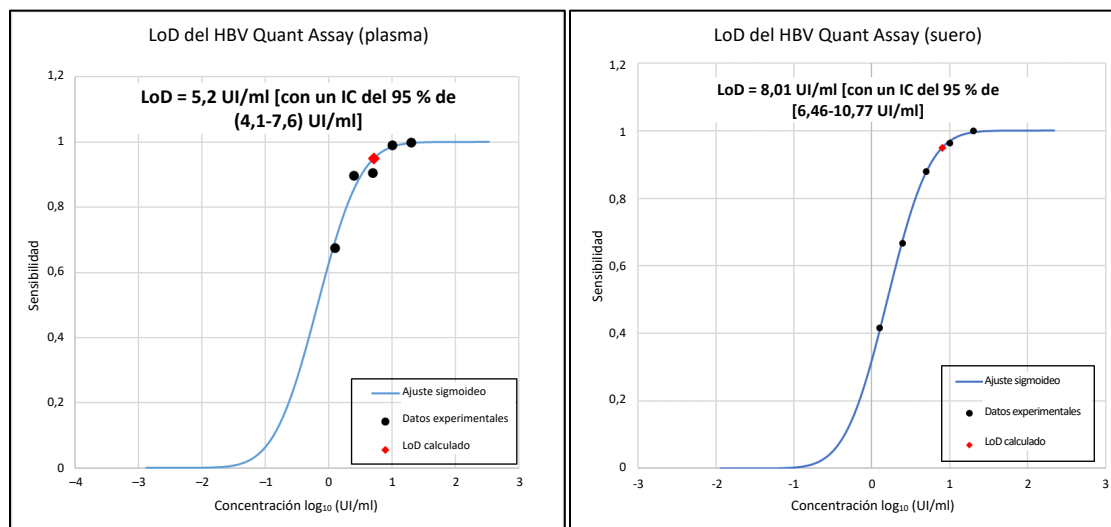


Figura 2: Análisis probit utilizado para determinar el LoD del NeuMoDx HBV Quant Assay en plasma (izquierda) y suero (derecha)

Sensibilidad analítica: límite de cuantificación; límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) con el estándar de la OMS

El límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) se define como el nivel de diana más bajo en el que se logra una detección >95 % y el error analítico total (Total Analytical Error, TAE) es $\leq 1,0$. Para determinar el LLoQ, se calculó el error analítico total (Total Analytical Error, TAE) para cada uno de los niveles del analito del HBV que notificaron una detección >95 % como parte del cálculo del LoD. El TAE se define de la siguiente forma:

$$\text{TAE} = \text{sesgo} + 2 \cdot \text{SD} \quad [\text{Estadística Westgard}]$$

El sesgo es el valor absoluto de la diferencia entre el promedio de la concentración calculada y la concentración esperada. SD se refiere a la desviación estándar (Standard Deviation, SD) del valor cuantificado de la muestra.

En la *tabla 3*, se muestran los resultados recopilados de los 5 niveles de las muestras de HBV utilizadas en el estudio del LLoQ mediante el 4.º estándar internacional de la OMS. El LLoQ determinado por el 4.º estándar internacional de la OMS en plasma con el NeuMoDx HBV Quant Assay (flujo de trabajo con un volumen de muestra de 550 μl) es 5,5 UI/ml (0,74 \log_{10} UI/ml). Se llevó a cabo un estudio independiente para confirmar el LLoQ cuando se sigue un flujo de trabajo utilizando un volumen de muestra de 200 μl y sus resultados muestran un LLoQ de 25 UI/ml; lo cual se refleja también en la *tabla 3*.

Se determinó que el LLoQ of del NeuMoDx HBV Quant Assay para las muestras de suero era de 6,0 UI/ml para el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 550 μl y de 25 UI/ml para el flujo de trabajo con un volumen de muestra bajo (200 μl) como se refleja en la *tabla 3*.

Tabla 3: LLoQ del NeuMoDx HBV Quant Assay, con el sesgo y el TAE

	Conc. deseada [UI/ml]	Conc. deseada [\log_{10} UI/ml]	Plasma					Suero				
			Conc. media [\log_{10} UI/ml]	Detección (%)	SD	Sesgo	TAE	Conc. media [\log_{10} UI/ml]	Detección (%)	SD	Sesgo	TAE
550 μl	20	1,30	1,29	100	0,23	0,16	0,63	1,43	100	0,20	0,13	0,52
	10	1,00	1,07	99	0,25	0,20	0,71	1,21	96	0,24	0,21	0,69
	5	0,70	0,89	91	0,35	0,34	1,04	1,00	88	0,40	0,30	1,09
	2,5	0,40	0,75	90	0,44	0,51	1,39	0,96	67	0,44	0,56	1,46
	1,25	0,10	0,73	68	0,41	0,68	1,50	0,95	42	0,38	0,85	1,61
200 μl	25	1,40	1,61	100	0,35	0,21	0,91	1,81	100	0,18	0,41	0,78

Sensibilidad analítica: LoD y LLoQ en los genotipos del HBV

Se estableció inicialmente el LoD para el genotipo A (4.º estándar internacional de la OMS) y luego se realizaron análisis adicionales en torno al LoD establecido utilizando los otros 7 genotipos. Se analizaron treinta y seis (36) réplicas a niveles correspondientes a 2 veces, 1 vez y 0,5 veces el límite superior del IC del 95 % del LoD (aproximadamente 7 UI/ml) utilizando el NeuMoDx HBV Quant Assay con plasma mediante el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 550 μl . La tasa de porcentaje positivo para cada genotipo en cada uno de estos niveles analizados se representó en tablas y se usó para calcular el LoD utilizando un análisis probit.

También se calculó el error analítico total en estos niveles analizados. El nivel más bajo con una detección positiva del 95 % y un TAE calculado de $\leq 1,0$ se consideró nuevamente como el LLoQ para el genotipo. Entre los genotipos, se demostró que el límite de detección del NeuMoDx HBV Quant Assay para muestras de plasma para el flujo de trabajo con volumen de muestra de 550 μl era 6,2 UI/ml (0,79 \log_{10} UI/ml) y el LLoQ era de 7,6 UI/ml (0,88 \log_{10} UI/ml), como se muestra en la *tabla 4*.

Tabla 4. Genotipos del HBV analizados en plasma para un flujo de trabajo con un volumen de muestra de 550 μl

GENOTIPO	LoD [UI/ml]	LLoQ [UI/ml]
Genotipo A	5,2	5,2
Genotipo B	6,2	6,2
Genotipo C	3,5	6,2
Genotipo D	5,2	5,7
Genotipo E	3,5	3,5
Genotipo F	5,1	6,2
Genotipo G	3,5	3,5
Genotipo H	5,2	7,6

Según el resultado de estos estudios, NeuMoDx afirma un **LoD y un LLoQ de 25 UI/ml (1,4 log₁₀ UI/ml)** para el NeuMoDx HBV Quant Assay en **plasma y suero** empleando el **flujo de trabajo de volumen de la muestra de 200 µl**.

NeuMoDx afirma un **LoD y un LLoQ de 8,0 UI/ml (0,9 log₁₀ UI/ml)** para el NeuMoDx HBV Quant Assay en **plasma y suero** empleando el **flujo de trabajo de volumen de la muestra de 550 µl**.

Sensibilidad analítica: linealidad y determinación del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ)

La linealidad y el límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ) del NeuMoDx HBV Quant Assay se determinaron en plasma preparando una serie de diluciones con la muestra clínica de HBV positiva alta (Access Biologicals, Vista, CA) con una concordancia establecida con el 4.º estándar internacional de la OMS. Se preparó un panel de 11 componentes en plasma negativo combinado para el HBV a fin de crear un panel de análisis que cubriera un intervalo de concentración de entre 9,02 y 1,02 log₁₀ UI/ml. El panel de prueba se procesó con 6 réplicas en cada nivel en 2 NeuMoDx Systems y 3 lotes de reactivos críticos. El NeuMoDx HBV Quant Assay demostró la capacidad de cuantificar el HBV en el intervalo lineal de 8 log₁₀ (incluidos los puntos fundamentales para la toma de decisiones médicas) con una desviación de ±0,22 log₁₀ UI/ml. No se obtuvo ningún beneficio significativo utilizando los ajustes de regresión de segundo y tercer orden. Mediante los datos de este estudio se determinó que el ULoQ era de 9,02 log₁₀ UI/ml [tabla 5 y figura 3].

Tabla 5: Linealidad del NeuMoDx HBV Quant Assay (evaluada con el genotipo A)

Conc. deseada (UI/ml)	Conc. deseada (log ₁₀ UI/ml)	Conc. media (log ₁₀ UI/ml)	Desviación estándar	Sesgo	Ajuste lineal predicho	Desviación desde el ajuste no lineal
1,05E+09	9,02	8,99	0,08	0,06	9,02	-0,04
1,05E+08	8,02	8,05	0,07	0,05	8,02	0,03
1,05E+07	7,02	7,05	0,07	0,06	7,02	0,04
1,05E+06*	6,02	6,05	0,05	0,05	6,02	0,03
1,05E+05	5,02	5,04	0,05	0,04	5,02	0,00
2,82E+04*	4,45	4,43	0,07	0,05	4,45	-0,01
1,05E+04	4,02	3,99	0,09	0,05	4,02	-0,02
2,82E+03*	3,45	3,41	0,07	0,06	3,45	-0,03
1,05E+03	3,02	3,00	0,04	0,04	3,02	-0,03
1,05E+02	2,02	1,99	0,11	0,09	2,02	-0,01
1,05E+01	1,02	1,09	0,29	0,23	1,02	0,06

*Puntos próximos fundamentales para la toma de decisiones médicas

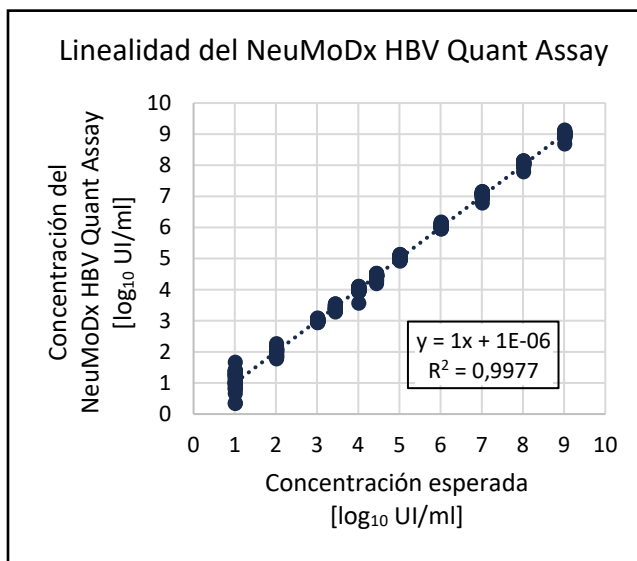


Figura 3: Intervalo lineal del NeuMoDx HBV Quant Assay en plasma

Se llevó a cabo un estudio posterior para demostrar la equivalencia de la matriz y el análisis en comparación con los resultados cuantitativos de NeuMoDx HBV para muestras preparadas en plasma y suero usando dos modelos de ajustes de regresión diferentes, incluida la herramienta de regresión de MS Excel y Passing-Bablok. En los resultados se mostró una estrecha correlación representada por la pendiente y valores de intersección muy próximos a 1,00 y 0,00 respectivamente; además de un valor R^2 de 0,99 (herramienta de regresión de MS Excel) o un valor p de 0,270 (Passing-Bablok). En la *figura 4* se presentan las concentraciones del ensayo HBV Quant notificadas por el NeuMoDx System para la matriz de plasma en comparación con las muestras de suero correspondientes.

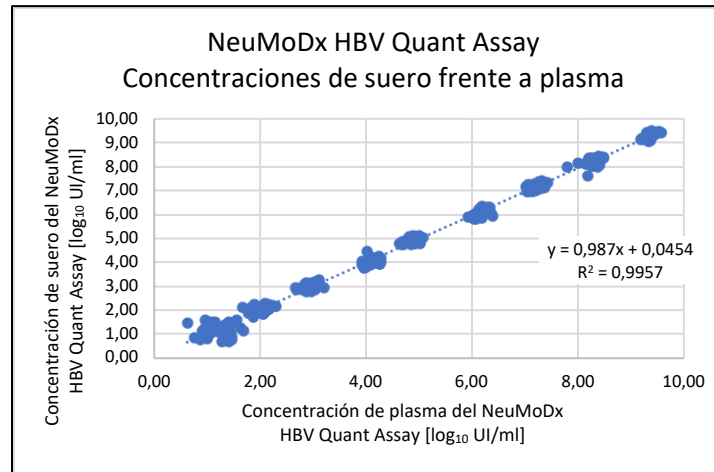


Figura 4: Intervalo lineal del NeuMoDx HBV Quant Assay entre matrices

Se confirmaron la linealidad y el ULoQ para el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 200 μ l en un intervalo de 9,31-1,71 \log_{10} UI/ml. Las comparaciones de las equivalencias se realizaron entre las concentraciones que notificó el software NeuMoDx para los flujos de trabajo de 200 μ l y 550 μ l. Los análisis de regresión de Deming y Passing-Bablok mostraron una excelente correlación y una pendiente próxima a 1 e intersecciones mínimas (sesgo) de las concentraciones notificadas tanto de las muestras de plasma como de las de suero en el intervalo lineal. En una comparación Bland-Altman de la concentración notificada para el flujo de trabajo con un volumen de muestra de 200 μ l con la concentración media notificada para los flujos de trabajo con un volumen de muestra de 200 μ l y 550 μ l se mostró un sesgo mínimo, y la precisión se atribuyó al algoritmo utilizado para generar resultados a partir del flujo de trabajo de 200 μ l. Además, en una regresión lineal simple en la que se comparó la concentración esperada con la concentración notificada para el flujo de trabajo de 200 μ l, la pendiente estaba próxima a 1, lo que demuestra una excelente correlación [figura 5]. En conjunto, estas comparaciones muestran una cuantificación precisa del HBV en el intervalo lineal del NeuMoDx HBV Quant Assay cuando se sigue un flujo de trabajo con un volumen de muestra de 200 μ l.

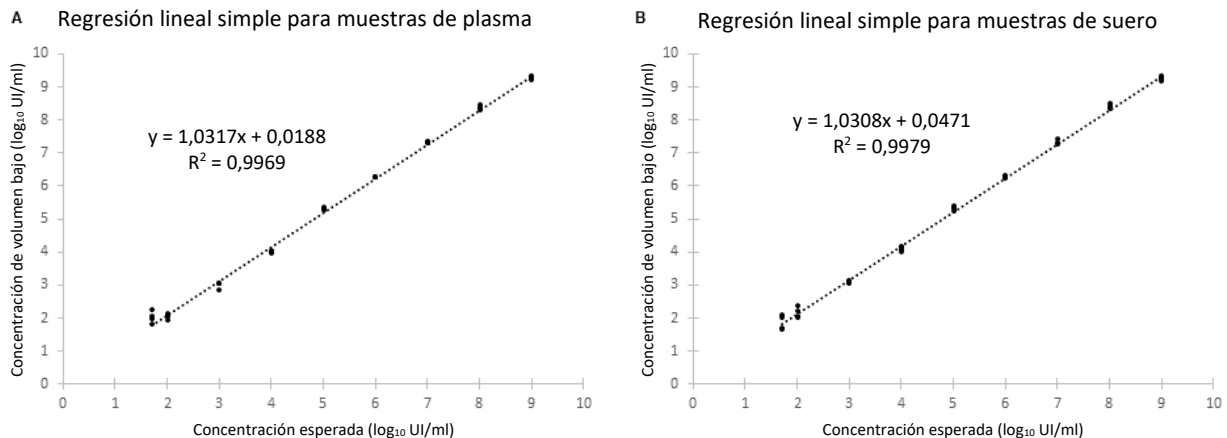


Figura 5: Relación lineal entre las concentraciones esperadas y las notificadas por NeuMoDx para el flujo de trabajo con 200 μ l en a) plasma y b) suero

Linealidad en los genotipos

La linealidad del NeuMoDx HBV Quant Assay en una muestra de plasma para los genotipos del HBV se caracterizó mediante el análisis de al menos cuatro (4) concentraciones diferentes de cada genotipo del HBV preparadas en plasma negativo para el HBV. Las concentraciones analizadas del analito del HBV utilizadas en este estudio dependían de la concentración de la muestra original y, por lo tanto, fueron diferentes entre los genotipos. El estudio se realizó con cada genotipo utilizando 6 réplicas en cada nivel. La linealidad entre los genotipos del HBV se muestra en la *tabla 6* y en la *figura 6*.

Tabla 6: Linealidad del NeuMoDx HBV Quant Assay entre los genotipos

Genotipo	Ecuación de linealidad y = cuantificación del NeuMoDx HBV Quant Assay x = cuantificación esperada	R ²
A	$y = 1x + 1E-06$	0,9977
B	$y = 1,0129x - 0,0964$	0,9975
C	$y = 1,0250x - 0,0898$	0,998
D	$y = 1,0379x - 0,0896$	0,9975
E	$y = 1,0182x - 0,096$	0,9956
F	$y = 0,9736x + 0,276$	0,9906
G	$y = 1,0547x - 0,0835$	0,9813

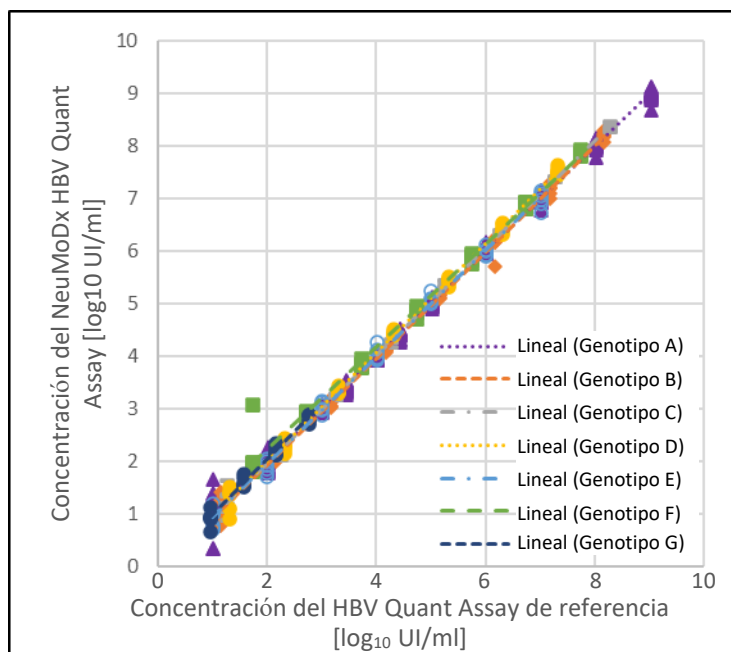


Figura 6: Linealidad del NeuMoDx HBV Quant Assay entre los genotipos

Especificidad analítica y reactividad cruzada

La especificidad analítica se mostró mediante el análisis de 32 microorganismos que pueden encontrarse frecuentemente en las muestras de sangre y plasma, así como en especies filogenéticamente similares al HBV para determinar la reactividad cruzada. Los microorganismos se prepararon en grupos de 4 a 6 microorganismos y se analizaron a una concentración elevada. Los microorganismos analizados se muestran en la *tabla 7*. No se observó reactividad cruzada con ninguno de los microorganismos analizados, lo que confirma una especificidad analítica del 100 % del NeuMoDx HBV Quant Assay.

Tabla 7: Patógenos utilizados para mostrar la especificidad analítica: reactividad cruzada

Adenovirus 2	Dengue V1	Hepatitis A	HPV 16	Ilhéus (ILHV)	Fiebre amarilla
Adenovirus 5	Dengue V2	Hepatitis C	HPV 18	Gripe A	Virus de Zika
Virus de Banzi	Dengue V3	Virus del herpes humano 6a	HSV1	Parvovirus B19	
Virus BK	Dengue V4	Virus del herpes humano 8	HSV 2	Rubéola	
Citomegalovirus	Virus de Epstein-Barr	HIV 1	HTLV 1	Encefalitis de San Luis	
VHZ	Virus de la variolovacuna	HIV 2	HTLV 2	Virus del Nilo Occidental	

Sustancias causantes de interferencias: microorganismos comensales

Se evaluó el NeuMoDx HBV Quant Assay para determinar interferencias en presencia de microorganismos no diana utilizando los mismos grupos de microorganismos que aquellos preparados para evaluar la especificidad analítica. Los microorganismos se analizaron de manera individual o en grupos de 4-6 microorganismos en plasma del HBV de cribado negativo y se mezclaron con controles del HBV con una concentración de $3,7 \log_{10}$ UI/ml. No se observaron interferencias significativas en presencia de estos microorganismos comensales, tal como indica la desviación mínima de la cuantificación con respecto a las muestras de control que no contenían agentes causantes de interferencias [tabla 8].

Tabla 8: Análisis de interferencias: organismos comensales

Microorganismos no diana	Conc. media (\log_{10} UI/ml)	Sesgo (\log_{10} UI/ml)
Grupo 1 [virus BK, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus del herpes humano 6a, virus del herpes humano 8]	3,51	0,10
Grupo 2 [adenovirus 2, adenovirus 5, dengue V2, dengue V3, dengue V4]	3,38	0,22
Grupo 3 [parvovirus B19, VLTH 1, VLTH 2, Ilhéus (ILHV), fiebre amarilla, virus de Zika]	3,62	0,06
Grupo 4 [VPH 16, VPH 18, VHS 1, VHS 2, dengue V1]	3,57	0,04
Grupo 5 [encefalitis de San Luis, VHZ, virus de la variolovacuna, virus del Nilo Occidental]	3,57	0,03
VHA	3,58	0,05
Virus de Banzi	3,41	0,19
HIV-1	3,47	0,15
HIV-2	3,56	0,05
Rubéola	3,16	0,44
Gripe A	3,60	0,03
HCV	3,58	0,04

Interferencias de sustancias: sustancias exógenas y endógenas

Se evaluó el rendimiento de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip en presencia de sustancias exógenas y endógenas típicas causantes de interferencias que se encuentran en muestras clínicas de plasma del HBV. Estas incluían niveles anormalmente altos de hemoderivados y también de medicamentos antiviricos comunes, los cuales se clasifican en la *tabla 9*. Cada una de las sustancias exógenas y endógenas indicadas a continuación en la *tabla 10* se añadió a plasma humano negativo para el HBV cribado mezclado con 3,7 log₁₀ UI/ml de HBV y se observaron los datos para detectar interferencias. Además, también se analizaron muestras de plasma de pacientes con enfermedades comunes asociadas a la infección por hepatitis B para detectar posibles interferencias.

Tabla 9: Análisis de interferencias: agentes exógenos (clasificaciones farmacológicas)

Grupo	Medicamento	Clasificación
1	Zidovudina (ZDV)	Inhibidor de la transcriptasa inversa
	Saquinavir	Inhibidor de la proteasa del VIH
	Ritonavir	Inhibidor de la proteasa del VIH
	Claritromicina	Antibiótico
	Interferón α 2a	Inmunomodulador
	Interferón α 2b	Inmunomodulador
2	Sulfato de abacavir	Inhibidor de la transcriptasa inversa
	Amprenavir	Inhibidor de la proteasa
	Ribavirina	Inmunomodulador
	Entecavir	Antivírico para HBV
	Fluoxetina	Antidepresivos ISRS
	Clorhidrato de valaciclovir	Antiviral
3	Tenofovir disoproxilo	Antiviral para HBV/VIH
	Lamivudina	Antiviral para HBV/VIH
	Ganciclovir	Antivírico para CMV
	Valganciclovir	Antivírico para CMV
	Nevirapina	Inhibidor de la transcriptasa inversa
4	Efavirenz	Inhibidor de la transcriptasa inversa
	Lopinavir	Inhibidor de la proteasa
	Enfuvirtida	Inhibidor de la fusión del VIH
	Ciprofloxacino	Antibiótico
	Paroxetina	Antidepresivos ISRS
5	Adefovir (dipivoxil)	Antiviral
	Azitromicina	Antibiótico
	Sulfato de indinavir	Inhibidor de la proteasa del VIH
	Sertralina	Antidepresivos ISRS

Tabla 10: Análisis de interferencias: agentes exógenos y endógenos

Endógena	Conc. media (log ₁₀ UI/ml)	Sesgo (log ₁₀ UI/ml)
Hemoglobina	3,50	0,20
Triglicéridos	3,51	0,09
Bilirrubina	3,56	0,13
Albúmina	3,51	0,17
Exógenos (fármacos)	Conc. media (log ₁₀ UI/ml)	Sesgo (log ₁₀ UI/ml)
Grupo 1: Zidovudina (ZDV), saquinavir, ritonavir, claritromicina, interferón α 2a, interferón α 2b	3,58	0,08
Grupo 2: Sulfato de abacavir, amprenavir, ribavirina, entecavir, fluoxetina, clorhidrato de valaciclovir	3,56	0,04
Grupo 3: Tenofovir disoproxilo, lamivudina, ganciclovir, valganciclovir, nevirapina	3,59	0,06
Grupo 4: Efavirenz, lopinavir, enfuvirtida, ciprofloxacino, paroxetina,	3,60	0,07
Grupo 5: Adefovir (dipivoxil), azitromicina, sulfato de indinavir, sertralina	3,56	0,19
Estado de la enfermedad	Conc. media (log ₁₀ UI/ml)	Sesgo (log ₁₀ UI/ml)
Anticuerpo antinuclear (ANA)	3,61	0,10
Lupus eritematoso sistémico (LES)	3,63	0,10
Artritis reumatoide (AR)	3,57	0,09
Anticuerpos contra HCV	3,58	0,07
Anticuerpos contra HBV	3,64	0,11
Cirrosis alcohólica	3,68	0,15
Factor reumatoide (Rheumatoid Factor, RF)	3,63	0,10
Esteatohepatitis no alcohólica (Non-Alcoholic Steatohepatitis, NASH)	3,49	0,06

Precisión en el laboratorio

La precisión de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip se determinó al analizar un panel de 8 componentes de muestras de HBV que abarcaba los genotipos A y C; para ello, se utilizaron tres NeuMoDx Systems a lo largo de 12 días. Se determinaron las precisiones dentro de la serie, en el día y dentro del sistema, y se determinó que la desviación estándar general fue $\leq 0,22 \log_{10}$ UI/ml. No se determinó la precisión entre operadores, ya que el operador no desempeña un papel importante en el procesamiento de las muestras con el NeuMoDx System. Los resultados de la precisión en el laboratorio se presentan en la *tabla 11*.

Tabla 11: Resultados del estudio de precisión dentro del laboratorio

COMPONENTE DEL PANEL	CONC. DESEADA [log ₁₀ UI/ml]	CONC. MEDIA [log ₁₀ UI/ml]	N	Sesgo	SD en la serie analítica	SD en el día	SD dentro del sistema	SD general
Genotipo A	7,75	7,89	36	0,14	0,06	0,07	0,07	0,07
	5,75	5,83	36	0,11	0,07	0,10	0,10	0,10
	3,75	3,70	36	0,11	0,11	0,13	0,15	0,15
	1,75	1,54	36	0,23	0,16	0,22	0,22	0,22
Genotipo C	6,27	6,23	36	0,10	0,08	0,09	0,10	0,10
	4,27	4,18	36	0,08	0,08	0,10	0,10	0,10
	3,27	3,14	36	0,09	0,08	0,12	0,12	0,12
	2,27	2,08	36	0,12	0,12	0,15	0,16	0,16

Reproducibilidad entre lotes

Se determinó la reproducibilidad entre lotes de la NeuMoDx HBV Quant Test Strip con tres lotes de reactivos clave distintos: NeuMoDx Lysis Buffer 1, NeuMoDx Extraction Plate y NeuMoDx HBV Quant Test Strip. Se usó un panel de 8 componentes de genotipos A y C del HBV para evaluar el rendimiento. El análisis se llevó a cabo con los tres lotes de reactivos en tres NeuMoDx Systems durante 6 días. Se analizó la variabilidad dentro del mismo lote y entre lotes. El sesgo máximo total fue de 0,12 log₁₀ UI/ml y la SD máxima total fue de 0,24 log₁₀ UI/ml. No se observó ninguna diferencia significativa en el rendimiento entre lotes, ya que la cuantificación de todos los componentes del panel estaba dentro de la especificación de la tolerancia. Los resultados de reproducibilidad entre lotes se presentan a continuación en la *tabla 12*.

Tabla 12: Resultados del estudio de reproducibilidad entre lotes

COMPONENTE DEL PANEL	CONC. DESEADA [log ₁₀ UI/ml]	CONC. MEDIA [log ₁₀ UI/ml]	N	Sesgo	SD dentro del lote	SD entre lotes	SD global
Genotipo A	8,02	7,99	36	0,03	0,15	0,09	0,17
	6,02	5,96	36	0,06	0,17	0,06	0,18
	4,02	3,90	36	0,12	0,14	0,09	0,17
	2,02	1,92	36	0,10	0,21	0,12	0,24
Genotipo C	6,27	6,32	36	0,05	0,06	0,08	0,10
	4,27	4,31	36	0,04	0,22	0,09	0,24
	3,27	3,30	36	0,03	0,20	0,07	0,21
	2,27	2,32	36	0,05	0,13	0,13	0,18

Eficacia del control

Se evaluó con dos genotipos comunes de HBV (A y C) la eficacia del SPC1 en el NeuMoDx HBV Quant Assay para notificar cualquier fallo en los pasos del proceso o inhibición que afecte al rendimiento del ensayo NeuMoDx HBV Quant Assay. Las condiciones analizadas son representativas de fallos críticos de los pasos del proceso que podrían producirse durante el procesamiento de las muestras y que *es posible que no sean detectados* por los sensores que supervisan el rendimiento del NeuMoDx System. La efectividad del SPC1 se evaluó simulando las condiciones de dichos fallos. Las ineficiencias del proceso que tuvieron un efecto adverso en la detección o la cuantificación del HBV se reprodujeron en el rendimiento del valor diana del SPC1 (presencia de inhibidor y ausencia de paso Wash [Lavado]). En las condiciones en las que la amplificación del SPC1 no se vio afectada, el análisis del HBV también se amplificó dentro de una cuantificación notificada de 0,2 log₁₀ UI/ml de las muestras de control.

Tabla 13: Efectividad del control de procesos de muestras

Fallo del paso del proceso analizado	Estado de amplificación de control de procesos de muestras	Estado de amplificación deseado del HBV	Resultado del ensayo
Presence of Inhibitor (Presencia de inhibidor)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Delivered (Sin administración de lavado)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Blowout (Sin expulsión de lavado)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive (Positivo) con cuantificación dentro de 0,2 log ₁₀ UI/ml de control

Contaminación cruzada

La tasa de contaminación cruzada del NeuMoDx HBV Quant Assay se determinó mediante el análisis de tres conjuntos de muestras de HBV con muestras negativas y positivas altas alternas. En total, esto incluyó el análisis de 144 réplicas de una muestra normal de plasma humano con EDTA negativo para el HBV y 144 réplicas de una muestra de HBV de valor cuantitativo alto a 8,0 log₁₀ UI/ml. Las 144 réplicas de la muestra negativa fueron negativas, lo que demuestra que no hubo contaminación cruzada durante el procesamiento de las muestras en el NeuMoDx System.

Equivalencia de la matriz de muestra

Se llevaron a cabo análisis para demostrar los resultados equivalentes con muestras de plasma recopiladas en tubos de recogida con ácido etilendiaminotetracético (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) y solución con ácido cítrico, citrato sódico y glucosa (Acid Citrate-Dextrose, ACD). Además, se realizaron análisis para demostrar la equivalencia de muestras entre muestras recién preparadas y congeladas. Se recogieron 40 muestras de donantes individuales procedentes de BioIVT en tubos de recogida con EDTA y ACD. Las muestras recién preparadas se mezclaron con cuatro niveles de genotipo A o C del HBV y se analizó su equivalencia. A continuación, se congelaron las muestras durante un mínimo de 24 horas, se descongelaron y se volvieron a analizar. Se demostró una equivalencia excelente entre las muestras recién preparadas y congeladas y entre las muestras con EDTA y ACD a través del análisis de regresión.

Tabla 14: Resultados del análisis de regresión de equivalencia de muestras

Parámetro [criterios de aceptación]	Fresco frente a congelado	ACD frente a K2EDTA
Pendiente [0,9-1,1]	1,002	0,996
Intersección [<0,5]	-0,031	0,018
Coefficiente de determinación [$R^2 > 0,95$]	0,995	0,993

Se realizaron análisis adicionales para determinar la equivalencia de rendimiento del NeuMoDx HBV Quant Assay utilizando muestras en tubos de recogida principales frente a secundarios. Se procesaron primero los paneles de muestras de donantes negativas para el HBV mezcladas con el analito del HBV (AccuPlex™ HBV Control) de los tubos de muestras principales. El plasma restante de cada muestra se distribuyó en partes alícuotas en un tubo de muestras secundario y se volvió a procesar. No se observó ninguna diferencia significativa en los resultados notificados entre el procesamiento de los tubos de muestras principales y secundarios.

La equivalencia de rendimiento del NeuMoDx HBV Quant Assay en muestras de suero recién preparadas frente a congeladas también se evaluó utilizando un panel de muestras de suero de donantes recién preparadas mezcladas con HBV en concentraciones que abarcaban el intervalo lineal del ensayo. Tras procesar las muestras recién preparadas, las muestras de suero se congelaron durante al menos 24 horas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. A continuación, las muestras congeladas se descongelaron y se analizaron de nuevo. La equivalencia lineal entre las muestras recién preparadas y congeladas se evaluó con los análisis de regresión de Deming y Passing-Bablok. El valor p de regresión de Passing-Bablok de 0,329 (mayor que 0,05) y el coeficiente de correlación de regresión de Deming de 0,989 muestran una excelente equivalencia entre las muestras recién preparadas procesadas y previamente congeladas. Según Bland-Altman, el sesgo entre el estado de recién preparado y congelado supone un valor extremadamente insignificante de $-0,002\text{ log}_{10}\text{ UI/ml}$, lo demuestra la equivalencia del procesamiento de muestras recién preparadas frente a congeladas. Por último, la correlación entre las concentraciones de HBV notificadas por el sistema y las concentraciones esperadas de muestras recién preparadas y congeladas se determinó a través de una regresión lineal simple con valores R^2 notificados de 0,991 y 0,985, respectivamente.

Estabilidad de las muestras

A las muestras de plasma y suero con EDTA negativo para el HBV se les añadió el HBV a $3,7\text{ log}_{10}\text{ UI/ml}$ y se analizaron en momentos diferentes mientras estaban en el NeuMoDx System: de inmediato (hora 0), después de 4 horas, después de 8 horas y después de 24 horas. No se observó ninguna diferencia significativa en el rendimiento en los distintos momentos, lo que indica que una muestra se puede cargar en el NeuMoDx System hasta durante 24 horas sin que el rendimiento del ensayo se vea afectado.

También se realizaron pruebas similares con muestras de plasma y suero almacenadas en el congelador del laboratorio (entre $2\text{ y }8\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 7 días como máximo antes de realizar el análisis y no se observó ninguna diferencia significativa en el rendimiento.

Por último, se analizaron las muestras almacenadas a $\leq -20\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 6 meses (en el caso de plasma) y durante un máximo de 4 meses (en el caso de suero) antes del procesamiento y no mostraron ninguna diferencia significativa en comparación con las muestras recién preparadas. Se repitió el ciclo de congelación y descongelación y, una vez más, se demostró que no hubo ningún cambio en el rendimiento después de 2 ciclos de congelación/descongelación (en el caso del plasma) y 4 ciclos de congelación/descongelación (en el caso de suero).

Correlación del método

Muestras de plasma

Se evaluó el rendimiento cualitativo y cuantitativo del NeuMoDx HBV Quant Assay comparándolo con ensayos comparativos aprobados por la FDA/CE mediante el análisis de las muestras clínicas de plasma no diluidas de pacientes con infección por el HBV. El análisis se realizó internamente en NeuMoDx mediante un estudio con enmascaramiento único usando muestras clínicas obtenidas de tres laboratorios de referencia independientes. Los resultados de un total de 308 muestras positivas y negativas para el HBV se recopilaron en el análisis cualitativo para calcular la sensibilidad y especificidad clínicas del NeuMoDx HBV Quant Assay. El análisis cualitativo se efectuó incluyendo y excluyendo las muestras positivas que se encontraban por debajo del LLoQ, puesto que la clasificación de dichas muestras bajas puede variar en distintas pruebas. Se utilizó un total de 97 muestras clínicas positivas para el HBV dentro del intervalo lineal común para ambas pruebas a fin de generar la regresión lineal y definir el rendimiento cuantitativo. Además de proporcionar excelente sensibilidad y especificidad, la NeuMoDx HBV Quant Test Strip mostró una excelente correlación cuantitativa con el ensayo de comparación. Según estos resultados, se ha calculado que la sensibilidad del NeuMoDx HBV Quant Assay es del 100 % (IC del 96,4 %-100 %) y la especificidad es del 95,6 % (IC del 91,9 %-97,7 %). Estos intervalos de confianza del 95 % se calcularon usando el método de intervalos de confianza del 95 % de EP12-A2, User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, Approved Guideline, Vol 28, No 3.⁶

Tabla 15: Métricas de sensibilidad y especificidad clínicas del NeuMoDx HBV Quant Assay para las muestras de plasma en el NeuMoDx 288 Molecular System

	Ensayo de referencia (POS)	Ensayo de referencia (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	103	9	112
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTAL	103	205	308
SENSIBILIDAD = 100 % IC del 95 % (96,4 %-100 %) ESPECIFICIDAD = 95,6 % IC del 95 % (91,9 %-97,7 %)			

Tabla 16: Métricas de sensibilidad y especificidad clínicas del NeuMoDx HBV Quant Assay en el NeuMoDx 288 Molecular System con muestras de plasma <LLOQ excluidas

	Ensayo de referencia (POS)	Ensayo de referencia (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	99	5	104
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	0	196	196
TOTAL	99	201	300
SENSIBILIDAD = 100 % IC del 95 % (96,3 %-100 %) ESPECIFICIDAD = 97,5 % IC del 95 % (94,3 %-98,9 %)			

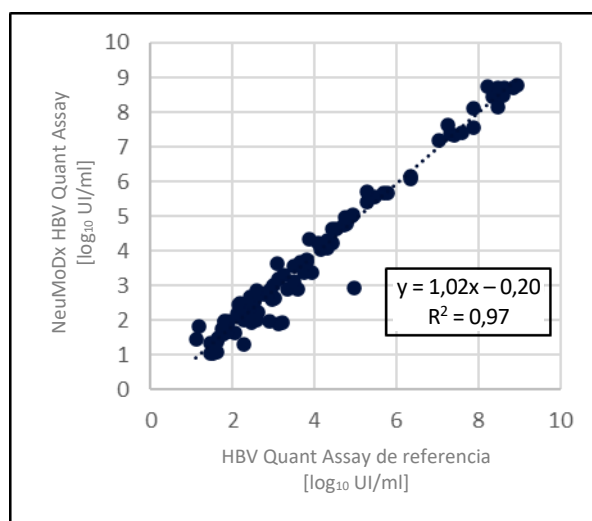


Figura 7: Estudio de correlación del método cuantitativo con el NeuMoDx HBV Quant Assay

Se realizaron pruebas adicionales en el NeuMoDx 96 Molecular System con 159 muestras clínicas de plasma residuales. Al igual que con la prueba anterior realizada en el NeuMoDx 288, se compararon los resultados obtenidos en el NeuMoDx 96 con los resultados notificados de los ensayos aprobados por la FDA y con marcado CE utilizados por parte de los laboratorios de origen para tratamientos habituales. Los resultados incluidos en una tabla de verdad con la sensibilidad y la especificidad clínicas se presentan con un IC del 95 % en la *tabla 17*.

Tabla 17: Resumen de rendimiento clínico: NeuMoDx HBV Quant Assay en el NeuMoDx 96 Molecular System

	Ensayo de referencia (POS)	Ensayo de referencia (NEG)	TOTAL
NeuMoDx HBV Quant Assay (POS)	60	2	62
NeuMoDx HBV Quant Assay (NEG)	1	95	96
TOTAL	61	97	158
SENSIBILIDAD = 98 % IC del 95 % (90 %-100 %) ESPECIFICIDAD = 98 % IC del 95 % (92 %-100 %)			

Muestras de suero

Se evaluó el rendimiento cuantitativo del NeuMoDx HBV Quant Assay comparándolo con ensayos comparativos aprobados por la FDA/CE mediante el análisis de las muestras de suero positivas para el HBV residuales no identificadas de pacientes con infección por el HBV. De manera interna en NeuMoDx, se analizaron un total de 66 muestras de suero positivas para el HBV conocidas obtenidas a partir de dos laboratorios de referencia independientes con el NeuMoDx HBV Quant Assay. De las muestras de suero positivas conocidas analizadas, 58 se identificaron como resultados positivos y nueve (9) de ellas tuvieron resultados por debajo del LLoQ y por encima del ULoQ en el NeuMoDx HBV Quant Assay y/o en la prueba de referencia. Se utilizó un total de 49 muestras clínicas positivas para el HBV dentro del intervalo lineal común para ambas pruebas a fin de generar análisis de regresión para definir el rendimiento cuantitativo.

Se elaboraron los gráficos de equivalencia y residual para representar la correlación entre las concentraciones del NeuMoDx HBV Quant Assay y los valores de concentración de las pruebas de referencia para todas las muestras analizadas con los análisis de regresión de Deming y Passing-Bablok, tal como se muestra en las figuras 8 y 9. La calidad del ajuste de regresión de Deming se indica mediante un coeficiente de pendiente de 0,99 con un IC del 95 % (0,93; 1,07) y una intersección (sesgo) de -0,22 con un IC del 95 % (-0,56; 0,12), lo que muestra que los resultados de la concentración obtenidos entre el NeuMoDx HBV Quant Assay y las pruebas de referencia están altamente correlacionados y con un sesgo aceptable. La calidad del ajuste lineal de Passing-Bablok se indica mediante un coeficiente de pendiente de 0,99 con un IC del 95 % (0,91, 1,06) y una intersección (sesgo) de -0,25 con un IC del 95 % (-0,48, 0,06), lo que muestra que los resultados de la concentración obtenidos entre el NeuMoDx HBV Quant Assay y las pruebas de referencia están altamente correlacionados y con un sesgo aceptable, tal y como se muestra en la *tabla 18*.

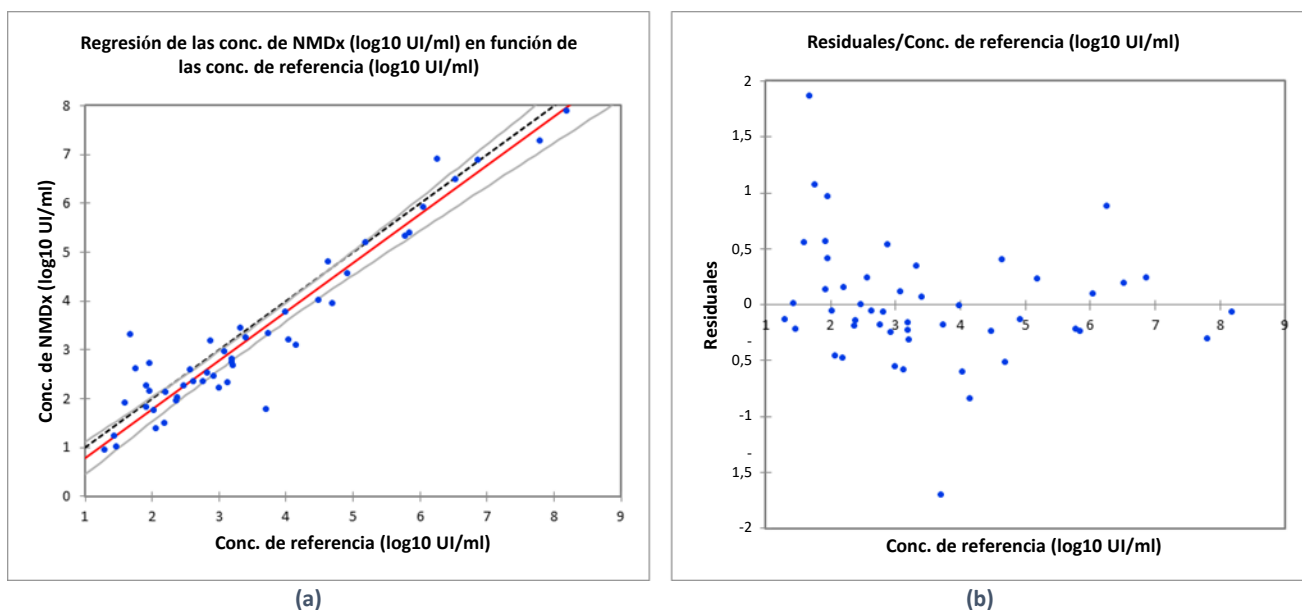


Figura 8: Gráficos de equivalencia (a) y residual (b): análisis acumulado de los resultados de la NeuMoDx HBV Test frente a las pruebas de referencia: análisis de Deming.

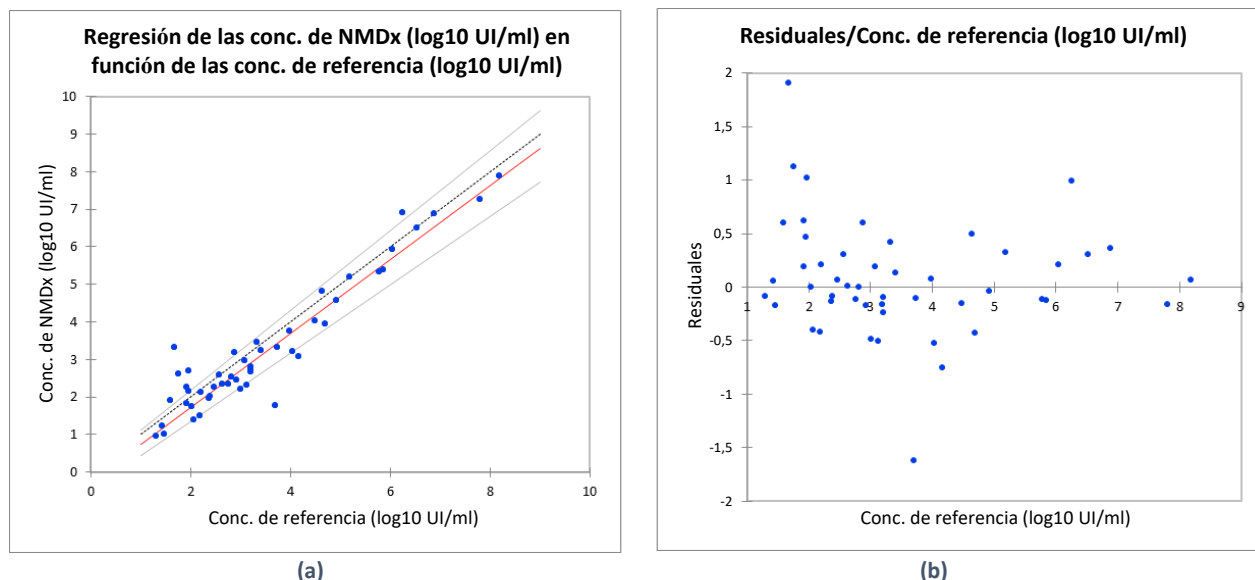


Figura 9: Gráficos de equivalencia (a) y residual (b): análisis acumulativo del NeuMoDx HBV Quant Assay frente a las pruebas de referencia: análisis de Passing-Bablok.

Tabla 18. Resumen del análisis de regresión lineal de Deming y Passing-Bablok para muestras de suero

Análisis de Deming			Análisis de Passing-Bablok		
Intersección	Coefficiente de pendiente	R2	Intersección	Coefficiente de pendiente	valor p
-0,22 IC del 95 % (-0,56; 0,12)	0,99 IC del 95 % (0,93; 1,07)	0,95	-0,25 IC del 95 % (-0,48; 0,06)	0,99 IC del 95 % (0,91; 1,06)	0,89

Pruebas de muestras elaboradas: flujo de trabajo utilizando un volumen de muestra de 200 µl

La correlación cuantitativa entre los flujos de trabajo utilizando un volumen de muestra de 200 µl y 550 µl se confirmó con un panel formado por muestras individuales de suero y plasma negativo para el HBV mezcladas con cuatro niveles conocidos de material de control del HBV según lo establecido por el 4.º estándar internacional de la OMS para ADN del HBV para pruebas de ácidos nucleicos. Estas muestras individuales de suero y plasma se procesaron siguiendo flujos de trabajo para volúmenes de muestra de 550 µl y 200 µl para un total de 288 pruebas realizadas. Las comparaciones de las equivalencias entre la concentración notificada por el software NeuMoDx para los flujos de trabajo con volúmenes de muestras de 200 µl y 550 µl con el panel elaborado se realizaron en base a una muestra individual. Los análisis de regresión de Deming y Passing-Bablok tenían una pendiente de 0,985 y 0,998 con intersecciones de -0,001 y 0,053, respectivamente en plasma, y de 1,024 y 1,018 con intersecciones de 0,095 y 0,070 respectivamente en suero, lo que muestra una excelente concordancia de las cuantificaciones de HBV entre los dos volúmenes de procesamiento. Según una comparación Bland-Altman, el sesgo entre los dos flujos de trabajo fue mínimo. Asimismo, los análisis de regresión lineal simple con la concentración esperada y la concentración notificada para el flujo de trabajo de 200 µl tuvieron una pendiente de 1,047 y un coeficiente de correlación de 0,998 (en el caso de plasma) y de 1,113 y 0,992 (en el caso de suero), lo que confirma una vez más un excelente rendimiento cuando se sigue el flujo de trabajo utilizando un volumen de muestra de 200 µl para el NeuMoDx HBV Quant Assay. A continuación, en la *figura 10* y en la *figura 11* se resumen los resultados de estos estudios.

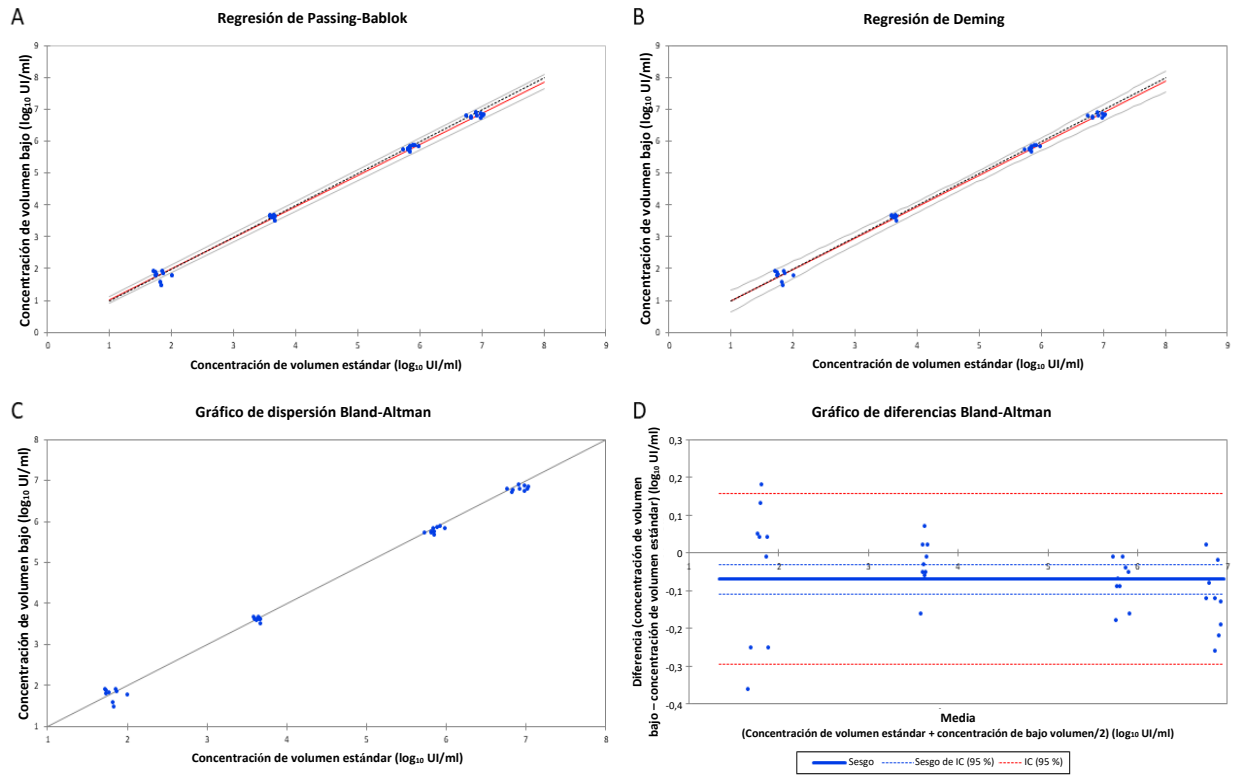


Figura 10: Comparaciones del gráfico de equivalencias entre las concentraciones notificadas de volumen bajo y las concentraciones notificadas de volumen de la muestra estándar. A) Regresión de Passing-Bablok. B) Regresión de Deming. C) Gráfico de dispersión Bland-Altman D) Gráfico de diferencias Bland-Altman: muestras de plasma

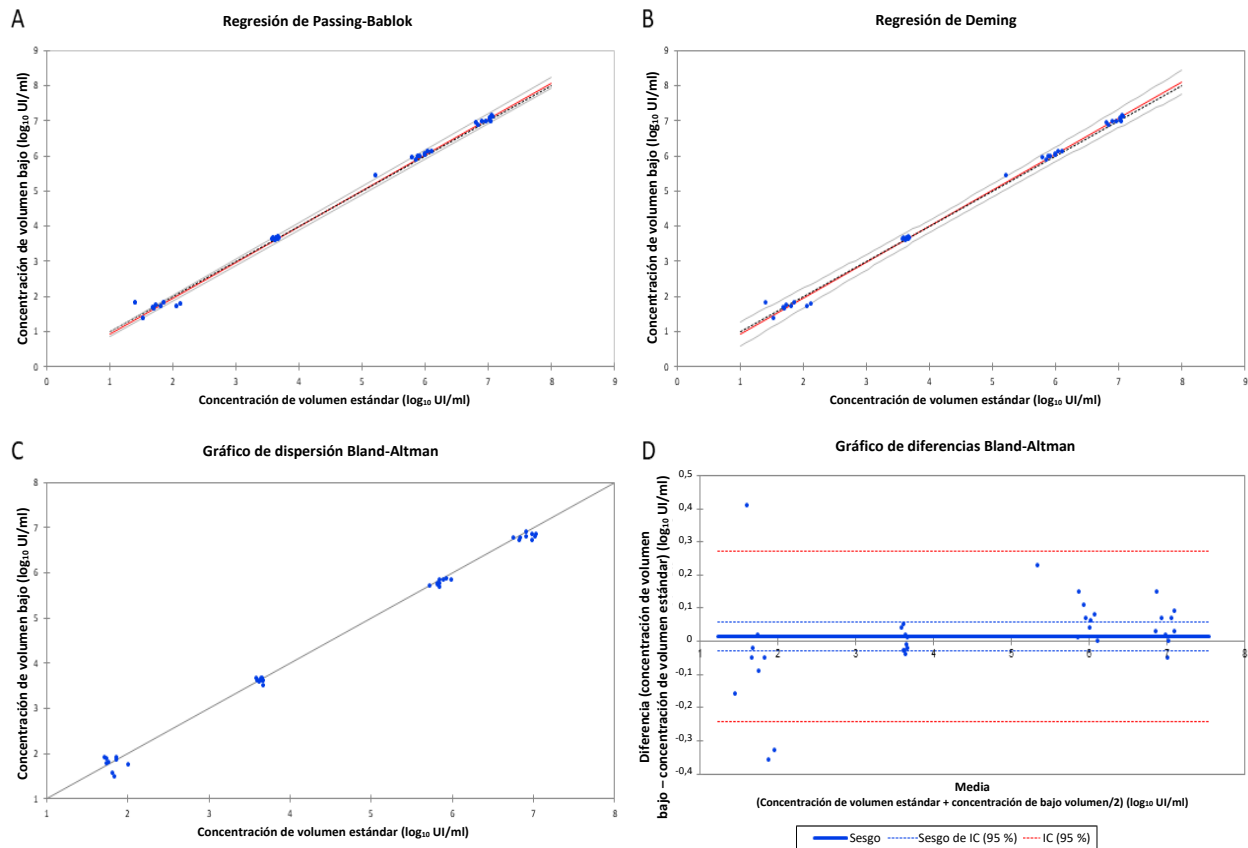


Figura 11: Comparaciones del gráfico de equivalencias entre las concentraciones notificadas de volumen bajo y las concentraciones notificadas de volumen de la muestra estándar. A) Regresión de Passing-Bablok. B) Regresión de Deming. C) Gráfico de dispersión Bland-Altman D) Gráfico de diferencias Bland-Altman: muestras de suero

REFERENCIAS















1. Mother-to-child transmission of hepatitis B virus in sub-Saharan Africa: time to act. Andersson, Monique I et al. The Lancet Global Health, Volume 3, Issue 7, e358 - e359
2. Schillie S, Vellozzi C, Reingold A, et al. Prevention of Hepatitis B Virus Infection in the United States: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR Recomm Rep 2018;67(No. RR-1):1–31. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.rr6701a1>.
3. World Health Organization. Hepatitis B: fact sheet. April 2017. <http://www.who.int> (last accessed 20 November 2017)
4. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009
5. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.
 NeuDry™ es una marca comercial de NeuMoDx Molecular, Inc.
 TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

CLAVE DE SÍMBOLOS

 Rx only	Solo para uso prescriptivo		Límite de temperatura
	Fabricante		No reutilizar
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		Consultar las instrucciones de uso
	Número de referencia		Precaución
	Código de lote		Riesgos biológicos
	Fecha de caducidad		Marca CE



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Patrocinador (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands

 2797

Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents