

14. Package Insert

(enclosed)



LIAISON® XL MUREX HCV Ab (310240)

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

El ensayo LIAISON® XL MUREX HCV Ab emplea la tecnología de la quimioluminiscencia (CLIA) en un ensayo inmunológico para la determinación cualitativa de los anticuerpos específicos contra el virus de la hepatitis C (anti-HCV) en muestras de suero o plasma humano.

El ensayo debe realizarse sólo en la serie de instrumentos LIAISON® XL.

2. SUMARIO Y EXPLICACIÓN DEL TEST

El virus de la hepatitis C (HCV) fue reconocido en 1988 como el agente etiológico principal de la hepatitis no A, no B (NANB), responsable del 80-90% de los casos de hepatitis por transfusión. HCV es un virus ubicuário con RNA de hélice simple de polaridad positiva.

Los pacientes afectados por la hepatitis C pueden, al inicio, presentar una fase aguda de la enfermedad leve o sin más asintomática; por el contrario, más del 80% de los individuos que han contraído la enfermedad desarrollan una hepatitis crónica que puede convertirse con el tiempo en cirrosis hepática y en carcinoma de células hepáticas.

El virus HCV se transmite sobre todo por vía parenteral (transfusiones, hemodiálisis, uso de drogas por vía endovenosa). Los anticuerpos anti-HCV se han encontrado no sólo en los pacientes con hepatitis C aguda y crónica, sino también en numerosos donantes asintomáticos después de que se había observado la seroconversión del paciente receptor.

La selección de los anticuerpos anti-HCV, tiene, por lo tanto, el objeto de reducir el riesgo de transmitir la infección por HCV, si bien su presencia no constituya un diagnóstico de hepatitis C.

Este ensayo inmunológico utiliza polipéptidos del virus HCV capaces de reconocer anticuerpos dirigidos contra HCV. Los polipéptidos corresponden a sitios altamente antigénicos de las regiones estructural y no estructural del virus HCV.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

El método para la determinación cualitativa de IgG específica anti-virus de la hepatitis C (HCV) es un ensayo indirecto basado en el principio de la quimioluminiscencia (CLIA). Dos antígenos recombinantes (core y NS4) específicos para HCV se emplean para recubrir las partículas magnéticas (fase sólida) y un tercer antígeno de HCV (NS3 biotinilado) se suministra liofilo, como reactivo separado. Durante la primera incubación, el antígeno biotinilado es capturado por las partículas magnéticas recubiertas con estreptavidina y los anticuerpos anti-HCV presentes en el calibrador, en las muestras o en los controles enlazan la fase sólida a través de los antígenos recombinantes de HCV. Durante la segunda incubación, un anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgG humana enlazado a un derivado del isoluminol (conjugado anticuerpo-isoluminol) reacciona con la IgG anti-HCV ya enlazada a la fase sólida. Después de cada incubación, se elimina el material no enlazado mediante un ciclo de lavado.

A continuación, se añaden los reactivos starter que inducen una reacción de quimioluminiscencia. La señal luminosa, y por lo tanto la cantidad de conjugado anticuerpo-isoluminol, se mide con un fotomultiplicador en unidades relativas de luz (RLU, relative light units) e indica la presencia de IgG anti-HCV en el calibrador, en las muestras o en los controles.

4. MATERIALES SUMINISTRADOS

Integral de reactivos

Partículas magnéticas (2,5 mL)	Partículas magnéticas recubiertas con antígenos recombinantes de HCV core y NS4 (obtenidos respectivamente en baculovirus y <i>E. coli</i>), partículas magnéticas recubiertas con estreptavidina, albúmina sérica bovina, tampón PBS, EDTA, conservantes.
Calibrador (3,9 mL)	Antisuero diluido que contiene niveles bajos de anticuerpos anti-HCV, albúmina sérica bovina, tampón PBS, EDTA, 0,2% ProClin® 300 y un colorante amarillo inactivo.
Diluyente de muestras (18,5 mL)	Albúmina sérica bovina, caseína, proteína recombinante no específica (obtenida en <i>E. coli</i>), tampón fosfato, EDTA, conservantes y un colorante azul inactivo.
Conjugado (18,5 mL)	IgG monoclonal de ratón anti-IgG humana conjugada con un derivado del isoluminol, suero bovino fetal, tampón fosfato, 0,2% ProClin® 300, conservantes y un colorante rojo inactivo.
Número de ensayos	100

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. El orden de los reactivos refleja el orden con el que se han ensamblado los contenedores en el integral de reactivos.

En el kit se incluyen:

Antígeno NS3 de HCV	Antígeno recombinante NS3 de HCV biotinilado (obtenido en <i>E. coli</i>), tampón MES (reactivo liofilizado, cápsula azul).
Tampón K (3,7 mL)	Tampón MES, conservantes (reactivo listo para su uso, cápsula marrón).

Materiales requeridos, pero no suministrados

LIAISON® XL Cuvettes (código X0016).
LIAISON® XL Disposable Tips (código X0015).
LIAISON® XL Starter Kit (código 319200).
LIAISON® Wash/System Liquid (código 319100).
LIAISON® XL Waste Bags (código X0025).

Otros materiales requeridos

Controles LIAISON® XL MUREX HCV Ab (negativo y positivo) (código 310241).

5. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

Todas las unidades de suero y plasma humano utilizadas para la fabricación de los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivas para la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y anti-HIV-2, excepto el control positivo, que es reactivo para anticuerpos anti-HCV. Las unidades positivas para anticuerpos anti-HCV se han tratado mediante calentamiento (60°C por una hora) durante el proceso productivo. Pueden provenir de pacientes infectados con HCV y por lo tanto han de considerarse potencialmente infecciosas.

Sin embargo, visto que ningún método de análisis puede asegurar que los agentes patógenos estén ausentes, todo el material de origen humano se deberá considerar potencialmente infeccioso y manipularlo como tal.

6. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume o se maquille durante la ejecución del ensayo.

No pipetee las soluciones con la boca.

Evite el contacto directo con el material potencialmente infeccioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera, cada gota de reactivo se debe eliminar con una solución de hipoclorito sódico al 5% y el medio utilizado se deberá tratar como material residuo potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos del kit y los materiales usados para efectuar el ensayo se deben considerar capaces de transmitir agentes infecciosos; por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las regulaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país. El material desechable deberá ser incinerado; los residuos líquidos deberán ser descontaminados con una solución de hipoclorito sódico a una concentración final del 5% durante media hora como mínimo. Cualquier material que pueda ser reutilizado deberá ser tratado en autoclave con un tratamiento de exceso (*overkill*) (USP 24, 2000, p. 2143). Generalmente se considera que una hora a 121°C es un tiempo de esterilización adecuado; sin embargo se recomienda a cada usuario que verifique la eficacia del ciclo de descontaminación mediante una validación inicial y el uso rutinario de indicadores biológicos.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:

R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

S 24 - Evítense el contacto con la piel.

S 37 - Úsense guantes adecuados.

S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

7. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

INTEGRAL DE REACTIVOS

Observe escrupulosamente las siguientes precauciones importantes para manipular los reactivos:

Resuspensión de las partículas magnéticas

Las partículas magnéticas deben estar completamente resuspendidas antes de colocar el integral en el instrumento. Siga los pasos indicados a continuación para garantizar la suspensión completa de las partículas:

Antes de quitar la protección de los contenedores, gire hacia adelante y hacia atrás la ruedecilla dentada situada por debajo del contenedor de las partículas magnéticas hasta que la suspensión adopte una coloración morena. Agite horizontalmente el integral de reactivos con delicadeza y sumo cuidado para favorecer la suspensión de las partículas magnéticas (evite la formación de espuma). Controle visualmente el fondo del contenedor de las partículas magnéticas para cerciorarse de que no hayan quedado partículas magnéticas sedimentadas. Seque con sumo cuidado la superficie de cada pared para eliminar el líquido residual.

Si es necesario, repita el procedimiento hasta la completa resuspensión de las partículas magnéticas.

Formación de espuma en los reactivos

Para garantizar las mejores prestaciones del integral, se recomienda evitar la formación de espuma en los reactivos. Observe las recomendaciones siguientes para evitarla:

Antes de usar el integral, controle visualmente los reactivos, especialmente el calibrador (situado en la segunda posición del integral, después del contenedor de las partículas magnéticas) para excluir la presencia de espuma. Si se observa la presencia de espuma después de la resuspensión de las partículas magnéticas, coloque el integral en el instrumento y deje que se disuelva la espuma. Colocar el integral en el área de los reactivos del instrumento cuando se ha disuelto la espuma.

Cargar el integral en el área de los reactivos del instrumento

– El instrumento LIAISON® XL está dotado de un dispositivo magnético interno, en estado sólido, que favorece la dispersión de las micropartículas antes de colocar un integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para los detalles técnicos.

a. Coloque el integral de reactivos en la ranura específica.

b. Deje descansar el integral de reactivos en el dispositivo magnético en estado sólido por al menos 30 segundos (hasta varios minutos). Si es necesario, repita la operación.

- Luego coloque el integral de reactivos en el área de los reactivos del instrumento con la etiqueta situada a la izquierda y déjelo agitar durante 15 minutos antes del uso. Durante este tiempo las partículas magnéticas serán mantenidas en agitación automáticamente para garantizar una resuspensión completa.
- Hágase referencia al manual operativo del instrumento para cargar las muestras e iniciar el ensayo.

ANTÍGENO NS3 DE HCV

El antígeno NS3 del kit LIAISON® XL MUREX HCV Ab se suministra liofilizado. El reactivo es específico para el lote de kit y debe utilizarse sólo con el lote de integral de reactivos al que está asociado. El instrumento LIAISON® XL controla automáticamente que sea correcta la asociación entre integral de reactivos y antígeno NS3. El reactivo permite efectuar al menos 100 ensayos. **No juntar el contenido de diferentes frascos de antígeno NS3, aunque estos formen parte del mismo lote.**

- Reconstituya el contenido del frasco con 3,5 mL de tampón K.
- Agite delicadamente el frasco por inversión manteniéndolo bien cerrado con tapón y cápsula. Evite la formación de espuma.
- Espere durante 10-15 minutos a 18-25°C la disolución completa.
- La solución reconstituida de antígeno debe colocarse en el área de los reactivos accesorios del instrumento inmediatamente antes del uso. Después del uso, sustituya la cápsula y conserve a 2-8°C. Después de la apertura y reconstitución, el reactivo se mantiene estable por cuatro semanas si se conserva refrigerado a 2-8°C entre dos usos sucesivos.

Para el uso detallado del reactivo en el área de los reactivos accesorios del instrumento, hágase referencia al manual operativo del instrumento LIAISON® XL.

CONTROLES

Hágase referencia a las instrucciones del juego de controles LIAISON® XL MUREX HCV Ab para preparar y manipular los controles.

8. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DEL INTEGRAL DE REACTIVOS

- **Sellado:** Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
- **Abierto en el instrumento o a 2-8°C:** Estabilidad mínima cuatro semanas.
- Use las gradillas suministradas con el instrumento LIAISON® XL para la conservación del integral de reactivos en posición vertical.
- No congele.
- Mantenga el integral de reactivos en posición vertical durante la conservación para facilitar la resuspensión de las partículas magnéticas.
- Mantenga protegido de la luz directa.

9. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

El ensayo se puede efectuar en muestras de suero o plasma humano (incluido el suero recogido con tubos para la separación del suero). Se pueden utilizar anticoagulantes como el citrato sódico, el EDTA potásico, la heparina sódica o de litio, el oxalato potásico, el ACD (citrato-dextrosa ácido), el CPDA (citrato-fosfato-dextrosa-adenina). En el ensayo es fundamental utilizar el tipo adecuado de muestra. Recoja la sangre mediante punción venosa, déjela coagular y separe el suero del coágulo lo antes posible. Al utilizar recipientes para la recogida y la separación del plasma con gel, siga al pie de la letra las instrucciones del fabricante. Clarifique por filtración o centrifugación antes del ensayo las muestras que presenten material en suspensión, opalescencia, lipemia o residuos eritrocitarios. No use muestras fuertemente hemolizadas o lipémicas, ni muestras que presenten material suspendido o evidente contaminación microbiana (para los detalles véase el §15.1). Elimine las eventuales burbujas de aire que pueda haber antes del ensayo. Si el ensayo se lleva a cabo dentro de los siete días sucesivos a la recogida, las muestras se pueden conservar a 2-8°C. En caso contrario, se deben subdividir en alícuotas congeladas a -20°C o a temperaturas inferiores. Si las muestras han sido descongeladas, agítelas con cuidado antes de realizar el ensayo. Diez muestras de suero o plasma de diferente reactividad se han conservado durante siete días a 2-8°C y se han sometido a cinco ciclos de congelación y descongelación. Los resultados no han presentado diferencias significativas; sin embargo se aconseja evitar ciclos repetidos de congelación y descongelación. El volumen mínimo de muestra necesario para una determinación es 175 µL (25 µL de muestra + 150 µL de volumen muerto).

10. CALIBRACIÓN

El ensayo del calibrador contenido en el integral de reactivos permite determinar el valor límite (cut-off) del test. La solución de calibrador permite realizar seis calibraciones.

La calibración debe realizarse en triplicado cada vez que se verifique al menos una de las siguientes condiciones:

- Se usa un nuevo lote de reactivos starter.
- Se usa un nuevo integral de reactivos.
- El instrumento ha sufrido una intervención de asistencia técnica.
- Los valores de los controles están fuera de los rangos esperados.

11. PROCEDIMIENTO OPERATIVO

Para obtener unas prestaciones analíticas ideales hay que respetar estrictamente las instrucciones del manual operativo del instrumento. Cada parámetro del test es identificado mediante informaciones codificadas en el Tag para identificación de radiofrecuencia (Radio Frequency Identification transponder, RFID Tag) en el integral de reactivos. Si el RFID Tag no funciona correctamente, el integral no puede ser usado y debe descartarse. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada.

El instrumento realiza las operaciones siguientes:

1. Distribuye el diluyente de muestras en las cubetas de reacción.
2. Distribuye las partículas magnéticas recubiertas.
3. Distribuye calibrador, controles o muestras.
4. Distribuye el antígeno NS3 reconstituido.
5. Incuba.
6. Lava con el líquido de lavado.
7. Distribuye el conjugado en las cubetas de reacción.
8. Incuba.
9. Lava con el líquido de lavado.
10. Añade los reactivos starter y mide la luz emitida.

12. CONTROL DE CALIDAD

Los controles LIAISON® XL se deben analizar individualmente para evaluar las prestaciones del test. El control de calidad se debe realizar analizando los controles LIAISON® XL MUREX HCV Ab

(a) por lo menos una vez por cada día de trabajo, antes de realizar el ensayo,

(b) cuando se usa un nuevo integral de reactivos,

(c) cuando se calibra el kit,

(d) cuando se usa un nuevo lote de reactivos starter,

(e) cuando se usa un frasco nuevo de antígeno NS3, o según las disposiciones legislativas y las reglamentaciones vigentes en cada país.

Los valores de los controles tienen que estar comprendidos entre los rangos esperados: cada vez que uno o ambos valores estén fuera de los rangos esperados habrá que volver a efectuar la calibración y probar de nuevo los controles. Si los valores experimentales de los controles estén fuera de los rangos predefinidos después de la calibración, habrá que repetir el test usando un frasco de control no abierto. Si los valores de los controles estén fuera de los rangos esperados, los resultados de las muestras no deben ser notificados.

Las prestaciones de otros controles se deben evaluar para asegurar su compatibilidad con este test antes del uso. Por lo tanto es indispensable establecer los intervalos de los valores de los materiales usados para el control de calidad.

13. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La presencia o ausencia de anticuerpos anti-HCV en las muestras se determina comparando la señal de la reacción de quimioluminiscencia con el valor límite (cut-off) suministrado por la calibración del ensayo. El instrumento calcula automáticamente la relación entre la señal y el valor límite (signal-to-cutoff ratio, S/CO) y clasifica los resultados. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada.

Los resultados de las muestras deben ser interpretados como sigue:

Las muestras con relación entre la señal y el valor límite por debajo de 1,00 se deben clasificar *no reactivas* para anticuerpos anti-HCV.

Las muestras con relación entre la señal y el valor límite igual o por encima de 1,00 se deben clasificar *reactivas* para anticuerpos anti-HCV.

Repetir en duplicado el test de las muestras que resulten reactivas en el primer análisis. Si una muestra resulta repetidamente reactiva, la posibilidad que se encuentre anticuerpos anti-HCV es elevada. Sin embargo, como en todos los test diagnósticos, el ensayo LIAISON® XL MUREX HCV Ab a veces puede originar reacciones no específicas debidas a otras causas. Una muestra repetidamente reactiva debe ser analizada nuevamente con otros ensayos sensibles para HCV, como los test inmunoblot y los test para la determinación del ácido nucleico de HCV.

14. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Para obtener resultados fiables es necesario atenerse estrictamente a las instrucciones de utilización y poseer una adecuada técnica manual.

La contaminación bacteriana de las muestras o la inactivación mediante calentamiento pueden modificar los resultados del análisis.

Atención - Este test es adecuado sólo para el análisis de muestras individuales y no para muestras diluidas, pools (combinaciones) de muestras o muestras inactivadas por calentamiento.

Un resultado no reactivo para anticuerpos anti-HCV no excluye la posibilidad de una exposición al virus HCV o de una infección con el virus de la hepatitis C. En efecto, los niveles de anticuerpos del individuo pueden ser inferiores al límite de detección del test. Sin embargo, el diagnóstico de una enfermedad infecciosa no se debe formular en base al resultado de un solo ensayo, sino que éste se debe validar con otras pruebas clínicas, procedimientos diagnósticos y con la opinión del médico. Un enfoque completo para el diagnóstico diferencial de la hepatitis C y de las condiciones clínicas relacionadas prevé el estudio del historial clínico y del estado inmunitario del paciente.

Las muestras de los pacientes tratados con vitamina H (biotina) pueden interferir en un ensayo inmunológico basado en el uso de reactivos biotinilados y, por lo tanto, sus resultados se deberán evaluar con cuidado (para los detalles véase el §15.1).

15. PRESTACIONES METODOLÓGICAS DEL KIT

15.1. Especificidad analítica

La especificidad analítica se define como la capacidad que tiene el test para detectar exactamente el analito ante la presencia de factores potencialmente interferentes en la matriz de la muestra (por ejemplo, anticoagulantes, hemolisis, efectos de tratamientos de la muestra) o de reacciones cruzadas con anticuerpos potencialmente interferentes.

Interferencias. Estudios controlados sobre los factores potencialmente interferentes han demostrado que las prestaciones del test no están influenciadas por anticoagulantes (citrato sódico, EDTA potásico, heparina sódica o de litio, oxalato potásico, ACD, CPDA), hemolisis (hasta 1000 mg/dL de hemoglobina), lipemia (hasta 3000 mg/dL de triglicéridos), bilirrubinemia (hasta 20 mg/dL de bilirrubina), niveles séricos de vitamina H hasta 10 ng/mL o por pocos ciclos de congelación y descongelación de las muestras. Los resultados no están influidos por el uso de muestras positivas apenas recogidas como demuestra un estudio comparativo realizado en 25 muestras.

Reacciones cruzadas. Las reacciones cruzadas del ensayo LIAISON® XL MUREX HCV Ab se estudiaron para evaluar las interferencias potenciales por parte de anticuerpos dirigidos contra otros organismos que pueden causar enfermedades infecciosas (EBV, hCMV, virus de la rubéola, parvovirus B19, *Toxoplasma gondii*, *Treponema pallidum*, *Borrelia burgdorferi*, HSV, VZV, HAV, HBV, HIV, HTLV-I/II), así como también por parte de otras condiciones que derivan de una actividad atípica del sistema inmunitario (autoanticuerpos anti-nucleares, factor reumatoide, anticuerpos humanos anti-ratón [HAMA, human anti-mouse antibodies]). Las muestras para estos estudios se ensayaron anteriormente con otro ensayo para anti-HCV comercializado y si resultaron negativas para la presencia de anticuerpos anti-HCV, se utilizaron para estudiar las reacciones cruzadas potenciales. La presencia de potenciales anticuerpos interferentes en las muestras ha sido detectada con ensayos de marca CE. La especificidad observada en las muestras potencialmente interferentes es comparable con la de la población abierta.

Condición	Número de muestras esperadas negativas	Resultados positivos con LIAISON® XL
Anticuerpos IgG anti-hCMV	15	0
Anticuerpos IgG anti-EBV (VCA)	15	0
Anticuerpos IgG anti-HSV-1/2	15	0
Anticuerpos IgG anti-virus de la rubéola	15	0
Anticuerpos IgG anti-parvovirus B19	15	0
Anticuerpos IgG anti-VZV	15	0
HBsAg	6	0
Antígeno p24 de HIV y anticuerpos anti-HIV	5	0
Anticuerpos anti-HAV	5	0
Anticuerpos anti-HTLV-I/II	8	0
Anticuerpos IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i>	10	0
Anticuerpos IgG anti- <i>Toxoplasma gondii</i>	15	0
Anticuerpos anti- <i>Treponema pallidum</i>	13	0
Factor reumatoide (inmunoglobulinas anti-Fc)	10	0
Autoanticuerpos anti-nucleares (ANA)	33	1
Anticuerpos humanos anti-ratón (HAMA)	16	0
Anticuerpos anti- <i>E. coli</i>	5	0
Total	216	1

15.2. Precisión

La repetibilidad y la reproducibilidad del ensayo (es decir las variaciones intra-ensayo e inter-ensayo) han sido determinadas utilizando muestras en diferentes concentraciones de analito. Los resultados se refieren a los grupos de pacientes tomados en consideración; no se trata de prestaciones garantizadas porque pueden existir diferencias entre los diferentes laboratorios.

Repetibilidad. Para evaluar la repetibilidad se han analizado veinte replicados en la misma sesión analítica en el laboratorio donde se desarrolló el kit.

Repetibilidad	A	B	D	E	C	Control negativo	Control positivo
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,40	1,69	1,99	2,62	2,65	0,04	3,63
Desviación estándar (S/CO)	0,05	0,08	0,14	0,04	0,16	0,002	0,19
Coefficiente de variación (%)	3,7	4,7	6,9	1,7	6,2	4,2	5,4
Valor mínimo (S/CO)	1,33	1,52	1,85	2,53	2,41	0,04	3,02
Valor máximo (S/CO)	1,54	1,84	2,43	2,71	2,96	0,05	3,89

Reproducibilidad. Para evaluar la reproducibilidad se han analizado veinte determinaciones en días diferentes (una o dos sesiones analíticas al día) utilizando tres lotes diferentes de integral. Los ensayos se realizaron utilizando dos instrumentos.

Reproducibilidad - Instrumento 1	A	B	D	E	C	Control negativo	Control positivo
LOTE Nr. 01							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,21	1,53	1,74	2,32	2,54	0,03	3,16
Desviación estándar (S/CO)	0,05	0,08	0,10	0,24	0,14	0,003	0,15
Coefficiente de variación (%)	4,0	5,4	5,5	10,1	5,4	9,9	4,7
Valor mínimo (S/CO)	1,13	1,41	1,60	1,81	2,33	0,02	2,85
Valor máximo (S/CO)	1,31	1,69	1,91	2,60	2,85	0,04	3,53
LOTE Nr. 02							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,16	1,43	1,60	2,20	2,34	0,02	2,98
Desviación estándar (S/CO)	0,08	0,12	0,12	0,18	0,18	0,003	0,20
Coefficiente de variación (%)	6,5	8,6	7,7	8,2	7,7	11,2	6,8
Valor mínimo (S/CO)	1,04	1,19	1,42	1,77	2,07	0,02	2,61
Valor máximo (S/CO)	1,29	1,62	1,81	2,52	2,70	0,03	3,26
LOTE Nr. 03							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,17	1,44	1,65	2,17	2,30	0,03	2,97
Desviación estándar (S/CO)	0,10	0,12	0,14	0,22	0,17	0,004	0,21
Coefficiente de variación (%)	8,4	8,3	8,3	10,1	7,4	12,9	7,0
Valor mínimo (S/CO)	1,03	1,24	1,44	1,74	1,98	0,02	2,68
Valor máximo (S/CO)	1,35	1,65	1,93	2,56	2,59	0,04	3,36
Coefficiente de variación inter-lotes (%)	6,3	7,4	7,2	9,5	6,9	11,3	6,2

Reproducibilidad - Instrumento 2	A	B	D	E	C	Control negativo	Control positivo
LOTE Nr. 01							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,11	1,37	1,49	2,03	2,19	0,02	2,82
Desviación estándar (S/CO)	0,05	0,06	0,12	0,19	0,11	0,002	0,15
Coefficiente de variación (%)	4,2	4,6	8,2	9,5	5,2	7,4	5,4
Valor mínimo (S/CO)	1,03	1,17	1,09	1,48	1,96	0,02	2,60
Valor máximo (S/CO)	1,20	1,49	1,69	2,22	2,43	0,03	3,09
LOTE Nr. 02							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,12	1,37	1,47	2,03	2,16	0,03	2,73
Desviación estándar (S/CO)	0,08	0,09	0,11	0,16	0,11	0,01	0,16
Coefficiente de variación (%)	6,8	6,4	7,1	7,7	5,0	18,4	5,8
Valor mínimo (S/CO)	1,01	1,26	1,32	1,62	1,98	0,02	2,43
Valor máximo (S/CO)	1,25	1,56	1,66	2,29	2,37	0,03	3,16
LOTE Nr. 03							
Número de determinaciones	20	20	20	20	20	20	20
Media (S/CO)	1,09	1,31	1,49	2,04	2,11	0,03	2,69
Desviación estándar (S/CO)	0,06	0,12	0,08	0,15	0,13	0,002	0,18
Coefficiente de variación (%)	5,9	8,9	5,5	7,3	6,2	8,2	6,5
Valor mínimo (S/CO)	1,00	1,08	1,31	1,71	1,89	0,02	2,20
Valor máximo (S/CO)	1,22	1,54	1,62	2,25	2,30	0,03	2,96
Coefficiente de variación inter-lotes (%)	5,6	6,7	7,0	8,2	5,5	11,3	5,9

15.3. Efecto saturación con altas concentraciones

Cuando se ensayen muestras que contengan unas concentraciones de anticuerpos sumamente elevadas, se pueden obtener unos niveles aparentes de anticuerpo inferiores al nivel real por efecto de la saturación. Sin embargo, un sistema bien optimizado con dos incubaciones excluye que se obtengan resultados subestimados, porque la señal analítica permanece siempre elevada (curva a saturación).

La presencia de un efecto prozona se ha evaluado analizando seis muestras positivas para anti-HCV con alto título. Todas las muestras han presentado unos valores de señal muy elevado, como se espera de las muestras con alto título, indicando que la clasificación de las muestras es correcta.

16. DATOS CLÍNICOS

La especificidad y la sensibilidad diagnósticas han sido evaluadas de acuerdo con la versión actualizada de las Especificaciones Técnicas Comunes (Common Technical Specification, CTS), publicada el 27 de noviembre 2009 (Art. 5, §3 de la Directiva IVD 98/79/EC). Los resultados se refieren a los grupos de pacientes tomados en consideración; no se trata de prestaciones garantizadas porque pueden existir diferencias entre los diferentes laboratorios.

16.1. Especificidad diagnóstica

Se ha realizado un estudio analizando un total de 5.274 muestras de suero y plasma recogidas en dos centros de donación de sangre (incluidas 100 muestras de donantes que lo donaban por primera vez). Las muestras analizadas eran muestras esperadas negativas provenientes de una población no seleccionada de donantes de sangre con prevalencia de infección por HCV equivalente a cero. El ensayo muestra una especificidad diagnóstica superior a 99,5% (intervalo de confianza al 95%: 99,51-99,83%). También se han analizado otras muestras no seleccionadas provenientes de pacientes hospitalizados, pacientes dializados, mujeres embarazadas y de individuos de alto riesgo (hemofílicos, tóxico dependientes por vía intravenosa, sujetos sometidos a transfusiones múltiples y pacientes con enfermedades venéreas). Los datos de estos estudios están resumidos en la Tabla I (95% CI = intervalo de confianza al 95%). Las muestras positivas han sido confirmadas con un kit de referencia con marca CE.

Tabla I - Especificidad diagnóstica.

Población	Número de casos	Muestras inicialmente reactivas, n	Muestras repetidamente reactivas, n	Especificidad diagnóstica, %	Especificidad diagnóstica, 95% CI
Donantes de sangre	5274	17	16	99,70 (5258/5274)	99,51-99,83
Pacientes hospitalizados	395	4	2	99,49 (393/395)	98,18-99,94
Pacientes dializados	181	3	1	99,45 (180/181)	96,96-99,99
Mujeres embarazadas	100	1	*1	100,0 (99/99)	96,34-100,0
Sujetos de alto riesgo	134	2	0	100,0 (134/134)	97,29-100,0

* Muestra clasificada como indeterminada con el ensayo de confirmación.

16.2. Sensibilidad diagnóstica

La sensibilidad diagnóstica se ha evaluado analizando 678 muestras provenientes de individuos preseleccionados con diagnóstico de infección aguda (n = 20) o crónica (n = 40) por HCV o positivos para anticuerpos anti-HCV (294 de estos pacientes incluyen los genotipos 1, 2, 3, 4, 4 no a, 5 y 6). La sensibilidad diagnóstica de este estudio es 100% (intervalo de confianza al 95%: 99,46-100%).

En otro estudio la capacidad del test LIAISON® XL MUREX HCV Ab de detectar anticuerpos anti-HCV se ha evaluado analizando muestras recogidas en forma secuencial de 32 paneles de seroconversión provenientes de donantes que se han seroconvertido en algún momento de la vida. Se han utilizado paneles comercializados, preparados para anticuerpos anti-HCV, con una recogida negativa inicial e intervalos cortos entre las recogidas sucesivas. Los paneles también se han analizado con un kit de referencia con marca CE para el ensayo de anti-HCV. Los resultados muestran que el ensayo LIAISON® XL MUREX HCV Ab ha detectado anticuerpos anti-HCV de dos a tres días (una recogida) antes del kit de referencia en tres paneles de 32, mientras que el kit de referencia ha detectado anticuerpos anti-HCV de dos a siete días (una recogida) antes en tres paneles de 32. Los dos ensayos han mostrado una capacidad de detección equivalente en 26 de 32 paneles.

La sensibilidad diagnóstica del test para la detección de la infección precoz por HCV es por lo tanto sustancialmente equivalente a la de los kit con tecnología de vanguardia.

1. FINALIDAD DEL ENSAYO

Los controles LIAISON® XL MUREX HCV Ab (negativo y positivo) deben ser usados en los ensayos de quimioluminiscencia (CLIA) LIAISON® para verificar la fiabilidad de los ensayos. Las prestaciones metodológicas de los controles LIAISON® XL MUREX HCV Ab no son definidas con otros ensayos o instrumentos automáticos diferentes que LIAISON® XL.

Los códigos de barras del certificado de análisis contienen informaciones específicas sobre el lote de los controles que deben ser leídos por el lector manual de los códigos de barras del instrumento LIAISON® XL antes de cargar los frascos de los controles en el instrumento. Hágase referencia al manual operativo del instrumento para una información más detallada.

2. MATERIALES SUMINISTRADOS

Control negativo (2 x 1,0 mL)	Suero/plasma humano no reactivo para antígenos y anticuerpos de HCV, 0,2% ProClin® 300 y conservantes.
Control positivo (2 x 1,0 mL)	Suero/plasma humano inactivado reactivo para anticuerpos anti-HCV, 0,2% ProClin® 300 y conservantes.

Todos los reactivos se suministran listos para su uso. El intervalo de los valores para cada control está impreso en el certificado de análisis e indica los límites definidos por DiaSorin para los valores de los controles obtenidos con test fiables. Cada laboratorio es responsable de adoptar límites diferentes para cumplir exigencias específicas.

3. ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
- Los controles no son específicos para lote de kit. Se pueden intercambiar también con lotes diferentes de integral de reactivos.
- Todos los materiales utilizados para la fabricación de los componentes de este kit se han analizado y se han encontrado no reactivos para la presencia de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV-1 y anti-HIV-2, excepto el control positivo, que es reactivo para anticuerpos anti-HCV. Las unidades positivas para anticuerpos anti-HCV se han tratado mediante calentamiento (60°C por una hora) durante el proceso productivo. Pueden provenir de pacientes infectados con HCV y por lo tanto han de considerarse potencialmente infecciosas.
Sin embargo, visto que ningún método de análisis puede asegurar que los agentes patógenos estén ausentes, todo el material de origen humano se deberá considerar potencialmente infeccioso y manipularlo como tal.
- Observe las precauciones necesarias para la manipulación de los reactivos de laboratorio.
- Los residuos deben eliminarse de acuerdo con la reglamentación local.

4. NORMAS DE SEGURIDAD

No coma, beba, fume o se maquille durante la ejecución del ensayo.

No pipetee las soluciones con la boca.

Evite el contacto directo con el material potencialmente infeccioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lávese cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.

Evite salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera, cada gota de reactivo se debe eliminar con una solución de hipoclorito sódico al 5% y el medio utilizado se deberá tratar como material residuo potencialmente infeccioso.

Todas las muestras, los reactivos biológicos del kit y los materiales usados para efectuar el ensayo se deben considerar capaces de transmitir agentes infecciosos; por lo tanto los residuos se deberán eliminar de acuerdo con las reglamentaciones de las agencias autorizadas que tengan jurisdicción sobre el laboratorio, y con las normativas de cada país.

Los reactivos que contienen ProClin® 300 se clasifican como irritantes según las Directivas Europeas aplicables:

R 43 - Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

S 24 - Evítense el contacto con la piel.

S 37 - Úsense guantes adecuados.

S 60 - Elimínense el producto y su recipiente como residuos peligrosos.

5. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

En el momento de su llegada, los controles se deben mantener a 2-8°C en posición vertical para evitar el contacto de la solución con la tapa del frasco. No congele. Si los controles se conservan sellados y en posición vertical, ellos son estables a 2-8°C hasta la fecha de caducidad. Después de la apertura, los controles son estables durante cuatro semanas si se conservan refrigerados a 2-8°C entre dos usos sucesivos. Evite la contaminación bacteriana de los controles. Los controles no se deben usar pasada la fecha de caducidad indicada en las etiquetas de los frascos.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

- Coloque los frascos de los controles en las gradillas C del instrumento LIAISON® XL. Con una solución de control es posible realizar por lo menos 20 test.
- El volumen mínimo de control necesario es 425 µL (25 µL de control + 400 µL de volumen muerto).
- En el momento del uso, acondicione los controles a temperatura ambiente (20-25°C) antes de la apertura de los frascos y déjelos en el área de las muestras del instrumento sólo durante el tiempo requerido para realizar el test de control de calidad.
- Después del uso, tape los frascos lo antes posible y manténgalos a 2-8°C en posición vertical.
- Durante la manipulación de los controles, adopte las precauciones necesarias para evitar la contaminación microbiana.

7. MANIPULACIÓN

Hágase referencia al manual operativo del instrumento LIAISON® XL para la manipulación correcta.

8. VALORES ESPERADOS

Los intervalos de los valores de anti-HCV de los controles están indicados en el certificado de análisis. Estos se han establecido considerando la variabilidad de las sesiones analíticas, a fines de garantizar la precisión de los resultados analíticos y obtener indicaciones sobre la estabilidad y el deterioro de los reactivos. Si los valores experimentales de los controles están repetidamente fuera de los intervalos predefinidos, con mucha probabilidad, el ensayo se ha llevado a cabo de forma incorrecta.