

## Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa



**REF** HBV-1111

**IVD** Kit de prueba cualitativa  
ADN del virus Hepatitis B

# **Kit AccuPower® de VHB de PCR**

## **Cuantitativa**

### **Guía del Usuario**



**Versión No.: 4.3 (2020-03-10)**

**Por favor lea toda la información en el folleto antes de usar la unidad**



**Bioneer Corporation**  
**8-11, Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu, Daejeon**  
**República de Corea**  
**34302, República de Corea**  
Tel: +82-42-930-8777  
Fax: +82-42-930-8688  
Email: [sales@bioneer.co.kr](mailto:sales@bioneer.co.kr)  
[www.bioneer.com](http://www.bioneer.com)

## Advertencias y Precauciones de Seguridad

Por favor, pregúntele al Centro de Servicio al Cliente de BIONEER sobre cómo obtener una copia de la Ficha de Datos de Seguridad del Material (MSDS) para este producto.

Por favor, lea la Guía del Usuario y verifique la integridad de todos los tubos, puntas y otros materiales suministrados con este kit antes de su uso.

Antes, durante y después del uso de este kit según lo descrito en esta Guía del Usuario, todos los materiales potencialmente peligrosos (por ej. materiales que puedan llegar a tener contacto con las muestras clínicas) incluyendo tubos, puntas y materiales deberán ser procesados y eliminados de acuerdo con las regulaciones correspondientes y apropiadas de la municipalidad/gobierno en donde este producto está siendo utilizado. Cumpla con los procedimientos generales de seguridad clínica en el laboratorio durante el experimento.

## Garantía y Responsabilidad

Todos los productos BIONEER son fabricados y probados bajo protocolos estrictos de control de calidad. BIONEER garantiza la calidad de todos los productos fabricados directamente hasta la fecha de vencimiento en la etiqueta. Si se descubre algún problema relacionado que comprometa la calidad del producto, contacte al Centro de Atención al Cliente de BIONEER ([order@bioneer.com](mailto:order@bioneer.com)).

BIONEER no asume la responsabilidad por el uso indebido del producto, es decir el uso del producto que no sea para el fin previsto, como se describe en la Guía del Usuario correspondiente y aplicable. BIONEER garantiza la responsabilidad bajo la condición de que el usuario divulgue toda la información relacionada con el problema a BIONEER por escrito dentro de los 30 días posteriores a la ocurrencia.

## Aviso Legal

Algunas aplicaciones que pueden realizarse con este kit pueden infringir patentes existentes en ciertos países. La compra de este kit no incluye ni brinda una licencia para realizar dichas aplicaciones patentadas. Es posible que los usuarios deban obtener una licencia en función del país y de la aplicación. BIONEER no aprueba ni recomienda el uso sin licencia de ninguna aplicación patentada.

El uso de este kit es solo para usuarios calificados y bien capacitados en el manejo de los ejemplares clínicos y de experimentos biológicos moleculares. Después de la prueba, todos los desperdicios deberán ser procesados con el cumplimiento del reglamento del país.

## Marcas Registradas

*AccuPower®* es una marca comercial registrada de BIONEER Corporation, República de Corea del Sur.

*ExiStation™*, *Exicycler™* 96, *ExiSpin™* y *ExiPrep™* son marcas comerciales de BIONEER Corporation, República de Corea.

FAM y TAMRA son marcas comerciales de Apler Corporation.

Excel™ es una marca comercial registrada de Microsoft Corporation.

## Derechos reservados

Derechos reservados 2020. Bioneer Corporation. Todos los derechos reservados

## Aviso

Bioneer Corporation se reserva el derecho a hacer correcciones, modificaciones, mejoras y otros cambios a sus productos, servicios, especificaciones, o descripciones del producto en cualquier momento sin avisar. Toda la información provista aquí está sujeta a cambios sin aviso.

## Contenido

1.	USO PREVISTO .....	1
2.	INTRODUCCIÓN .....	1
3.	CARACTERÍSTICAS Y PRINCIPIO DE LA PRUEBA .....	2
4.	CONTENIDO E INSTRUMENTOS RELACIONADOS .....	3
5.	CONDICIÓN DE ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL .....	4
6.	INSTRUMENTO Y MATERIALES REQUERIDOS .....	4
7.	PRECAUCIONES GENERALES .....	5
8.	PROTOCOLO .....	6
8.1.	Equipo y entorno del laboratorio .....	6
8.2.	Ejemplar .....	7
8.3.	Flujo de trabajo .....	8
8.4.	Parte 1. Asignación de la prueba utilizando el programa <i>ExiStation™</i> Manager .....	9
8.5.	Parte 2. Extracción del ácido nucleico usando el <i>ExiPrep™</i> 16 Dx .....	14
8.6.	Parte 3. Ejecución del <i>ExiPrep™</i> 16 Dx y del <i>Exicycler™</i> 96 usando el software <i>ExiStation™</i> manager .....	22
8.7.	Procedimiento experimental ( <i>ExiStation™</i> 48, <i>ExiStation™</i> 48A) .....	31
8.8.	Proceso de manejo de desperdicios experimentales .....	43
8.9.	Análisis de Datos .....	45
8.10.	Control de Calidad .....	46
9.	CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO .....	47
10.	RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS .....	62
11.	REFERENCIAS .....	65
12.	SÍMBOLOS .....	66

## 1. USO PREVISTO

El Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa es un kit de diagnóstico *in vitro* diseñado para la cuantificación del ADN del VHB (Virus de Hepatitis B) en muestras de plasma EDTA humano o suero humano mediante la reacción en cadena de polimerasa (PCR) en tiempo real utilizando el Sistema universal MDx *ExiStation*<sup>™</sup>. El Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa está destinado para el uso en conjunto con presentación clínica y otros marcadores de laboratorio para el monitoreo de la prognosis o tratamiento del paciente midiendo la carga viral del VHB. La linealidad del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa fue de 1.18 ~ 8.00 Log<sub>10</sub>IU/mL y la linealidad del VHB fue igual a la linealidad de cada genotipo (A,B,C,D,E,F,G y H). Este kit no está concebido para ser utilizado como prueba de detección de la infección por el BHV en muestras clínicas, incluyendo la sangre y los productos sanguíneos. No está concebido para el diagnóstico clínico inicial de infección por VHB, como una valoración de VHB.

## 2. INTRODUCCIÓN

El VHB es uno de los virus más pequeños conocidos que infectan a los humanos, y pertenece a la familia de los hepadnavirus. Es un virus hepatotrópico, y la lesión en el hígado tiene lugar mediante la eliminación mediada por el sistema inmunológico de las células hepáticas infectadas. El espectro de la enfermedad y la historia natural de la infección crónica por el VHB son diversos y variables, y van desde un estado de portador inactivo hasta la hepatitis B crónica (CHB) progresiva, que puede evolucionar hacia la cirrosis y el carcinoma hepatocelular (CHC).

Actualmente son reconocidos ocho genotipos del virus de hepatitis B (A–H). Los genotipos demuestran una clara distribución geográfica entre regiones e incluso dentro de ellas, y están probando ser una herramienta invaluable para rastrear la evolución molecular y los patrones y modos de propagación del virus de la hepatitis B.

El VHB se propaga principalmente por la exposición percutánea o de las mucosas a la sangre infectada y a varios fluidos corporales, como la saliva y los fluidos menstruales, vaginales y seminales, que han sido implicados como vehículos de transmisión humana. La infección en la etapa adulta provoca una hepatitis crónica en menos del 5% de los casos. La transmisión del virus también puede producirse por la inoculación accidental de cantidades mínimas de sangre o fluidos durante procedimientos médicos, quirúrgicos y dentales, o por cuchillas de afeitar y objetos similares contaminados con sangre infectada; el uso de jeringas y agujas inadecuadamente esterilizadas; el abuso de drogas por vía intravenosa y percutánea; los tatuajes; las perforaciones corporales y la acupuntura.

El marcador más habitual para determinar una infección por el VHB lo caracteriza la presencia de anticuerpos (anti-HBs y anti-HBc) y el HBeAg se usa como marcador secundario para indicar la replicación activa del VHB asociada a una enfermedad hepática progresiva. Las concentraciones de ADN del VHB cuantificadas mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real se correlacionan con la progresión de la enfermedad y son muy útiles para evaluar la eficacia del tratamiento antiviral.

El Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa permite la detección del genotipo A-H del VHB, con secado al vacío, aumento de la estabilidad del producto y el sistema MDx propio de Bioneer para la extracción del ácido nucleico, utilizando el Sistema *Existation*<sup>™</sup> y el software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager, constituye un sistema más amigable que los otros ensayos de VHB VL.

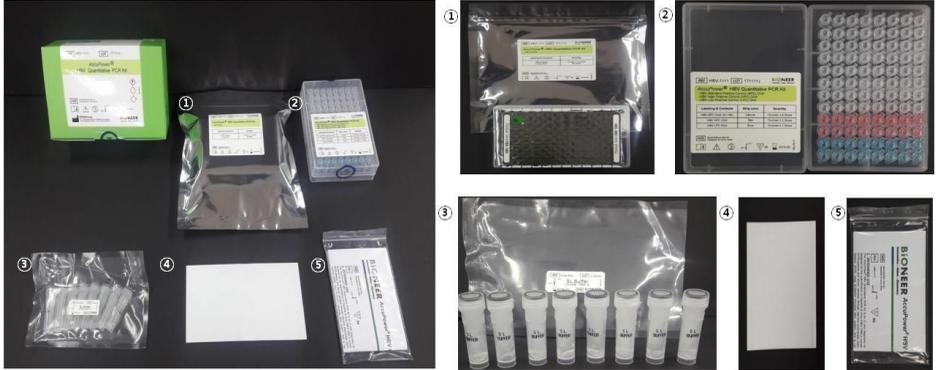
### **3. CARACTERÍSTICAS Y PRINCIPIO DE LA PRUEBA**

La PCR en tiempo real involucra la amplificación selectiva de una secuencia doble de objetivos (antígeno superficial VHB), mientras monitorea el progreso de la amplificación en tiempo real mediante un agente de visualización tal como una tintura fluorescente. La especificidad es proporcionada por un par de cebadores específicos, junto con una sonda de hidrólisis la cual también es una secuencia específica. El monitoreo del producto amplificado se lleva a cabo mediante el etiquetado de la sonda de hidrólisis con un par apareado de tintes fluorescentes (5' – Informante fluorescente; 3' – Inhibidor). Debido a la transferencia de energía de la resonancia fluorescente (FRET), una sonda intacta no emitirá luz. Sin embargo, al momento de la segmentación mediante la actividad exonucleasa de 5' – 3' de la polimerasa de ADN durante el PCR, la molécula informante fluorescente emitirá una longitud de onda específica de luz dentro del espectro visible cuando se haya segmentado después de aglomerarse al amplicon.

El kit fue diseñado para maximizar la reproducibilidad y facilidad de uso mediante un secado al vacío de todos los reactivos para la PCR incluyendo cebadores, sondas, polimerasa de ADN, dNTPs y sales utilizando nuestra tecnología exclusiva de estabilización para preservar la actividad total de los reactivos mezclados. El conjunto de cebador-sonda fue seleccionado de un grupo de combinaciones de cebador-sonda diseñado mediante algoritmos bioinformáticos para lograr una eficiencia maximizada de amplificación y concordar el programa del termociclador con todos nuestros Kits *AccuPower*<sup>®</sup> de diagnóstico, de modo que este producto pueda ser ejecutado simultáneamente con otros kits de la serie de Kits *AccuPower*<sup>®</sup> de diagnóstico.

**4. CONTENIDO E INSTRUMENTOS RELACIONADOS**

**4.1 Contenido del Kit**



**Fig. 1 Contenido del Kit AccuPower® de VHB de PCR Cuantitativa**

No.	Reactivo	Unidad	Cantidad	Función
①	Premezcla PCR de VHB	8 pozos/tira x 12 tiras (96 pruebas) (en bolsas de papel aluminio)	1 paquete	Amplificación NA
②	ADN SPC <sup>a</sup> VHB 1 (S1) ; 2 X 10 <sup>2</sup> copias/ $\mu$ l	15 $\mu$ l / pozo (Tira natural de 8 tubos)	8 tiras	Calibración
	ADN SPC <sup>a</sup> VHB 2 (S2) ; 2 X 10 <sup>3</sup> copias/ $\mu$ l			
	ADN SPC <sup>a</sup> VHB 3 (S3) ; 2 X 10 <sup>4</sup> copias/ $\mu$ l			
	ADN SPC <sup>a</sup> VHB 4 (S4) ; 2 X 10 <sup>5</sup> copias/ $\mu$ l			
	ADN SPC <sup>a</sup> VHB 5 (S5) ; 2 X 10 <sup>6</sup> copias/ $\mu$ l			
	VHB LPC <sup>b</sup> ; 2 X 10 <sup>2</sup> copias/ $\mu$ l	15 $\mu$ l / pozo (tira azul de 8 tubos)	2 tiras	Control Positivo
VHB HPC <sup>c</sup> ; 2 X 10 <sup>4</sup> copias/ $\mu$ l	15 $\mu$ l / pozo (tira Rojo de 8 tubos)	2 tiras		
③	Neutralizador SL	1800 $\mu$ l / tubo (tubo atornillable de 2ml transparente)	8 tubos	Neutralizador de carga de control (para NTC <sup>d</sup> , SPCs, PCs), Dilución de la muestra
④	Manual Rápido	-	1 c/u	
⑤	Cinta de sellado óptico	-	1 c/u	Sellado de la Premezcla PCR
⑥	Guía del Usuario	-	1 c/u	Proporcionado por correo electrónico o directamente

a : Control Positivo Estándar, b : Control Positivo Bajo, c : Control Positivo Alto, d : Control Sin Plantilla

## 4.2 Instrumentos relacionados

Este kit está optimizado para su uso con el Sistema universal de Diagnóstico molecular *ExiStation™* de BIONEER. Para instrucciones detalladas, consulte 8. Protocolo en esta *Guía del Usuario*.



## 5. CONDICIÓN DE ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL

El Kit *AccuPower®* VHB de PCR Cuantitativa debe ser almacenado a  $-25 \sim -15^{\circ}\text{C}$ , lejos de los rayos UV/ luz solar. Se garantiza que el kit sea estable hasta la fecha de vencimiento (12 meses) impresa en la etiqueta. Debe evitarse la descongelación y congelación repetida del tubo de qPCR premezclado para el VHB, de los SPC (HBV SPC (S1)–(S5)) y de los PC (HPC/LPC), ya que esto puede reducir el rendimiento del ensayo. Si se espera un uso intermitente del kit y de los componentes (tubo de qPCR premezclado para el VHB, los SPC y los PC), el tubo de qPCR premezclado para el VHB es estable hasta 10 ciclos de congelación/descongelación y los SPC (SPC para el VHB (S1)–(S5))/ PC (HPC/LPC) son estables hasta 3 ciclos de congelación/descongelación.

## 6. MATERIALES Y EQUIPOS REQUERIDOS (NO PROPORCIONADOS EN EL KIT)

Sistema	Instrumento	Reactivo (Extracción)
<b><i>ExiStation™</i> (A-2200)</b>	– <i>ExiPrep™</i> 16 Dx (Cat. No. A-5050) – Bloque térmico cuantitativo en tiempo real <i>Exicycler™</i> 96 (Cat. No. A-2060)	– Kit <i>ExiPrep™</i> Dx de ADN Viral (K-4472) – Kit <i>ExiPrep™</i> Dx de ADN/ARN Viral (K-4471)
<b><i>ExiStation™</i> V4 (A-2200-N)</b>	– <i>ExiPrep™</i> 16 Dx (Cat. No. A-5050) – Bloque térmico cuantitativo en tiempo real <i>Exicycler™</i> 96 ver.4 (Cat. No. A-2060-1)	– Kit <i>ExiPrep™</i> Dx de ADN Viral (K-4472) – Kit <i>ExiPrep™</i> Dx de ADN/ARN Viral (K-4471)
<b><i>ExiStation™</i> 48 (A-2400) <i>ExiStation™</i> 48A (A-2410)</b>	– <i>ExiPrep™</i> 48 Dx (Cat. No. A-5150) – Bloque térmico cuantitativo en tiempo real <i>Exicycler™</i> 96 ver.4 (Cat. No. A-2060-1) – <i>ExiLT</i> (Cat.No. A-7100)	– Kit <i>ExiPrep™</i> 48 de ADN/ARN Viral (K-4571)
<b>Etc</b>	– <i>ExiSpin™</i> (Cat. No. A-7040)	N/A

## 7. PRECAUCIONES GENERALES

- La PCR en tiempo real con este kit debe realizarse usando el Bloque Térmico Cuantitativo en tiempo real *Exicycler™* 96.
- Por favor lea esta Guía del Usuario antes de su uso.
- Todos los ejemplares de los pacientes deben ser manipulados como material infeccioso.
- Use siempre guantes y una máscara cuando maneje ejemplares o agentes.
- Cambie los guantes después del contacto con contaminaciones potenciales, por ej. ejemplares, eluyentes, etc.
- Lávese las manos vigorosamente después de manipular ejemplares y reactivos y quítese los guantes.
- No pipetee oralmente.
- No coma, beba o fume en áreas especializadas de trabajo.
- NO reutilice los reactivos abiertos ni mezcle reactivos de distintos lotes de producción.
- NO cambie el protocolo según lo descrito en esta Guía del Usuario.
- Siempre use puntas de pipeta desechables que estén filtradas y esterilizadas.
- Las muestras clínicas y sus derivados deben almacenarse en una ubicación/congelador por separado de donde es almacenado el resto de los componentes del kit.
- NO congele todas las muestras de sangre o cualquier muestra almacenada en un tubo principal.
- Debe permitirse que todos los componentes del kit se descongelen por al menos 10 minutos antes de iniciar un experimento.
- Gire rápidamente y centrifugue todos los componentes del kit por poco tiempo después de descongelarlos para garantizar resultados óptimos.
- Todos los SPC o PC deben ser añadidos en una ubicación físicamente separada de donde es reconstituida la premezcla.
- Tenga cuidado cuando utilice las tijeras o el cúter.
- Limpie y desinfecte las muestras derramadas y/o el área de trabajo dedicada con hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada (dilución 1:10 de blanqueador líquido de uso doméstico) y deberá enjuagarse a fondo con etanol al 70% o agua destilada.
- DESECHE LOS DESPERDICIOS (desperdicios líquidos, productos plásticos o desperdicios biológicos) de acuerdo con las regulaciones locales de seguridad o con el procedimiento interno del laboratorio.

## 8. PROTOCOLO

### 8.1 Equipos y entorno de laboratorio

Recomendamos que sean tomadas muchas medidas de precaución para la seguridad del usuario y del laboratorio, y además para la prevención de la contaminación ambiental del laboratorio.

Cuando maneje las muestras clínicas, todos los trabajos relacionados (es decir, destapado, pipeteo, tapado de muestras clínicas y contenedores) **deben ser llevadas a cabo dentro de una cabina de bioseguridad de presión negativa (clase II o III)**. La cabina de bioseguridad de presión negativa envía aire desde el espacio externo del laboratorio. En otras palabras, el aire fluye hacia adentro. Este flujo de aire evita que las sustancias peligrosas contaminen el entorno del laboratorio.

Cuando abra los contenedores esterilizados tales como Cartuchos neutralizadores incluidos dentro del kit (kit de preparación serie *ExiPrep™* Dx), el trabajo deberá llevarse a cabo en un entorno de presión positiva para evitar que los contaminantes ambientales entren y dañen los suministros estériles. La cabina de bioseguridad de presión positiva es un espacio de trabajo donde el aire filtrado fluye hacia afuera, por tanto, mantiene un entorno limpio dentro del espacio de trabajo.

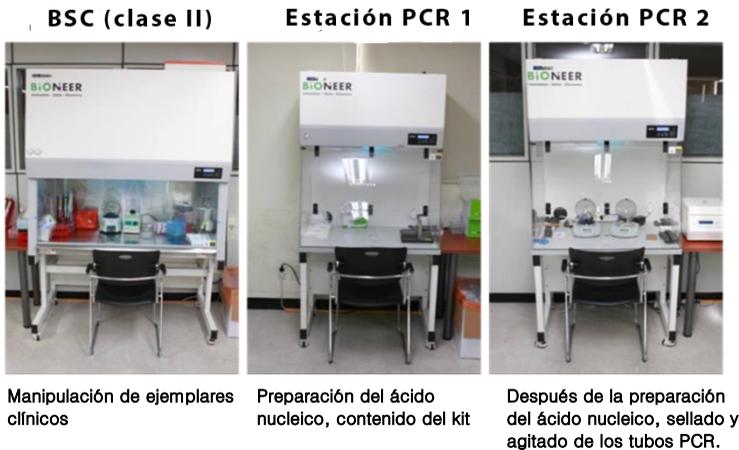


Fig. 2 Cabina de bioseguridad (BSC)

### 8.2 Ejemplares



Todas las muestras deben ser tratadas como potenciales peligros biológicos. Para mejores resultados, recomendamos ADN extraído de las muestras de plasma EDTA humana o de suero humano.

### **8.2.1 Recolección de Ejemplares**

El Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa está optimizado para el ADN extraído de las muestras de plasma EDTA humana o de suero humano. Para la recolección de plasma EDTA o para el suero humano, puede utilizarse los tubos estándar de recolección de ejemplares tales como tubos desechables que contienen EDTA como anticoagulante. Todas las muestras deberán guardarse en contenedores sin preservantes.

### **8.2.2 Transporte de Ejemplares**

Todas las muestras deberán ser transportadas en un contenedor de transporte a prueba de choques para evitar una posible infección a causa de una fuga de la muestra. Las muestras deberán ser transportadas de acuerdo con las pautas locales o nacionales respecto al transporte de peligros biológicos. La sangre total recogida en tubos de EDTA debe almacenarse y/o transportarse hasta 24 horas a una temperatura entre 2°C y 30°C.

### **8.2.3 Almacenamiento de Ejemplares**

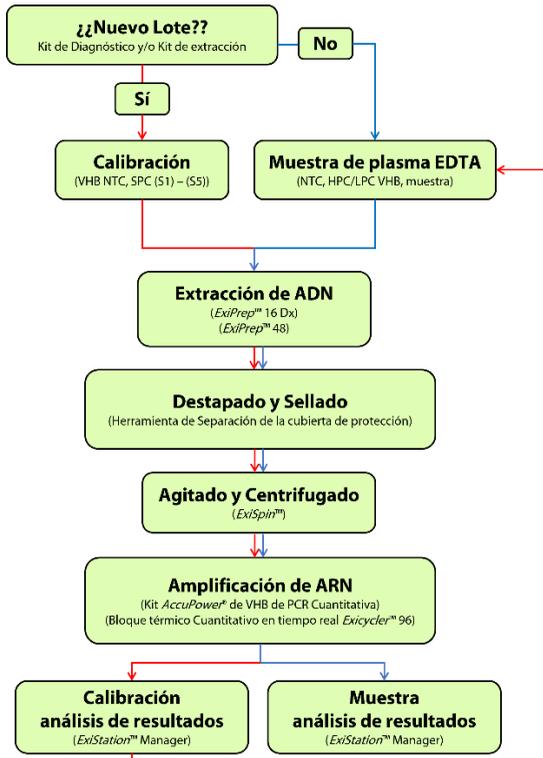
El plasma humano aislado con EDTA o el suero humano pueden almacenarse hasta 6 días a 2~8°C. Para un largo período de almacenamiento, las muestras deben ser almacenadas en las siguientes condiciones. Temperatura ambiente (25~30°C) hasta 1 día o Temperatura entre 2 y 8°C hasta 6 días, entre -80 y -70°C hasta 6 meses.

### **8.2.4 Sustancias interferentes**

Las muestras clínicas pueden contener una variedad de inhibidores de PCR. Para un PCR eficiente, dichos inhibidores deben ser removidos durante el proceso de extracción y purificación del ADN.

### 8.3 Flujo de trabajo

El Kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa está diseñado para el uso con el Sistema universal de Diagnóstico molecular *ExiStation™*.



**Fig. 3 Flujo de trabajo**

Cuando utilice el kit de acuerdo con el *ExiStation™*, tanto la extracción del ácido nucleico como la PCR debe ser llevada a cabo de acuerdo con el protocolo descrito en la *Guía del Usuario*. La PCR puede llevarse a cabo sin pasos adicionales para la preparación de la mezcla de PCR cuando se usa con el Sistema universal de Diagnóstico molecular *ExiStation™*. Después que se haya completado la PCR, los datos pueden analizarse automáticamente mediante el software *ExiStation™ Manager*. Para más instrucciones, por favor refiérase a esta *Guía del Usuario* (8.4 Procedimiento (Sistema universal de Diagnóstico molecular *ExiStation™*)).

## 8.4 Parte 1. Asignación de la prueba usando el programa *ExiStation*<sup>™</sup> Manager

- 1) Encienda la computadora, que ya tiene pre instalado el software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager.
- 2) Ejecute el software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager haciendo clic en el ícono ubicado en el escritorio.



Fig. 4 Ícono del Software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager

- 3) Encienda el *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx presionando el botón de encendido ubicado al frente del instrumento. Presione la imagen 'STARTING (INICIANDO)' mostrada en la LCD para iniciar el arranque del instrumento.



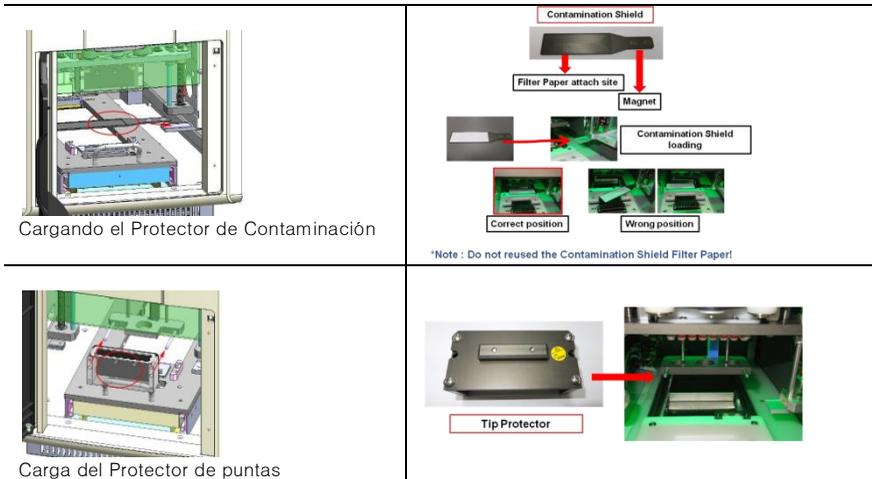
Fig. 5 Botón de arranque y botón principal de encendido del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx

- 4) Presione el botón 'MISC SET (AJUSTES MISC)' en la pantalla LCD (o el botón 'Load (Cargar)' en el software).



Fig. 6 Pantalla LCD del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx y botón de carga del software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager

- 5) Adjunte el papel filtro sobre el Protector de Contaminación. Coloque el Protector de Contaminación y luego el Protector de puntas en el instrumento. Presione de nuevo el botón 'Misc Set (Ajustes Misc)'.



**Fig. 7** Carga del Protector de Contaminación, Protector de las Puntas

6) El Software *ExiStation™* Manager tiene seis partes distintas.

**Prep** – extracción del ácido nucleico de control (instrumento *ExiPrep™* 16 Dx),

**Assign PCR (Asignar PCR)** – transfiere la información de la muestra desde 'Prep' hasta 'PCR' (*Exicycler* 96) y asigna para la ejecución de la PCR

**PCR** – muestra las condiciones de amplificación en tiempo real (*Exicycler™* 96)

**Result (Resultado)** – cuando la PCR se haya completado, presenta la información del resultado, experimento y muestra

**Configuration (Configuración)** – información de ajuste del software (accesible solo por el fabricante)

**Version (Versión)** – versión actual del software



**Fig. 8** Pantalla principal del software *ExiStation™* Manager

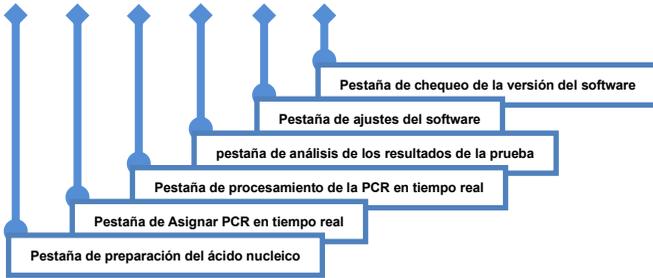


Fig. 9 Función de la pestaña del software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager

7) Haga clic en la pestaña '**Prep**' en la parte superior izquierda de la pantalla principal para iniciar el proceso de extracción del ácido nucleico.



Fig. 10 El panel de control de preparación consta de 5 paneles

El panel de control de preparación consta de 5 paneles.

**Panel de estado de los instrumentos** – estado del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx

**Panel de Selección de Kits** – Seleccione/ingrese la información del kit de diagnóstico, kit de preparación, y lote (o escanee el código de barras de los kits) información

**Panel de información de muestra y control** – Ingrese el control (NTC, PC, SPC) y la muestra (o escanee el código de barras de la muestra)

**Panel de Información del pozo** – Representa la información del pozo con un color diferente

**Panel de control *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx** – Botón del control del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx que incluye el controlador UV, controlador de almacén, controlador de ejecución, controlador de ajustes MISC

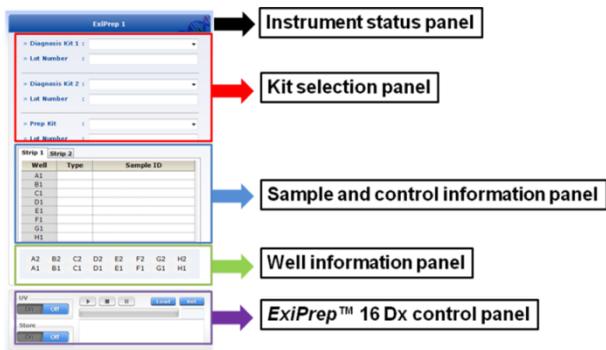


Fig. 11 Panel de control Prep del software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager

8) Haga clic en la flecha desplegable para 'Diagnosis Kit 1 (Kit de Diagnóstico 1)'. Aparecerá una ventana emergente. Seleccione 'HBV-1111' de los menús desplegables.

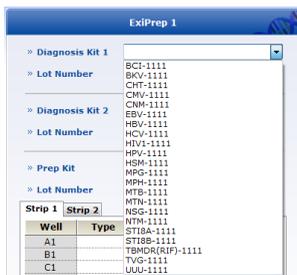


Fig. 12 Selección del kit de Diagnóstico

9) Después de seleccionar el 'Diagnosis Kit (Kit de Diagnóstico)', aparecerá una pantalla emergente. Inspeccione el Cartucho neutralizador y marque el pozo utilizado haciendo clic en la ubicación correspondiente para excluir el pozo usado de la asignación de la muestra. Seleccione 'OK' para terminar.



Fig. 13 Ventana emergente 'Prep' en el software *ExiStation™* Manager

10) Haga clic en la flecha desplegable para el 'Prep Kit (Kit de Preparación)'. Aparecerá automáticamente una ventana emergente del 'Prep kit (Kit de preparación)' para el kit de diagnóstico seleccionado. Seleccione 'Prep Kit (Kit de Preparación)' desde los menús desplegables.

11) Ingrese el numero de lote del kit de diagnóstico y el kit de preparación. El programa asignará automáticamente los pozos NTC y SPC (o PC).

El lote del kit de diagnóstico y/o del kit de extracción es nuevo, el programa asigna automáticamente el NTC y el SPC 1 hasta 5. Cuando se utiliza la misma combinación de lotes del kit de diagnóstico y del kit de extracción para el ensayo anterior, la curva estándar se guarda automáticamente y sólo se asigna 1 LPC (Control Positivo Bajo) y 1 HPC (Control Positivo Alto) como control positivo.

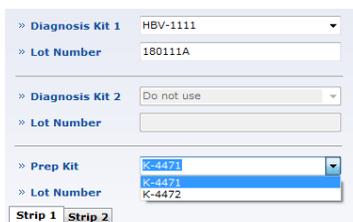


Fig. 14 Ingreso del Número de Lote

12) Haga clic en la columna 'Sample ID (ID de la muestra)', usando un lector de código de barra (opcional) o escribiéndolo manualmente.

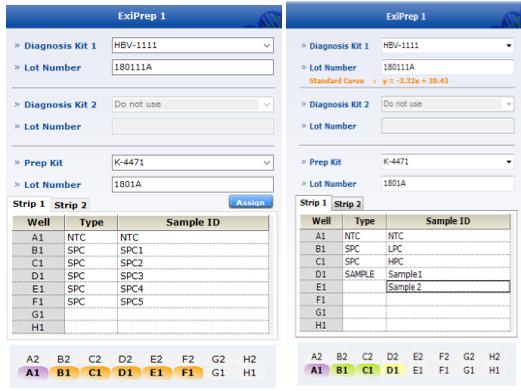


Fig. 15 Ingreso del Sample ID (ID de la Muestra (Primer ensayo/Ensayo repetido))

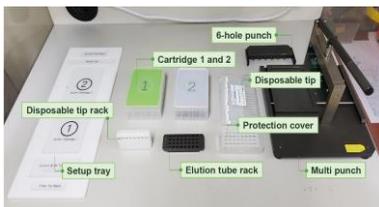
### 8.5 Parte 2. Extracción del ácido nucleico mediante el *ExiPrep™ 16 Dx*

- 1) Bioneer recomienda el uso de una BSC (Clase II) y una banqueta de limpieza para el funcionamiento del sistema *ExiStation™*.
- 2) Limpie la superficie (preferiblemente una BSC de presión positiva) donde se realizará el trabajo.

Limpie la superficie con hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada y enjuague con agua destilada o Et-OH al 70%, antes y después de su uso para evitar la contaminación. Después de cada uso, encienda la lámpara UV para eliminar los contaminantes.

⚠ Apague la lampara UV mientras la BSC está en uso.

- 3) Preparar el kit de preparación de ácido nucleico en la estación PCR 1.



No.	Componentes	Componente de
1	Bandeja de utensilios	<i>ExiPrep™ 16 Dx</i>
2	Cartucho 1 y 2	Kit de Extracción
3	Gradilla para puntas desechables	<i>ExiPrep™ 16 Dx</i>
4	Gradilla de tubos de elución	<i>ExiPrep™ 16 Dx</i>
5	Puntas desechables	Kit de Extracción
6	Cubierta de Protección	Kit de Extracción
7	Perforadora de 6 agujeros	<i>ExiPrep™ 16 Dx</i>
8	Perforadora múltiple	Opcional

Fig. 16 Lista de componentes necesarios para la extracción del ácido nucleico

4) Retire la envoltura retráctil que cubre a los dos cartuchos neutralizadores ① y ② y luego retire las tapas.

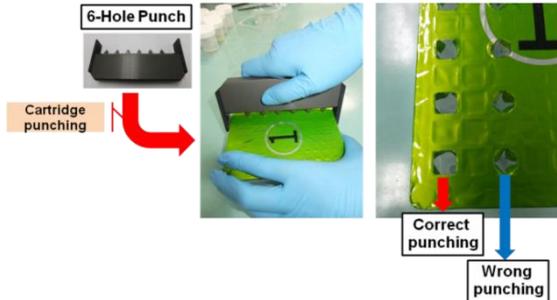
**Inspeccione los pozos del Cartucho neutralizador y cerciőrese de que todos los líquidos estén en la parte**



**Fig. 17 Remoción de las tapas**

5) Perfore la cinta con la Perforadora de acuerdo con el diseńo mapeado en el software.

**Una incorrecta perforación de la cinta puede causar un mal funcionamiento del instrumento. Empuje la perforadora con firmeza para asegurarse de que el cartucho neutralizador esté perforado apropiadamente.**



**Fig. 18 Perforación de la cinta con la Perforadora**

6) Cubra los Cartuchos neutralizadores ① y ② con las tapas después de que el perforado de la cinta esté completo.

7) Coloque los cartuchos neutralizadores en la bandeja de utensilios.

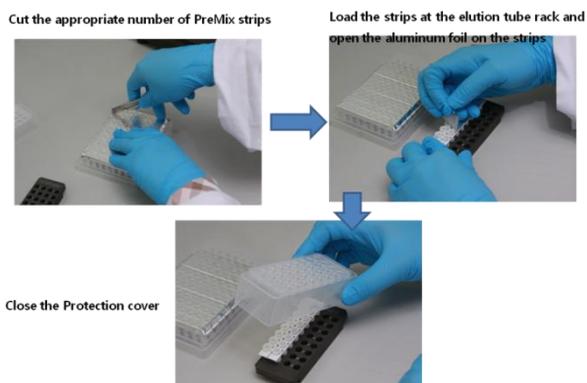


**Fig. 19 Instalación del cartucho neutralizador en la bandeja de utensilios**

8) Tome el número necesario de tiras de los Tubos del Kit de Diagnóstico del congelador. Retire el papel aluminio que cubre los tubos. Inserte la cantidad apropiada de tubos del kit de diagnóstico en la gradilla de tubos de elución. Recomendamos el marcaje de cada tira de los tubos de diagnóstico con el número de columna correspondiente.

**Usted DEBE estar seguro que los tubos de diagnóstico han sido marcados de manera que se pueda identificar después.**

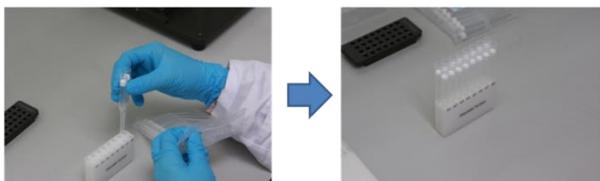
**⚠ En la parte inferior de la gradilla de tubos de elución, hay una ranura ajustada al instrumento *ExiPrep™16* Dx. Cuando se ve desde arriba, coloque el lado de la ranura hacia abajo e inserte los tubos de premezcla en las dos filas superiores.**



**Fig. 20** Inserción de los tubos del Kit de diagnóstico *AccuPower®* dentro de la Gradilla de tubos de elución

9) Coloque la Gradilla de Tubos de Elución (que contiene el Kit de Diagnóstico) en la bandeja de utensilios.

10) Cargue el número apropiado de Puntas desechables en la Gradilla de las puntas desechables.



**Fig. 21** Carga de las puntas de filtro desechables en la Gradilla de las puntas desechables

11) Coloque la gradilla de las puntas desechables en la bandeja de utensilios.

12) Coloque la bandeja de desperdicios en la bandeja de utensilios.



**Fig. 22 Carga de la Gradilla de tubos de elución en la Bandeja de utensilios**

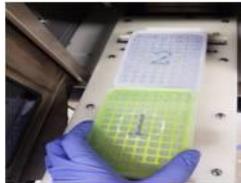
13) Mueva la bandeja de utensilios al *ExiPrep™* 16 Dx. Abra la puerta y jale la placa base del *ExiPrep™* 16 Dx.

14) Coloque el Cartucho neutralizador ② sobre el bloque de calentamiento de la placa base.

**Si el Cartucho neutralizador ② no es colocado adecuadamente en el bloque de calentamiento, esto resultaría en una falla del experimento o una avería al instrumento.**

15) Coloque el Cartucho neutralizador ① en la placa base.

**Coloque el Cartucho neutralizador ① ligeramente inclinado hacia el lado izquierdo de la placa base y presione el lado derecho del cartucho firmemente.**



**Fig. 23 Carga del Cartucho neutralizador ①**

16) Coloque la Gradilla de tubos de elución y la Gradilla de las puntas desechables sobre la placa base.

Nota: Compruebe que la cubierta de protección esté apropiadamente asegurada sobre la gradilla del tubo de elución.

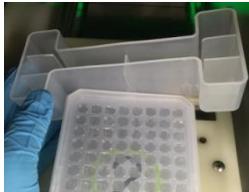


**Fig. 24** Inserción de las puntas desechables en la gradilla de puntas desechables

17) Coloque la bandeja de desperdicios entre la Gradilla de los tubos de muestras y el Cartucho neutralizador ②.



**Sea cuidadoso de no dejar caer la gradilla de tubos de Muestra**



**Fig. 25** Instalación de la Bandeja de desperdicios

18) Preparación de muestras clínicas, tubos de Carga para Muestra y controles en la BSC. Limpie la BSC de presión negativa sobre la cual se llevará a cabo la extracción del ácido nucleico.

⚠ Limpie la superficie con hipoclorito de sodio al 0,5% en agua destilada o desionizada y enjuague con agua destilada o Et-OH al 70%, antes y después de su uso para evitar la contaminación. Después de cada uso, encienda la lámpara UV para eliminar los contaminantes.

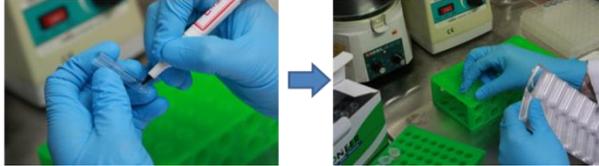
Apague la lampara UV mientras la BSC está en uso.



**Fig. 26** Preparación de los componentes necesarios para la carga de la muestra

19) Saque los Tubo de Carga de Muestra de ADN IPC del embalaje, márkelos con el nombre de la muestra e insértelos en la gradilla.

**Antes de usar el Tubo de Carga de la muestra, DEBE revisar que la parte inferior del Tubo de Carga de la muestra sea de color azul (IPC Seco para el ADN)**



**Fig. 27 Preparación del Tubo de carga de muestra**

20) Tome los contenedores originales de muestra clínica y los controles (NTC y SPC) y pipetee dentro de los tubos de carga de la muestra de ADN de IPC siguiendo los pasos 21) a 23).

21) Añada 400  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL dentro de un tubo asignado como NTC. (suministrados con el kit de diagnóstico *AccuPower*<sup>®</sup>)

22) Añada además 395  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL y 5  $\mu\text{l}$  de SPC 1~5 dentro de los pozos SPC apropiados. (suministrados con el kit de diagnóstico *AccuPower*<sup>®</sup>)

**⚠ Cuando el ensayo sea repetido con la misma combinación del lote del Kit de diagnóstico y el kit de extracción, añada 400  $\mu\text{l}$  de LPC (tapa azul) y de HPC (tapa roja) dentro de cada pozo asignado; no se necesita calibración en este caso.**

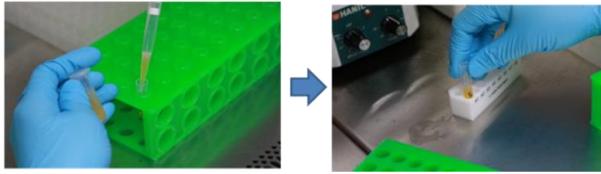
**NTC: Añada 400  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL para el pozo NTC.**

**LPC: Añada 395  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL y 5  $\mu\text{l}$  de LPC (Azul) dentro del pozo LPC.**

**HPC: Añada 395  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL y 5  $\mu\text{l}$  de HPC (Rojo) dentro del pozo HPC.**

23) Mueva el tubo lleno con la muestra a la gradilla del tubo de la muestra.

**Inserte los tubos verticalmente para prevenir derrames.**



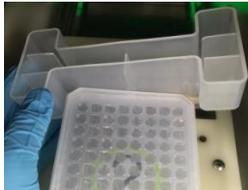
**Fig. 28 Carga de la muestra clínica al Tubo de carga de la muestra**

24) Destape el contenedor original de las muestras clínicas y pipetee 400  $\mu\text{l}$  de muestra dentro del tubo de carga de la muestra ADN IPC. Mueva el Tubo de Carga de la Muestra ADN IPC a la Gradilla de tubo de la Muestra cuando se haya llenado con la muestra.

25) Repita los pasos de carga de la muestra individualmente hasta que todas las muestras estén cargadas.

**⚠ Si por alguna razón se tiene sospecha de contaminación de los guantes o las puntas, inmediatamente cambie los guantes o la punta para evitar la contaminación de las muestras.**

26) Retire la bandeja de desperdicios de la placa base



**Fig. 29 Remoción de la bandeja de desperdicios**

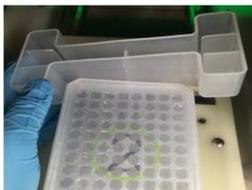
27) Cargue la gradilla de tubos de muestra en la placa base del *ExiPrep™* 16 Dx.



**Fig. 30 Instalación de la Gradilla de tubos de la muestra**

28) Coloque la bandeja de desperdicios entre la gradilla de tubos de la muestra y el cartucho neutralizador ②.

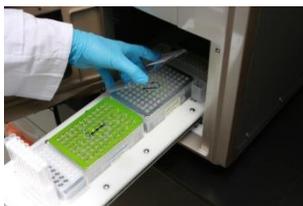
**Sea cuidadoso de no dejar caer la gradilla de tubos de Muestra**



**Fig. 31 Instalación de la Bandeja de desperdicios**

29) Todos los materiales están cargados.

30) Retire las tapas de los Cartuchos neutralizadores.



**Fig. 32 Remoción de las tapas**

31) Verifique si todos los accesorios están cargados adecuadamente.

**Cerciórese de que las puntas, hoyos y tubos estén todos alineados.**

32) Empuje la placa base con cuidado y cierre la puerta.

### 8.6 Parte 3. Ejecución del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx y el *Exicycler*<sup>™</sup> 96 usando el software *ExiStation*<sup>™</sup> manager

1) Haga clic en el botón 'RUN (▶) (Ejecutar)' del software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager. Compruebe minuciosamente si todos los accesorios están cargados apropiadamente de acuerdo con la lista 'Check ExiPrep Setting (Comprobar el Ajuste ExiPrep)' y marque las casillas. Haga clic en el botón 'OK' para iniciar el proceso de preparación.

El proceso de extracción del ácido nucleico tarda 80~100 minutos dependiendo del tipo de ácido nucleico.

⚠ Si aparece algún mensaje de error durante el proceso de extracción en la. contacte a su oficina local



Fig. 33 Haga clic en el botón 'RUN (EJECUTAR)' en el software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager

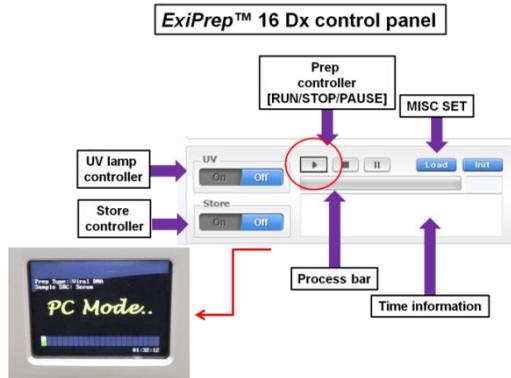


Fig. 34 Panel de control del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx

2) Cuando el proceso de extracción del ácido nucleico haya finalizado, el bloque de enfriamiento se apaga automáticamente.

Abra la puerta del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx (A-5050) cuando el proceso de extracción de ácidos nucleicos haya finalizado, y retire la gradilla de tubos de elución.

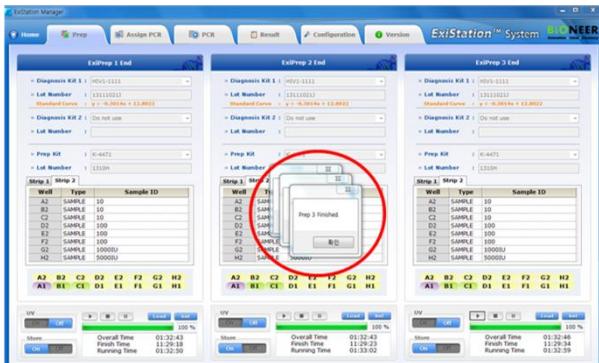


Fig. 35 Mensaje emergente de la extracción terminada

3) Mueva la gradilla de los tubos de elución a la estación PCR 2.



Fig. 36 Preparación de la PCR

4) Por favor retire la Cubierta de protección de acuerdo al método de utilidad de la Herramienta de separación

**Cuando haya finalizado la extracción del ácido nucleico, el siguiente paso debe continuar dentro de 10 minutos. Si no, esto puede, esto puede provocar un resultado equivocado.**

de la Cubierta de protección.

① Saque la gradilla del tubo de elución del *ExiPrep*<sup>™</sup> Dx y colóquela encima de la herramienta de separación de la cubierta de protección.

Nota: Al colocar la Gradilla de Tubo de Elución en la Herramienta de Separación de la Cubierta de protección, la palanca debe estar orientada hacia el lado izquierdo.

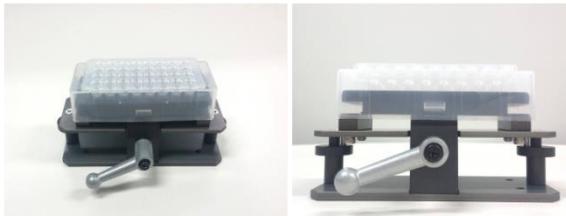
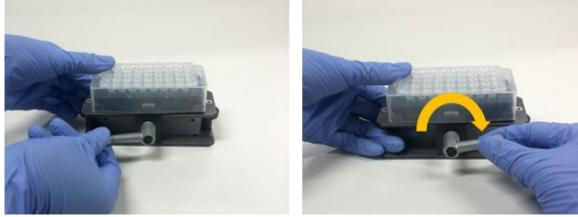


Fig. 37 Imagen de la Gradilla de los tubos de elución en la parte superior de la herramienta de separación de la cubierta de protección

② Sostenga firmemente la Cubierta de Protección y la Herramienta de Separación con una mano. Gire la palanca en el sentido de las agujas del reloj 180° con la otra mano.

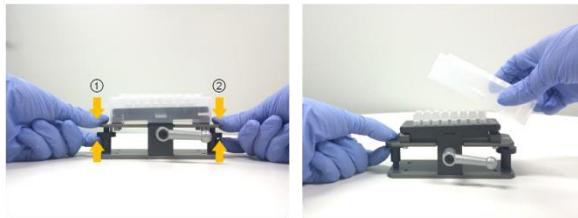
Nota: Gire la palanca hasta que la gradilla para tubos de elución quede firmemente fijada a la Herramienta de Separación de la Cubierta de protección.



**Fig. 38** Imagen de la rotación de la palanca para la fijación de la Gradilla del elución a la herramienta de separación de la Cubierta de protección

③ Presione hacia abajo ambos lados de la Herramienta de Separación como se muestra en la imagen de abajo. Esta acción empujará la cubierta de protección hacia arriba para que la gradilla de tubos de elución pueda retirarse con facilidad.

Consejo: Sujete la Cubierta de Protección con una mano. Después presione hacia abajo cada lado de la Herramienta de Separación consecutivamente para evitar que salpique cualquier líquido.



**Fig. 39** Imagen de como presionar desde cada lado de la herramienta de separación y de la remoción de la cubierta de protección de la herramienta de separación

5) Selle el Tubo de PCR usando una Cinta de sellado óptico y luego proceda al siguiente paso. Para obtener más información sobre el proceso de sellado, consulte el paso 6).

6) Selle los Tubos de diagnóstico con la Cinta adhesiva de sellado óptico.

**Con el fin de evitar las contaminaciones y resultados inválidos, selle todos los tubos completamente.**

**⚠️Almacene los tubos de diagnóstico sellados a 4°C hasta su uso (si la reacción de preparación es dividida en 2 pasos, almacénelo hasta que finalice la 2da preparación ).**



Fig. 40 Sellado de la tira de la premezcla PCR

7) Justo antes de la reacción de la PCR, mezcle completamente el contenido del tubo usando el *ExiSpin*<sup>™</sup> (A-7040). (Parámetros del *ExiSpin*<sup>™</sup>: 2500rpm por 1 seg., Agite fuertemente durante 20 seg./ 20 ciclos)

La premezcla PCR de Bioneer contiene unos reactivos PCR secados al vacío. El mezclado insuficiente podría ocasionar resultados inválidos, así que mezcle hasta que la premezcla esté completamente disuelta.

⚠ CERCÍORESE DE marcar cada kit de diagnóstico para evitar confusiones.

⚠ Cuando haya finalizado la extracción de ácido nucleico, el siguiente paso debe continuar dentro de 10 minutos. Después de este tiempo, los reactivos pueden perder actividad.



Fig. 41 Mezcla de la tira de Premezcla PCR utilizando el *ExiSpin*<sup>™</sup>.

NO manipule el protocolo de *ExiSpin*<sup>™</sup> de forma arbitraria  
TIENE QUE ajustar el equilibrio.

8) Mientras el *ExiSpin*<sup>™</sup> esté funcionando, encienda el *Exicycler*<sup>™</sup> 96. Encienda el interruptor de espera, ubicado en la parte trasera del instrumento. – La luz del estado LED en la parte frontal del instrumento debe cambiar a color Azul. Presione el interruptor de encendido por 3 segundos. Se iniciará una secuencia breve de autoprueba. Cuando la autoprueba se haya completado, el LED parpadeará en color VERDE con un pitido corto.



Fig. 42 Botón de funcionamiento (botón de la puerta, botón de encendido y estado del LED) de *Exicycler*<sup>™</sup> 96

9) Haga clic en la pestaña 'Assign PCR (Asignar PCR)' y marque cada casilla en la 'Prep Work List' para asignar cada posición de la PCR. La posición de la PCR corresponde al *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx No. 1~3 en orden.

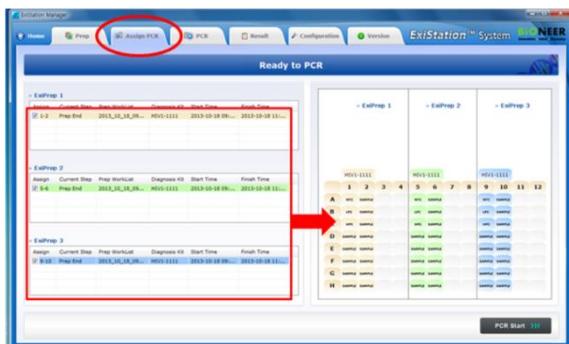


Fig. 43 Pestaña 'Asignar PCR' - Inicio de PCR

10) Presione el interruptor de la puerta por 2 segundos para deslizar hacia afuera el bloque térmico de 96 pozos. Inserte los tubos de reacción en sus ubicaciones. Cuando la carga de la muestra esté completada, presione el interruptor de la puerta por 2 segundos para cerrar la puerta.

Asegúrese de que la configuración de la carga de las muestras esté de acuerdo con la posición del pozo asignado.

⚠ Si está ejecutando menos de 6 tiras para la ejecución del PCR, por favor inserte una tira ficticia en el extremo opuesto (columna 12) para equilibrar la fuerza de presión de la tapa caliente del *Exicycler*<sup>™</sup> 96.

11) Coloque los tubos de premezcla mezclados en la posición del pozo asignado del *Exicycler*<sup>™</sup> 96 cuando el ciclo se haya completado. Para instrucciones detalladas de funcionamiento del *Exicycler*<sup>™</sup> 96, y del software *ExiStation*<sup>™</sup> Manager, consulte la *Guía del Usuario* pertinente.

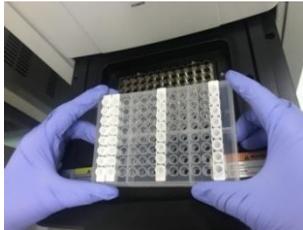


Fig. 44 Forma de ajuste de la Tira de premezcla de PCR del *Exicycler*<sup>™</sup> 96

12) Seleccione la pestaña 'Assign PCR (Asignar PCR)' y confirme la 'Prep Work List (Lista de Trabajo Prep)' asignada. Después del proceso de 'Prep (Preparación)', 'Current Step (Paso Actual)' se puede presentar como 'Prep End (Fin de la Preparación)' y la barra de estado superior cambiará a 'Ready to PCR (Listo para la PCR)'. Inicie la ejecución de la PCR haciendo clic en el botón 'PCR Start (Iniciar PCR)' activado en la parte inferior derecha de la ventana.

Una ventana emergente aparecerá indicando al usuario a ingresar un Nombre de la Lista de trabajo. Haga clic en 'OK' luego de introducir el nombre para generar una lista de trabajo para la PCR en tiempo real.

La ruta predeterminada del archivo de la lista de trabajo es 'C: > *ExiStation\_Data* > user > GUEST > WorkList'.



Fig. 45 Ventana emergente de "Data name (Nombre de los datos)"

13) Después de ingresar al Nombre de la lista de trabajo, se activará la pestaña 'PCR' y el *Exicycler*<sup>™</sup> 96 iniciará automáticamente la ejecución de PCR.

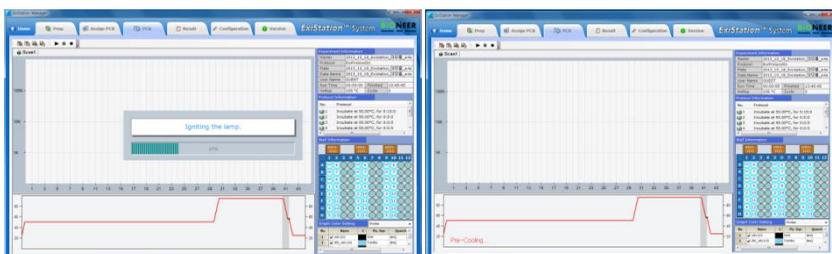


Fig. 46 Pantalla de Ejecución de la PCR

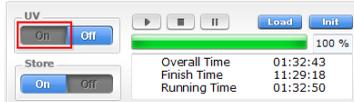
14) Retire todos los consumibles y componentes, comenzando por los Cartuchos neutralizadores y varias gradillas del instrumento, y deseche todos los líquidos y consumibles en sus contenedores correspondientes.

Si los pozos no utilizados están presentes en los Cartuchos neutralizadores, tome una prenda sin pelusas o etanol al 70% y limpie la superficie de la película de los Cartuchos neutralizadores. Sustituya la tapa de los Cartuchos neutralizadores y manténgalos en un BCS de presión positiva para su posterior uso.

⚠ Cubra los cartuchos neutralizadores usados con las tapas y deséchelos de acuerdo con las normas de seguridad locales o el procedimiento interno del laboratorio.

15) Presione el botón 'Misc Set (Ajuste Misc)', retire el Protector de las Puntas y el Protector de Contaminación luego presione el botón 'Misc Set (Ajuste Misc)' otra vez.

16) Empuje la Placa base, cierre la puerta del instrumento e inicie la esterilización por UV haciendo clic en “UV ON (UV ENCENDIDO)” en el panel de control.



**Fig. 47** Panel de control del *ExiPrep™ 16 Dx- UV*

17) Después de que la ejecución de la PCR haya terminado, seleccione la pestaña 'Result (Resultado)' para comprobar los resultados de cada muestra.

Haga clic en el botón 'Analysis (Análisis)' para abrir la ventana emergente dedicada a la análisis, que presenta resultados detallados incluyendo un gráfico de fluorescencia.

**⚠️ NO** despegue la cinta de sellado óptico del kit de diagnóstico. Deséchelos de acuerdo con las regulaciones locales de seguridad o el procedimiento interno del laboratorio.



**Fig. 48** Análisis de resultados usando el software *ExiStation™ Manager*

18) Los archivos de datos de resultados son guardados en 'C: > ExiStation\_Data > user > GUEST > WorkList > relevant data file name' folder (carpeta con el nombre del archivo de los datos relevantes).

## 8.7. Procedimiento experimental (*ExiStation*<sup>™</sup> 48, *ExiStation*<sup>™</sup> 48A)

### 8.7.1. Extracción del ácido nucleico – *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx

\* Por favor, refiérase a la guía del usuario del Kit *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 del ADN/ARN Viral, del *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx o del *ExiLT* para un flujo de trabajo básico.

#### 8.7.1.1. Métodos de funcionamiento básicos del software *ExiStation*<sup>™</sup> 48 Manager para el experimento

- 1) Encienda el *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx. Encienda la parte posterior del instrumento, presione el botón POWER en la parte frontal del instrumento durante 1 segundo.
- 2) A medida que comience la inicialización por sí mismo, la pantalla LCD aparecerá automáticamente.
- 3) Cuando la iniciación del instrumento este completada, la pantalla principal aparecera en la pantalla LCD si la iniciacion no es completada satisfactoriamente, contactenos (Bioneer) o angecias.



Fig. 49 Pantalla principal del *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx

- 4) La pantalla principal consta de 5 íconos.

**Prep** – Ajuste y control de la extracción del ácido nucleico (*ExiLT*, *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx)

**Assign PCR (Asignar PCR)** – Se puede mostrar la información extraída.

**PCR** – Monitoreo de la extracción de la PCR en tiempo real (*Exicycler*<sup>™</sup> 96)

**Result (Resultado)** – Muestra los resultados después de ejecutar la PCR.

**Shop (Tienda)** – Vinculos a la página de inicio en la que puede comprar los productos relacionados.

- 5) Inicie sesión con la ID registrada. Cuando inicia sesión como invitado, generalmente se guardan los datos en la carpeta especificada. Si inicia sesión con su ID, puede identificar una carpeta para almacenarlos para que pueda gestionar los datos resultantes de forma más eficiente (opcional).
- 6) Pulse el ícono Prep en la pantalla principal. La pantalla cambiará como se muestra en la siguiente 51. Entre en el modo de extracción del ácido nucleico pulsando el ExiStation.



Fig. 50 Pantalla inicial de la pestaña Prep

- 7) Pulse la flecha desplegable del Kit de Diagnóstico 1, se muestra una lista de los kits de diagnóstico disponibles. Presione el HBV-1111.



Fig. 51 Ingreso de la información del kit de diagnóstico

- 8) Ingrese el número del lote del kit de diagnóstico.
- 9) Pulse la flecha desplegable del Kit de preparación. Muestra el kit de diagnóstico a utilizar. Luego ingrese la Información del lote del Kit de preparación.



Fig. 52 Ingreso de la información de la Kit

- 10) Aparecerá el mensaje emergente "Sample Type (Tipo de Muestra)", seleccione la muestra a utilizar

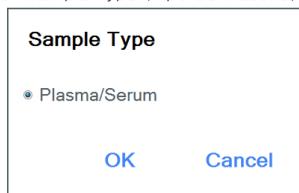


Fig. 53 Pantalla de 'Sample Type (Tipo de Muestra)'

- 11) Si bien el Número del lote para el kit de diagnóstico y/o el kit de preparación es nuevo, se mostrará la ventana de Notificación que pide la Calibración Estándar

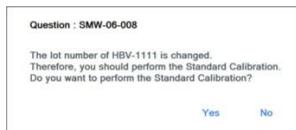


Fig. 54 Mensaje emergente durante el proceso de Calibración estándar

- 12) Mientras sale el mensaje emergente "Select Lane & Well (Seleccionar Carril y Pozo)", seleccione el pozo a utilizar. Después verifique el pozo ya usado del Cartucho neutralizador ①. Haga clic en el pozo utilizado, aparecerá la señal "X" arriba de ese pozo. Para finalizar, haga clic en el botón "OK". Si no se están usando pozos, haga clic en el boton "OK" a la derecha.

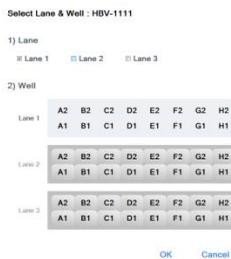


Fig. 55 Pantalla de 'Select Lane & Well (Seleccionar Carril y Pozo)'

- 13) La posición NTC y SPC se ajusta automáticamente en el pozo restante, el ajuste principal es NTC y cada uno del SPC 1~5. Repita el mismo número de lote de la curva estándar del kit de extracción/diagnóstico ya guardado. En este caso, el LPC y el HPC se establece a un pozo para cada uno en vez de SPC 1~5.
- 14) Complete la generación de la curva estándar con normalidad, proceda al siguiente experimento utilizando las muestras clínicas. Si el experimento funciona, aparece mucha información; curva estándar, posición correcta del NTC/LPC/HPC. Luego haga clic en 'Sample ID (ID de la Muestra)', ingrese la información de las muestras clínicas. (Opcional – usando el lector del código de barras)



Fig. 56 Ingrese la información de la muestra

### 8.7.1.2. Extracción del ácido nucleico mediante el *ExiPrep™* 48 Dx

- 1) Se recomienda que, al manejar las muestras clínicas, todos los trabajos relacionados deberán ser llevados a cabo dentro de una BSC de presión negativa (Clase II) para la seguridad del usuario y para la prevención de contaminación.
- 2) Limpie la BSC y verifique todos los componentes necesarios para la extracción y la muestra antes de la extracción de ácido nucleico. Prepare los componentes de extracción dentro de una BSC de presión positiva. Recomendamos que la lleve a cabo en un lugar por separado refiriéndose al inciso 8.1.1.

- ⚠ Limpie la superficie con 0.5% de hipoclorito de sodio y 70% de etanol o desinfecte el agua antes y después de su uso para prevenir contaminación. Después de cada uso, encienda la lámpara UV para eliminar los contaminantes.
- ⚠ La lámpara UV debe apagarse antes de utilizar la BSC.

- 3) Compruebe que todos los componentes necesarios estén presentes antes de proceder y realice la operación dentro de la BSC-1 de presión positiva.

**Tabla 3. Lista de componentes necesarios para la extracción del ácido nucleico**

Herramientas de preparación	Consumibles
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Bandeja de Ajuste</li> <li>■ Perforadora de hoyos</li> <li>■ Gradilla de tubos de muestra</li> <li>■ Gradilla de tubos de elución</li> <li>■ Abrazadera</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Cartucho neutralizador ① y ②</li> <li>■ Tubos de Carga de muestra_IPC</li> <li>■ Puntas desechables y estantes</li> <li>■ Tubos de Elución</li> <li>■ Tapas de los tubos de elución</li> <li>■ Bandeja de Desperdicios</li> <li>■ Papel de filtro del Protector de contaminación</li> </ul>

- 4) Retire el empaque digital que envuelve los dos Cartuchos neutralizadores ① y ② dentro de la BSC-1 de presión positiva.

⚠ Inspeccione los pozos del Cartucho neutralizador y asegúrese de que todos los líquidos estén en la parte inferior de los pozos.

- 5) Tome el número necesario de tubos del Kit de Diagnóstico *AccuPower®* del congelador e inserte el tubo del kit de diagnóstico en la gradilla de tubos de elución. Retira el papel aluminio cubierto del tubo del kit de diagnóstico. Marque cada tira de los tubos de diagnóstico con el número de columna correspondiente.

⚠ Usted DEBE cerciorarse de que los tubos de diagnóstico estén marcados para que puedan ser identificados durante el proceso.

⚠ En la parte inferior de la gradilla del tubo de elución, hay una ranura ajustada al instrumento *ExiPrep™* 48 Dx. Cuando se ve desde arriba, coloque el lado de la ranura hacia abajo e inserte los tubos de premezcla en las dos filas superiores como se muestra en la figura 61 a continuación.



**Fig. 57 Chequeo de la posición de los tubos del kit de diagnóstico en la gradilla de los tubos de elución**

- 6) Sujete bien la cubierta de protección dentro de la gradilla del tubo de elución.

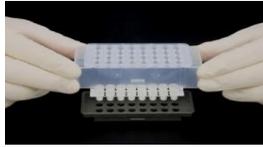
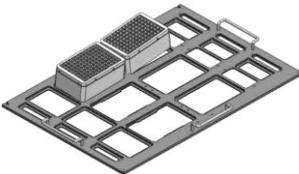


Fig. 58 Instalación de la Cubierta de protección

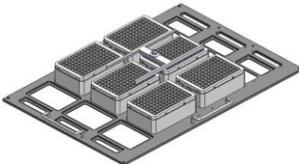
- 7) Abra la puerta del instrumento (*ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx (A-5150)), retire la bandeja de ajuste instalada dentro y colóquela sobre la banqueta plana del experimento.

①



Instale el cartucho neutralizador ①, ② a la cantidad de la muestra en la bandeja de utensilios.

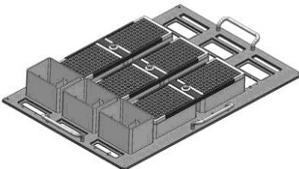
②



Instale la abrazadera encima del cartucho neutralizador.

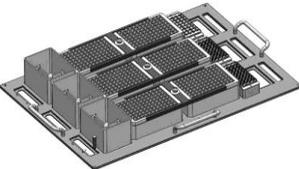
Las abrazaderas deben ser instaladas por carril. Y retenga la abrazadera.

③



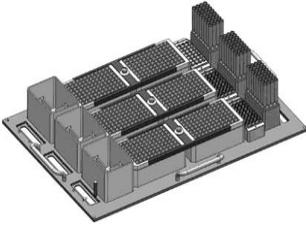
Instale la bandeja de desperdicios.

④



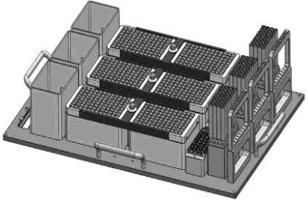
Instale la Gradilla de los tubos de elución que fueron instaladas en la tira de la premezcla PCR y la Cubierta de protección a la bandeja de utensilios.

⑤



Retire la cubierta de la Gradilla de la punta desechable e instálela en la bandeja de utensilios.

⑥



Instale la perforadora de 8 agujeros.

- 8) Al completar la instalación de los componentes para la extracción del ácido nucleico, prepare el control y las muestras.
- 9) Prepare las muestras clínicas en la BSC de presión negativa. Antes del uso, limpie la BSC sobre la cual se llevará a cabo la extracción del ácido nucleico. Realice la muestra dentro de una BSC a presión negativa, limpie la BSC antes de ser usada.

- ⚠ Limpie la superficie con hipoclorito de sodio al 0.5% y etanol al 70% o agua destilada antes y después de usarla con el fin de evitar contaminación. Después de cada uso, encienda la lámpara UV para eliminar los contaminantes.
- ⚠ Debe apagar la lámpara UV mientras usa la banqueta limpia.



**Fig. 59 Preparación de los componentes necesarios para la carga de la muestra**

- 10) Tome el número necesario de Tubos de Carga de muestra, marque el nombre sobre el tubo de carga de muestra para evitar confusiones. Insértelo dentro de la gradilla

- ⚠ Use un tubo de carga de muestra con ADN IPC seco y verifique el color azul (ADN IPC) en el final del tubo.

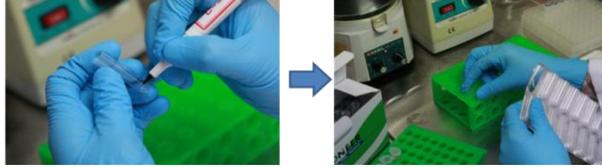


Fig. 60 Preparación del Tubo de carga de muestra

- 11) Prepare el contenedor para la muestra y el control (neutralizador SL, SPC, LPC/HPC), lleve a cabo la carga dentro del tubo de carga de muestras y siga los siguientes pasos del 12) ~ 15).
- 12) Cargue 400  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL (componente del kit de Diagnóstico *AccuPower®*) en el tubo NTC usando una pipeta.
- 13) Cargue 395  $\mu\text{l}$  de neutralizador SL en los tubos SPC, añada 5  $\mu\text{l}$  de SPC 1~5 en cada tubo.

⚠ Si tiene la fecha previa de los mismos lotes del kit de diagnóstico y del kit de extracción, puede saltar la calibración SPC. Mediante el guardado automático de la información estándar, en este caso NTC, LPC y HPC funcionan como control.  
Cuando el ensayo sea repetido con el mismo lote del Kit de diagnóstico y el Kit de extracción

**NTC** : Cargue 400  $\mu\text{l}$  del neutralizador SL en el tubo NTC.

**LPC** : Cargue 395  $\mu\text{l}$  del neutralizador SL en el tubo LPC y añada 5  $\mu\text{l}$  de LPC (**tubo azul**, componente del Kit de diagnóstico *AccuPower®*)

**HPC** : Cargue 395  $\mu\text{l}$  del neutralizador SL en el tubo HPC y añada 5  $\mu\text{l}$  de HPC (**tubo rojo**, componente del Kit de diagnóstico *AccuPower®*).

- 14) Listo para usar el control del producto cargado con el tubo de carga de la muestra, instale la gradilla del tubo de la muestra

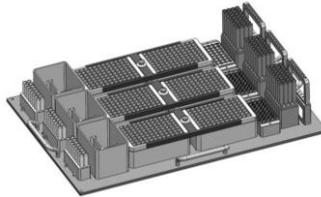
⚠ Después de desbloquear el dispositivo de fijación del tubo de las muestras, ajuste el tubo.

⚠ Cuando instale la Gradilla de los tubos de muestra, mantenga una dirección vertical durante la remoción e instalación de la gradilla para evitar verter la solución cargada

- 15) Cargue 400  $\mu\text{l}$  de la muestra clínica al tubo de carga de la muestra. Termine la carga de la muestra clínica, mueva el Tubo de carga de la muestra a la gradilla de los tubos de muestra.

- ⚠ Confirme la posición exacta de cada Tubo de Carga de muestra, y luego ajústelo.
- ⚠ Si los guantes o la punta y así sucesivamente están contaminados mediante una muestra clínica, retire el contaminante de inmediato. Luego use uno nuevo.
- ⚠ Una vez que el tubo haya sido instalado, empuje el dispositivo de ajuste para bloquear la posición del Tubo de Carga de la muestra.

- 16) Coloque la Gradilla de tubos de la muestra sobre la bandeja de utensilios del *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx.



**Fig. 61 Instalación de la Gradilla de tubos de la muestra**

- 17) Verifique que todos los componentes estén instalados con normalidad en la Bandeja de utensilios.
- 18) Instale la bandeja de utensilios sobre el instrumento *ExiPrep*<sup>™</sup> 48 Dx.

- ⚠ Verifique cada lado, Izquierdo: Gradilla de tubos de muestra / Derecho: Perforadora de 8 agujeros,  
Luego empuje la bandeja de utensilios dentro del instrumento, con mucho cuidado.



**Fig. 62 Instalación de la Bandeja de utensilios**

- 19) Finalizado todo el proceso, – ajuste del programa, muestra lista y bandeja de ajuste instalada– Haga clic en la pantalla “Apply Run (Aplicar Ejecución)” ubicada en la parte inferior derecha para comenzar la extracción del ácido nucleico.

- ⚠ El tiempo de ejecución de la extracción tarda de 60 a 80 minutos dependiendo del tipo de muestra.
- ⚠ Durante el proceso de extracción, si aparece un mensaje de error, por favor contacte a la tienda más cercana o al equipo TS de Diagnóstico Molecular Internacional de Bioneer.



Fig. 63 Comienzo de la extracción del ácido nucleico mediante el software *ExiPrep™ 48*

### 8.7.2. PCR en tiempo real usando *Exicycler™ 96*

\* Por favor refiérase a la guía del usuario del *Exicycler™ 96* y del software *ExiPrep™ 48*.

- 1) Al terminar la extracción del ácido nucleico, verá el mensaje emergente que notifica el final. Presione el botón "Door (Puerta)" para abrir la puerta en la parte frontal de la máquina, y saque la Bandeja de utensilios.

- ⚠ Al terminar la extracción del ácido nucleico, saque la Bandeja de ajuste dentro de 10 minutos. Luego separe la Tira de la Premezcla de PCR de la Gradilla de tubos de elución, y procese todos los pasos. El retraso prolongado puede ocasionar la degradación del ácido nucleico, lo cual puede afectar el valor del resultado.

- 2) Refiérase a 8.5.2 2)~6), Listo para el proceso PCR después de separar la tira de premezcla de PCR de la Gradilla de los tubos de elución.
- 3) Haga clic en el ícono "Assign (Asignar)". La lista de información de la extracción de ácido nucleico terminada aparece en pantalla. Marque la casilla que desee para el proceso de PCR. Dependiendo de la posición del carril del *ExiPrep™ 48 Dx*, decida la posición del pozo PCR.

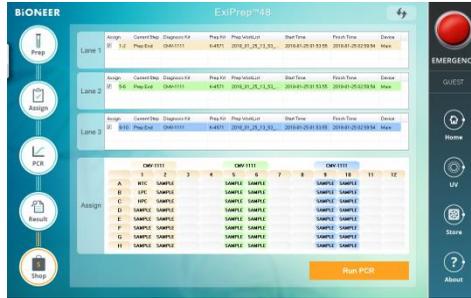


Fig. 64 Selección de la muestra para el proceso de PCR

- Presione el botón Door (Puerta) del *Exicycler™* 96 durante 2 segundos, el bloque térmico de 96 pozos sale del instrumento. Ajuste la Tira de premezcla de PCR en la posición correcta seleccionada por el software.

- ⚠ La posición de las tiras de premezcla de PCR coincide exactamente con la posición asignada por el software.
- ⚠ Si usted ejecuta la PCR con 4 tiras, coloque la tira de equilibrio en la posición opuesta para equilibrar el bloque térmico *Exicycler™* 96.

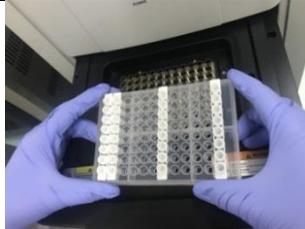


Fig. 65 Forma de ajuste de la Tira de premezcla de PCR del *Exicycler™* 96

- Después de ajustar la Tira de Premezcla de PCR, presione el botón “Run PCR (Ejecutar PCR)” ubicado en la parte inferior derecha. Aparece una ventana emergente “Data name (Nombre de los datos)”, llénela con el nombre de la prueba y luego presione el botón “OK”.

- ⚠ WorkList (La Lista de trabajo) se guarda de esta forma: programa ExiStation™ 48 Manager> SET UP > Data > WorkList



Fig. 66 Ventana emergente de "Data name (Nombre de los datos)"

- 6) Complete el paso 5), el *Exicycler*<sup>™</sup> 96 se ejecuta automáticamente.

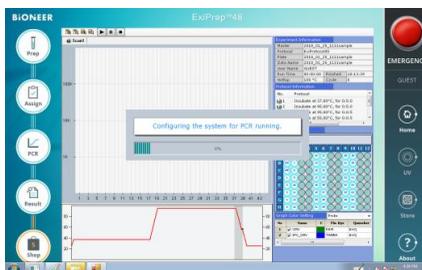


Fig. 67 Pantalla de Ejecución de la PCR

- 7) Complete la PCR, haga clic en el ícono 'Result (Resultado)' para confirmar el resultado.

- △ Haga clic en "Analysis (Análisis)", aparece un programa de análisis en una ventana emergente y puede confirmar el detalle de los resultados.
- △ Después de hacer clic en el botón "Print (Imprimir)" (a la derecha del botón Analysis (Análisis)), seleccione el resultado del análisis que desea imprimir y pueda ser impreso un informe.
- △ El análisis de los resultados se guarda automáticamente en esta carpeta programa *ExiStation*<sup>™</sup> 48 Manager> SET UP > Data > WorkList > relevant data (datos relevantes).



Fig. 68 Análisis de datos

## 8.8. Proceso de manejo de desperdicios experimentales

- 1) Retire todos los consumibles y componentes, comenzando por los Cartuchos neutralizadores y varias gradillas del instrumento, y deseche todos los líquidos y consumibles en sus contenedores correspondientes.

- |   |   |
|---|---|
| ⚠ | Si hay pozos no utilizados en los Cartuchos neutralizadores, retire la punta de filtro usada del Cartucho neutralizador ②. Tome un paño libre de pelusas o etanol al 70% y limpie la superficie de la cinta de los Cartuchos neutralizadores. Sustituya la tapa de los Cartuchos neutralizadores y manténgalos en un BCS de presión positiva para su posterior uso. |
| ⚠ | Cubra los cartuchos neutralizadores usados con las tapas y deséchelos de acuerdo con las normas de seguridad locales o el procedimiento interno del laboratorio.  |

- 2) Retire el Protector de la punta y el Protector de contaminación, luego límpielas con etanol al 70% y vuelva a instalarlas.
- 3) Empuje la Bandeja de ajuste, cierre la puerta del instrumento e inicie la esterilización por UV haciendo clic en “UV ON (UV ENCENDIDO)” en el panel de control.



Fig. 69 Panel de control del *ExiPrep*<sup>™</sup> 16 Dx – UV

- 4) Después de que la ejecución de la PCR haya terminado, seleccione la pestaña 'Result (Resultado)' para comprobar los resultados de cada muestra.

⚠ NO despegue la cinta de sellado óptico del Kit de Diagnóstico. Deséchelos de acuerdo con las regulaciones locales de seguridad o con el procedimiento interno del laboratorio.

## 8.9 Análisis de Datos

### (1) Calibración (VHB SPC (1) – (5))

Para la prueba con el nuevo Lote de kit de diagnóstico y/o kit de extracción, debe realizarse una calibración. La prueba utiliza 5 pozos de SPC (HBV SPC (1)–(5)) para generar una curva estándar. Además, el usuario puede chequear la validez del lote con el software *ExiStation™* manager ya sea en el monitor o en un informe impreso. El lote es válido, si al menos 3 SPC son válidos.

### (2) Control (LPC y HPC del VHB)

Cada prueba está acompañada con un control. La prueba utiliza 2 pozos de PC (HPC, LPC) para confirmar una validez de cada prueba. El usuario puede comprobar la validez de la prueba con el software *ExiStation™* Manager ya sea en el monitor o en un informe impreso.

### (3) NTC

Cada prueba utiliza 1 pozo de NTC para chequear cualquier contaminación en el proceso de la carga de la muestra, extracción del ácido nucleico, preparación de la PCR, para así evitar un error de falso positivo.

La validez del SPC y del NtC se determina por el valor Ct de la señal VHB. Si el ensayo es válido, el Ct de VHB será 'Undetermined (No determinado)' en el pozo NTC y el valor de Ct de SPC estará dentro de su intervalo especificado. Si los resultados del control son inválidos, tome las medidas de acuerdo con la Guía del Usuario sección 10. Resolución de problemas.

**Los resultados de los ejemplares se interpretan como sigue:**

Resultado de la Titulación	Interpretación
No detectado	No hay Valor Ct (> 45 Ct) del VHB obtenido. Los informes son reportados como "Not Detected (No detectados)".
<1.50E+01 UI/ml	Las UI/ml calculados están por debajo del Límite de Cuantificación del ensayo. Resultados del informe como "<1.50E+01".
≥ 1.50E+01 UI/ml y ≤ 1.00E+08 UI/ml	Los resultados calculados mayores que o iguales a 1.50E+01 UI/ml y menores que o iguales a 1.00E+08 UI/ml están dentro del Intervalo Lineal del ensayo.
>1.00E+08 UI/ml	Las UI/ml calculado están por encima del intervalo del ensayo. Resultados del Informe como "mayores que 1.00E+08 UI/ ml ". Si se desean resultados cuantitativos, la muestra original debe diluirse con plasma humano EDTA negativo para el VHB o con suero humano y repetir la prueba. Multiplique el

\* UI/ml ; concentración del ADN del VHB en copia/ml X 0.7 UI/copia = ADN de VHB en UI/ml

## **8.10 Control de Calidad**

### **(1) IPC (Control Interno Positivo)**

Cada tubo de ensayo contiene un IPC para comprobar la inhibición de la PCR por la impureza o el ciclo térmico mal controlado con el fin de controlar todo el proceso. El IPC se seca con el Tubo de la carga de la muestra (accesorio para la extracción del ácido nucleico). Las altas concentraciones de ADN de VHB pueden ocasionar una señal fluorescente de IPC reducida o ausente debido a la competencia de la PCR. La validez de la PCR se determina por el valor Ct de la señal IPC. Si el valor Ct está dentro del rango especificado, es válido. Si el valor Ct está fuera del rango especificado, es inválido. La validez del SPC y del NTC se determina por el valor Ct de la señal VHB. Si el ensayo es válido, el Ct de VHB será 'undetermined (no determinado)' en el pozo NTC y el valor de Ct de SPC estará dentro de su intervalo especificado. Si los resultados del control son inválidos, tome las medidas de acuerdo con la Guía del Usuario sección 10. Resolución de problemas.

El resultado del IPC determina la validez de la prueba y el valor Ct de la señal de VHB determina la concentración de VHB (IU/ml) de la muestra. Para el ejemplar de alta titulación por encima del intervalo cuantitativo deseado, el ejemplar original deberá ser diluida con el neutralizador SL proporcionado, y la prueba debe repetirse.

## 9. CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

### 9.1 Características Analíticas

#### 9.1.1 Límite de Detección (LoD)

El límite de detección del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa fue determinado mediante el análisis de las diluciones en serie de la Norma Internacional de la OMS para el ADN de VHB para los Ensayos Tecnológicos de Amplificación de Ácido Nucleico (3<sup>ra</sup> Norma Internacional de la OMS), en paneles de plasma de EDTA humano de VHB negativo de ocho niveles de diluciones además de un negativo fueron probados con tres lotes del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa.

El Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa detectó el ADN de VHB con una tasa de detección del 95%, según lo determinado por PROBIT, a una concentración de 6.02 UI/mL en plasma EDTA y de 10.47 UI/mL en suero.

**Tabla 1. Tasa de detección del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa en cada concentración en plasma EDTA**

Concentración nominal (Log <sub>10</sub> UI/mL)		Número de réplicas probadas (N)	Número de positivos detectados	Tasa Positiva (%)
NTC	0	60	0	0
0.3	-0.51	60	11	18
0.63	-0.20	60	21	35
1.26	0.10	60	36	60
1.86	0.27	60	44	73
2.51	0.40	60	41	68
3.71	0.57	60	54	90
5	0.7	60	58	97
10	1	60	60	100

**Tabla 2. Tasa de detección del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa en cada concentración en Suero**

Lote del Kit	Concentración nominal (Log <sub>10</sub> UI/mℓ)	Número de réplicas probadas (N)	Número de positivos detectados	Tasa Positiva (%)
NTC	0	72	0	0
0.63	-0.20	72	6	8
1.26	0.10	72	12	17
1.86	0.27	72	36	50
2.51	0.40	71	34	48
3.72	0.57	72	52	72
5.01	0.70	72	56	78
10.00	1	72	66	92
15.14	1.18	72	72	100

**Tabla 3. Análisis probit del Límite de Detección en plasma EDTA**

Concepto	LoD	95% C.I	
UI/mℓ	6.02	4.36	7.94
Log <sub>10</sub> UI/mℓ	0.78	0.65	0.90

**Tabla 4. Análisis probit del Límite de Detección en Suero**

Concepto	LoD	95% C.I	
UI/mℓ	10.47	8.30	13.18
Log <sub>10</sub> UI/mℓ	1.02	0.92	1.12

### 9.1.2 Verificación del límite de detección para el VHB genotipo B – H

La verificación del límite de detección del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa para el genotipo B–H se determinó mediante el análisis de 5 niveles distintos de diluciones del Panel Mundial de Rendimiento del ADN de VHB (código Seracare : WWHD301, EE.UU.) o se utilizó el 1<sup>er</sup> Panel Referencial Internacional de la OMS de los Genotipos del Virus Hepatitis B para las Técnicas de Amplificación del Ácido Nucleico (código PEI 5086/08) en plasma EDTA (Seracare, Milford, EE.UU.) y suero (Millipore, Darmstadt, Alemania). Se realizaron 24 réplicas en cada dilución y los resultados del estudio demuestran que el kit *Accupower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa puede detectar el ADN del VHB en plasma EDTA y suero a una concentración tan baja como 0,78 y 1.00 Log<sub>10</sub> UI/mℓ, con una tasa positiva mayor que o igual a 95%.

Tabla 5. Tasa de detección del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa en cada concentración en plasma EDTA.

Genotipo	Concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Número de réplicas probadas (N)	Número de positivos detectados	Tasa Positiva (%)
B	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	24	100
	0.70	24	23	96
C	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	24	100
	0.70	24	23	96
D	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	23	96
	0.70	24	23	96
E	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	24	100
	0.70	24	24	100
F	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	23	96
	0.70	24	24	100
G	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	23	96
	0.70	24	20	88
H	1.30	24	24	100
	1.00	24	24	100
	0.88	24	24	100
	0.78	24	23	96

Genotipo	Concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Número de réplicas probadas (N)	Número de positivos detectados	Tasa Positiva (%)
	0.70	24	24	100

Tabla 6. Tasa de detección del Kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa en cada concentración en suero

Genotipo	Concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Número de réplicas probadas (N)	Número de positivos detectados	Tasa Positiva (%)
B	1.70	24	24	100
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	24	100
C	1.70	24	24	100
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	23	96
D	1.70	24	24	100
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	24	100
E	1.70	24	24	100
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	24	100
F	1.70	24	24	100
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	23	96
G	1.70	24	24	100
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	24	100
H	1.70	24	24	100

Genotipo	Concentración (Log <sub>10</sub> UI/mL)	Número de réplicas probadas (N)	Número de positivos detectados	Tasa Positiva (%)
	1.40	24	24	100
	1.30	24	24	100
	1.18	24	24	100
	1.00	24	23	96

### 9.1.3 Rango lineal y Límite de Cuantificación (LoQ)

La linealidad y el LOQ del VHB genotipo A fue realizado con una serie de dilución del 3<sup>er</sup> Panel estándar Internacional de VHB de la OMS (código NIBSC: 10/264, Reino Unido) para miembros de titulación bajos y el plásmido de ADN de VHB, se prueba con el kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa.

El panel estándar y el plásmido de ADN del VHB se diluyeron en plasma y suero humano EDTA negativo para el VHB. La concentración de la muestra probada fue de 0,88 Log<sub>10</sub> UI/mL hasta 8 log<sub>10</sub> UI/mL en plasma EDTA y de 1.18 Log<sub>10</sub> UI/mL hasta 8 log<sub>10</sub> UI/mL en suero.

La evaluación del LoQ principal y la Linealidad fueron realizadas con tres kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa diferentes. La prueba fue realizada con cada concentración de 4 réplicas y 1 ejecución por día y en 5 días diferentes, en 3 instrumentos diferentes del sistema *ExiStation*<sup>™</sup>, resultando en 60 puntos de datos totales por diluciones.

La declaración del rango lineal para el kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa fue de 1,18 de ADN de VHB Log<sub>10</sub> UI/mL hasta al menos 8.00 de ADN de VHB Log<sub>10</sub> UI/mL, con una desviación máxima entre la media observada de la titulación Log<sub>10</sub> y el mejor modelo ajustado de 1er orden menor que 0,20 Log<sub>10</sub> para cada nivel de concentración probado en este intervalo. Por lo tanto, los resultados de este estudio apoyan el rango lineal reclamado de 1,18 hasta 8,00 Log<sub>10</sub> UI/mL.

A una concentración de 1,18 Log<sub>10</sub> UI/mL, se satisfizo el valor del error analítico total (TE) dentro de 1,00 Log<sub>10</sub> UI/mL. Por lo tanto, el LOQ declarado para el kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa, considerando todos los genotipos VHB, es de 1,18 Log<sub>10</sub> UI/mL.

**Tabla 7. Resultados de la ecuación lineal del genotipo VHB en plasma EDTA**

Genotipo VHB	Ecuación lineal en el estudio de linealidad del genotipo	Diferencia máxima entre el genotipo A del VHB y el genotipo VHB correspondiente (Log <sub>10</sub> UI/mL)	Rango lineal
A	$y = 1.0749x - 0.2416$	N/A	0.88 Log <sub>10</sub> UI/mL hasta 8.00 Log <sub>10</sub> UI/mL
B	$y = 1.0675x - 0.2507$	0.07	0.88 Log <sub>10</sub> UI/mL hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/mL

Genotipo VHB	Ecuación lineal en el estudio de linealidad del genotipo	Diferencia máxima entre el genotipo A del VHB y el genotipo VHB correspondiente (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Rango lineal
C	$y = 1.0425x - 0.165$	0.18	0.88 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
D	$y = 1.0499x - 0.2189$	0.18	0.88 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
E	$y = 1.0403x - 0.0075$	-0.19	0.88 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
F	$y = 1.0268x - 0.0266$	0.17	0.88 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
G	$y = 1.0542x - 0.1402$	-0.08	0.88 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 2.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
H	$y = 1.0834x - 0.1357$	-0.17	0.88 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 2.00 Log <sub>10</sub> UI/ml

**Tabla 8. Resultados de la ecuación lineal del genotipo VHB en Suero**

Genotipo VHB	Ecuación lineal en el estudio de linealidad del genotipo	Diferencia máxima entre el genotipo A del VHB y el genotipo VHB correspondiente (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Rango lineal
A	$y = 1.058x - 0.3768$	N/A	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 8.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
B	$y = 1.0733x - 0.3118$	-0.19	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
C	$y = 1.0426x - 0.2169$	-0.14	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
D	$y = 1.0206x - 0.1703$	-0.16	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
E	$y = 1.0615x - 0.2368$	-0.17	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
F	$y = 1.0588x - 0.229$	-0.15	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 4.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
G	$y = 1.036x - 0.2114$	-0.14	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 2.00 Log <sub>10</sub> UI/ml
H	$y = 1.065x - 0.2915$	-0.14	1.18 Log <sub>10</sub> UI/ml hasta 2.00 Log <sub>10</sub> UI/ml

**Tabla 9. Resultados del LoQ de los genotipos VHB en plasma EDTA**

VHB Genotipo	Nominal concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	N	Promedio Medida Concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Sesgol (Log <sub>10</sub> UI/ml)	SD (Log <sub>10</sub> UI/ml)	TE =  Sesgol  + 2 x SD (Log <sub>10</sub> UI/ml)	RAÍZCD[2]x 2 x SD (Log <sub>10</sub> UI/ml)
A	1.18	60	0.97	0.21	0.20	0.61	0.56
B	1.18	30	0.99	0.19	0.16	0.51	0.46
C	1.18	30	0.92	0.26	0.28	0.81	0.79
D	1.18	30	1.02	0.16	0.18	0.52	0.51
E	1.18	30	1.09	0.09	0.17	0.43	0.49
F	1.18	30	1.26	0.08	0.21	0.50	0.59
G	1.18	30	1.04	0.14	0.15	0.44	0.43
H	1.18	30	1.00	0.18	0.22	0.61	0.61

**Tabla 10. Resultados del LoQ de los genotipos VHB en Suero**

VHB Genotipo	Nominal concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	N	Promedio Medida Concentración (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Sesgol (Log <sub>10</sub> UI/ml)	SD (Log <sub>10</sub> UI/ml)	TE =  Sesgol  + 2 x SD (Log <sub>10</sub> UI/ml)	RAÍZCD[2]x 2 x SD (Log <sub>10</sub> UI/ml)
A	1.18	60	0.73	0.45	0.25	0.94	0.69
B	1.18	30	0.94	0.24	0.29	0.82	0.83
C	1.18	30	1.09	0.09	0.22	0.53	0.62
D	1.18	30	0.98	0.20	0.28	0.76	0.79
E	1.18	30	1.08	0.27	0.31	0.89	0.88
F	1.18	30	0.97	0.20	0.31	0.83	0.88
G	1.18	30	1.04	0.13	0.15	0.44	0.43
H	1.18	30	1.07	0.11	0.28	0.66	0.78

### 9.1.4 Precisión

La declaración de la precisión del kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa se determinó mediante el análisis del panel de la norma internacional (3<sup>ra</sup> Norma Internacional de la OMS) y el plásmido del VHB (Bioneer corp.). Se probaron 3 niveles de dilución en 80 réplicas para cada nivel a lo largo de tres lotes del kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa usando el sistema *ExiStation™* por 25 días en plasma EDTA y en suero (para chequear su repetibilidad).

El experimento entre lotes fue llevado a cabo en 3 lotes, 2 réplicas por muestras, y 2 ejecuciones por día durante 5 días. El experimento entre operadores y entre instrumentos fue realizado en 1 lote, 2 réplicas por muestras, y 2 ejecuciones por día durante 10 días. El experimento entre sitios fue llevado a cabo en 1 lote, 2 réplicas por muestras, y 2 ejecuciones por día durante 10 días (para verificar su reproducibilidad).

**Tabla 11. Resumen de resultados de la repetibilidad en plasma EDTA**

Concentración nominal (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Concentración asignada (Log <sub>10</sub> UI/ml)	No. de pruebas válidas	dentro de la-Ejecución (S <sub>r</sub> )	Entre-Ejecución (S <sub>n</sub> )	Entre días (S <sub>sd</sub> )	Precisión (S <sub>T</sub> )	total
6.00	6.44	80	0.09	0.04	0.06	0.12	
3.33	3.46	80	0.10	0.03	0.02	0.11	
1.26	1.23	80	0.16	0.10	0.10	0.21	

**Tabla 11. Resumen de resultados de la repetibilidad en Suero**

Concentración nominal (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Concentración asignada (Log <sub>10</sub> UI/ml)	No. de pruebas válidas	dentro de la-Ejecución (S <sub>r</sub> )	Entre-Ejecución (S <sub>n</sub> )	Entre días (S <sub>sd</sub> )	Precisión (S <sub>T</sub> )	total
6.00	5.65	80	0.15	0.13	0.07	0.21	
3.33	3.19	80	0.10	0.04	0.03	0.11	
1.65	1.33	80	0.18	0.10	0.13	0.24	

**Tabla 11. Resultados de la reproducibilidad en plasma EDTA**

Plasma	Concentración nominal (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Concentración asignada (Log <sub>10</sub> UI/ml)	No. de pruebas válidas	Desviación estándar			
				Entre-lotes	Entre sitios	Entre operadores	Entre instrumentos
	6.00	6.43	200	0.11	0.13	0.10	0.08
	3.33	3.47	200	0.09	0.12	0.10	0.10
	1.26	1.26	200	0.20	0.21	0.22	0.22

**Tabla 11. Resultados de la reproducibilidad en Suero**

Suero		Desviación estándar				
Concentración nominal (Log <sub>10</sub> UI/ml)	Concentración asignada (Log <sub>10</sub> UI/ml)	No. de pruebas válidas	Entre-lotes	Entre sitios	Entre operadores	Entre instrumentos
6.00	5.66	200	0.21	0.18	0.17	0.19
3.33	3.21	200	0.10	0.13	0.09	0.09
1.65	1.34	200	0.22	0.26	0.21	0.26

### 9.1.5 Sustancias interferentes

Se probaron los efectos de interferencia de veintidós (22) sustancias exógenas (incluidas las sustancias antivirales) y de siete (7) sustancias endógenas para comprobar la interferencia del kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa.

Se introdujeron sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes en el plasma EDTA y en el suero en ausencia o presencia de 2 concentraciones de VHB (3,33, 1,26 Log<sub>10</sub> UI/ml en Plasma y 3,33, 1,65 Log<sub>10</sub> UI/ml en suero) y fueron comparados para controlar el plasma EDTA y las muestras de suero que que no contenían ninguna sustancia interferente introducida. Cada nivel de concentración para sustancia interferente fue probado en tres (3) y ocho (8) réplicas.

Todas las concentraciones de sustancias interferentes probadas no mostraron ninguna influencia en el rendimiento del kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa en las concentraciones de VHB.

**Tabla 15. Interferencia – Sustancias Interferentes Exógenas**

No.	Sustancia interferente potencial	Concentración
1	Raltegravir	25.8 mg/L
2	Entecavir	164ng/ml
3	Lamivudine	44.8ug/ml
4	Telbivudine	74ug/ml
5	Rifampicin	312 mg/L
6	Trimethoprim	2760umol/ml
7	Isoniazid	5.84mmol/ml
8	Rifabutín	9.2 mg/ml
9	Adefovir dipivoxil	368ng/L
10	Sulfamethoxazole	31.6mmol/L
11	Pyrazinamide	576ug/ml

No.	Sustancia interferente potencial	Concentración
12	Nevirapine	40ug/ml
13	Ritonavir	224ug/L
14	Ribavirin	54.96ug/L
15	Abacavir	60ug/ml
16	Tenofovir	6ug/ml
17	Zidovudine	45.8ug/ml
18	Efavirenz	81.4ug/ml
19	Saquinavir	104.16ug/ml
20	Nelfinavir	40ug/ml
21	Valganciclovir	113ug/ml
22	Amprenavir	153.2ug/ml

**Tabla 16. Interferencia – Sustancias Interferentes Endógenas**

No.	Sustancia interferente potencial	Concentración
1	EDTA	540 mg/dL
2	Citrato	0.372M/ml
3	Heparina	600U/ml
4	Hemoglobina	40 mg/ml
5	Colesterol	200 mg/ml
6	Albúmina	10 g/dL
7	Bilirrubina	0.25 mg/ml

### 9.1.6 Reactividad cruzada

Los siguientes virus y bacterias fueron sometidos a pruebas de reactividad cruzada del kit *AccuPower*<sup>®</sup> de VHB de PCR Cuantitativa. Las muestras se prepararon diluyendo los organismos en plasma EDTA negativo para el VHB y en suero negativo para el VHB o en plasma EDTA enriquecido con el panel del VHB y en suero enriquecido con el VHB, y se analizaron en ocho (8) o tres (3) réplicas.

Las muestras de plasma EDTA y de suero negativas para el VHB se mostraron negativas y las muestras positivas para el VHB con puntas de organismos de reactividad cruzada demostraron la detección dentro de  $\pm 0,44 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$  en plasma EDTA y  $\pm 0,65 \text{ Log}_{10} \text{ UI/ml}$  en suero.

**Tabla 17. Lista de organismos con potencial reactividad cruzada**

<b>Virus</b>	<b>Bacteria</b>	
Virus de Hepatitis A	Virus Zika	<i>Mycobacterium gordonae</i>
HIV-1	Virus de herpes humano 6B	<i>Chlamydia trachomatis</i>
Virus de Hepatitis C	Virus de herpes humano 8	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
Virus de Epstein-Barr	VIH-2	<i>Staphylococcus aureus</i>
Citomegalovirus	Adenovirus tipo 5	
Virus de papiloma humano 16	Virus del dengue tipo 1	
Virus de papiloma humano 18	Virus del dengue tipo 2	
Poliomavirus humano BK	Virus del dengue tipo 3	
Virus del herpes simple 1	Virus del dengue tipo 4	
Virus del herpes simple 2	Virus de Influenza A (H1N1)	
Virus de Varicella-Zoster	Virus de Influenza A (H3N2)	
Virus del Nilo Occidental		

### 9.1.7 Falla total del sistema

La tasa de falla total del sistema fue evaluada con ciento veinte (120) réplicas utilizando el kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa. Se obtuvieron resultados positivos en la detección del 100% de ciento veinte (120) réplicas; en general, se demostró una tasa de éxito del sistema del 100% en el kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa en plasma y suero respectivamente.

<b>Matriz</b>	<b>Concentración (Log<sub>10</sub> UI/mL)</b>	<b>Número de prueba</b>	<b>Tasa de detección (%)</b>
<b>Plasma</b>	1.26	120	100%
<b>Suero</b>	1.51	120	100%

### 9.1.8 Contaminación cruzada

La prueba de contaminación cruzada fue realizada utilizando el kit de diagnóstico VHB de acuerdo con la pauta CTS. Se probaron altos positivos y negativos a una concentración de 7,00 Log<sub>10</sub> UI/mL y una matriz libre de VHB negativa, respectivamente.

El kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa no mostró ninguna evidencia de contaminación cruzada cuando se probó con ochenta (80) muestras positivas para el VHB (7,00 Log<sub>10</sub> UI/mL) y muestras negativas,

que se cargaron en un orden alternativo. Se realizaron diez (10) extracciones y diez (10) ejecuciones PCR en total.

Run (Ejecutar)	Número de muestras (detectados/probados)		Información de la muestra (Log <sub>10</sub> UI/ml)		Aprobado/fallido
	Positivo	Negativo	7.00	Negativo	
Ejecución 1	8/ 8	0/ 8	6.79	No detectado	Aprobado
Ejecución 2	8/ 8	0/ 8	6.85	No detectado	Aprobado
Ejecución 3	8/ 8	0/ 8	6.70	No detectado	Aprobado
Ejecución 4	8/ 8	0/ 8	6.79	No detectado	Aprobado
Ejecución 5	8/ 8	0/ 8	6.80	No detectado	Aprobado
Ejecución 6	8/ 8	0/ 8	6.68	No detectado	Aprobado
Ejecución 7	8/ 8	0/ 8	6.70	No detectado	Aprobado
Ejecución 8	8/ 8	0/ 8	6.78	No detectado	Aprobado
Ejecución 9	8/ 8	0/ 8	6.59	No detectado	Aprobado
Ejecución 10	8/ 8	0/ 8	6.74	No detectado	Aprobado
Promedio			<b>6.74</b>	-	-
SD			<b>0.12</b>	-	-

### 9.1.9 Equivalencia de la Matriz

Se utilizaron un total de treinta (30) muestras emparejadas (muestras de suero y plasma EDTA) que se recolectaron de pacientes positivos al VHB y positivos al ADN del VHB para la equivalencia de la matriz con el kit *AccuPower®* de VHB de PCR Cuantitativa.

La pendiente de la regresión de Deming fue de 1,0034 (intervalo de confianza del 95% [0,970 a 1,036]) con un intercepto de 0,2458 (intervalo de confianza del 95% [0,131 a 0,360]).

El valor de la diferencia de titulación Log<sub>10</sub> UI/ml (titulación logarítmica media de suero – titulación logarítmica media de plasma EDTA) de treinta (30) muestras emparejadas resultó de 0,5 log<sub>10</sub> UI/ml. como valor de la diferencia media resultó de -0,26 Log<sub>10</sub> UI/ml (IC 95%: 0,19 y 0,31), no hubo una diferencia significativa entre el suero y el plasma EDTA.

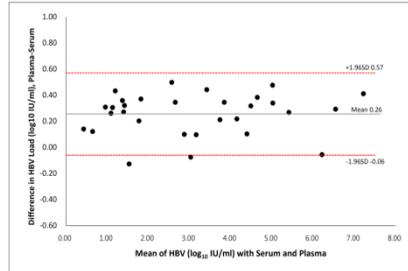
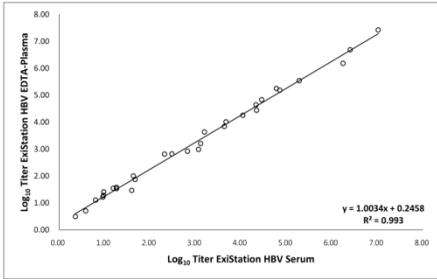


Fig. 70 Pantalla de Ejecución de la PCR

Estadística Clave		Estadística de Regresión Deming	
		Y=Pendiente * X + Intercepción	
coeficiente de correlación (R)	0.9965	Pendiente	1.0034 (0.970 hasta 1.036)
coeficiente de determinación (R <sup>2</sup> )	0.993	Intercepción	0.2458 (0.131 hasta 0.360)
Media del Sesgo	0.26 (0.19 hasta 0.31)	Err. Est. del Estimado	0.162
Desv. Est. del Sesgo	0.16	Puntos (Graficados/Total)	30/ 30
Diferencia de la media ±2SD	-0.06 hasta 0.57	Atípicos	0

## 9.2 Características de Rendimiento del Diagnóstico

### 9.2.1 Sensibilidad y Especificidad del Diagnóstico

Para la prueba de sensibilidad y especificidad del diagnóstico se utilizaron un total de doscientas cuarenta y cuatro (244) muestras clínicas confirmadas con otra prueba cuantitativa del VHB.

La concordancia porcentual entre el dispositivo de prueba bajo la evaluación y el dispositivo de comparación se calculó como sigue:

sistema <i>ExiStation™</i>	Sistema de referencia		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	133	0	133
Negativo	0	111	111
Total	133	111	244

Sensibilidad del Diagnóstico (Porcentaje de concordancia positiva) = **100 % (95% C.I 97.19 – 100)**

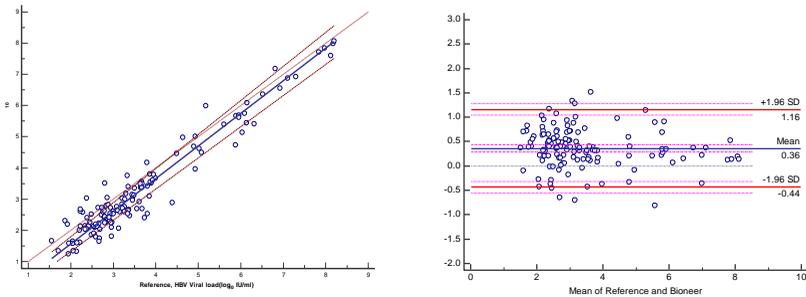
Especificidad del Diagnóstico (Porcentaje de concordancia negativa) = **100 % (95% C.I 96.65 – 100)**

### 9.2.2 Correlación

Se compararon un total de ciento treinta y tres (133) muestras clínicas de plasma EDTA positivo para el VHB con un ensayo NAT NHB aprobado por CE-IVD.

El gráfico de dispersión de los dos ensayos se muestra en el gráfico de resultados de correlación, con la ecuación lineal  $y = -0.529 + 1.048 X$  y el coeficiente de correlación  $R^2 = 0.935$ , lo que indica una correlación significativa entre los dos ensayos.

Se utilizó el análisis gráfico de Bland Altman para evaluar la diferencia entre los resultados positivos obtenidos con los dos ensayos (gráfico de Bland Altman). Los resultados mostraron que el 95,49% de los datos positivos estaban dentro del rango aceptable del 95% (-0,44 a 1,16), el valor promedio de la diferencia fue de 0,36.



**Fig. 71 Correlación con el ensayo aprobado por CE-IVD**

### 9.2.2 Verificación de la precisión

La precisión fue validada por el fabricante; los resultados de la afirmación de precisión del fabricante fueron verificados en el sitio clínico. En este estudio se analizaron dos diluciones del panel estándar internacional

del VHB que se analizaron con un lote del kit *AccuPower*® de VHB de PCR Cuantitativa de acuerdo con la CLSI EP15-A. Se analizaron dos réplicas de cada dilución por día en cada dilución durante 3 días. Los resultados de la verificación del usuario de la precisión demostraron que los resultados de la verificación del usuario fueron inferiores a la afirmación de precisión del fabricante.

Se verificó que la precisión  $S_{dentro}$  o  $S_{Total}$  del ensayo con el kit *AccuPower*® de VHB de PCR Cuantitativa es coherente con la afirmación del fabricante.

**Tabla 18. Resumen de resultados de la verificación de la precisión del usuario.**

Concentración	Rendimiento analítico		Rendimiento de la verificación		Rendimiento de la verificación	
	Valor de precisión		Valor de precisión		Valor de verificación	
	$O_{dentro}$	$O_{total}$	$S_{dentro}$	$S_{total}$	$S_{dentro}$	$S_{total}$
1.26 $\log_{10}$ UI/ml	0.16	0.21	0.16	0.14	0.25	0.33
3.33 $\log_{10}$ UI/ml	0.10	0.11	0.10	0.09	0.16	0.16

## 10. RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

### Comentarios y sugerencias

Resultados inválidos del Control Positivo Interno (IPC)	
<p>Si el TAMRA (IPC) No se detectó la señal de fluorescencia en todos los pozos (controles inconclusos)</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracción y/o error de configuración del PCR               <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Cerciórese de que fue programado y realizado el protocolo correcto de extracción/PCR de acuerdo con los Kits. Si es necesario, repita el ensayo.</li> <li>Consulte la <b><i>Güía del Usuario 8. PROTOCOLO</i></b></li> </ul> </li>   <li>• Extracción incorrecta o uso incorrecto del kit de PCR               <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Cerciórese de estar utilizando los kits apropiados para las pruebas previstas.</li> </ul> </li>   <li>• El kit podría estar dañado, debido al mal almacenamiento o vencimiento.               <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Evalúe sus condiciones de almacenamiento y revise la fecha de vencimiento. Repita el ensayo con nuevos reactivos, si es necesario.</li> <li>Consulte la <b><i>Güía del Usuario 5. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL</i></b></li> </ul> </li>   <li>• Resultados inválidos.               <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Debe probarse con el nuevo reactivo</li> </ul> </li> </ul>

<p>Si el TAMRA (IPC) No se detectó la señal de fluorescencia en los pozos particulares.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inhibición del PCR           <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Las muestras clínicas pueden contener una variedad de inhibidores de PCR. Repita el ensayo a partir del proceso de pretratamiento de muestras el cual puede reducir la inhibición de PCR.</li> <li>☞ Asegúrese de usar el método validado de pretratamiento de la muestra de acuerdo con el tipo de muestra.</li> </ul> </li> <li>• Bajo volumen de elución debido al material insoluble de las muestras           <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ La producción de ácido nucleico puede verse afectada por las condiciones de la muestra (viscosidad etc.). Repita el ensayo a partir del proceso de pretratamiento de muestras lo cual puede hacer que la muestra sea más soluble.</li> </ul> </li> </ul>
<p><b>Resultados inválidos del SPC/PC</b></p>	
<p>Si el FAM (SPC) La señal de fluorescencia no fue determinada.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El kit puede haberse estropeado, debido a un mal almacenamiento o al vencimiento.           <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Evalúe sus condiciones de almacenamiento y revise la fecha de vencimiento. Repita el ensayo con nuevos reactivos, si es necesario.</li> </ul> <p>Consulte la <b>Güía del Usuario 5. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL</b></p> </li> <li>• Reutilización de los reactivos           <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Asegúrese de no reutilizar los reactivos. La reutilización o los ciclos repetidos de congelado/descongelado de los reactivos pueden afectar la calidad del kit y los resultados del ensayo de manera concluyente. Repita el ensayo con nuevos reactivos, si es necesario.</li> </ul> <p>Consulte la <b>Güía del Usuario 5. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL</b></p> <p>Precauciones Generales</p> </li> <li>• Error de protocolo PCR           <ul style="list-style-type: none"> <li>☞ Revise su procedimiento de preparación del reactivo. Confirme la cantidad de SPC utilizada en un solo pozo.</li> </ul> <p>Consulte la <b>Güía del Usuario 8. PROTOCOLO</b></p> </li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Puede haber un error de pipeteo. ☞ Revise la técnica de pipeteo y calibración.</li> <li>• Resultados inválidos. ☞ Debe probarse con el nuevo reactivo</li> </ul>
<b>Resultados Inválidos del Control sin Plantilla (NTC)</b>	
<p>Si la señal de fluorescencia FAM fue detectada en un pozo NTC.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Puede haber ocurrido una contaminación. ☞ Asegúrese de que el espacio de trabajo y los instrumentos sean descontaminados y repita el ensayo.</li> <li>• El kit puede haberse estropeado, debido a un mal almacenamiento o al vencimiento. ☞ Evalúe sus condiciones de almacenamiento y revise la fecha de vencimiento. Repita el ensayo con nuevos reactivos, si es necesario. Consulte la <b><i>Guía del Usuario 5. ALMACENAMIENTO Y VIDA ÚTIL</i></b></li> <li>• Error de protocolo PCR ☞ Revise su procedimiento de preparación del reactivo. Confirme si los controles y muestras están cargados en los pozos apropiados los cuales son asignados mediante el protocolo S/W (especialmente el(los) pozo(s) NTC). Consulte la <b><i>Guía del Usuario 8. PROTOCOLO</i></b></li> <li>• Puede haber un error de pipeteo. ☞ Revise la técnica de pipeteo y calibración.</li> </ul>

## 11. REFERENCIAS

Mackay IM. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Infect. 10:190–212

GUIDELINES FOR THE PREVENTION, CARE AND TREATMENT OF PERSONS WITH CHRONIC HEPATITIS B INFECTION, World Health Organization 2015

EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection, Journal of Hepatology 2012 vol. 57 j 167–185

Efficiency and safety of telbivudine in pregnant women to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus, Chin J Hepatol , March 2012 , Vo1 . 20 , No . 3

Hayden RT. et al. (2008) Multicenter comparison of different real-time PCR assays for quantitative detection of Hepatitis B virus. J. clin. Microbiol. 46:157–163

Carbone A et al. (2008) HBV-associated lymphoproliferative disorders: classification and treatment. Oncologist. 13:577–585

12. SÍMBOLOS



Número de catálogo



Límites de temperatura



Dispositivo médico de diagnóstico in vitro



Contiene suficiente para la prueba



Fabricante



Cuidado, consulte los documentos acompañantes



Código del lote



Fecha de vencimiento



No reutilizar



Consulte las instrucciones de uso



Advertencia de peligro e irritación



Manténgalo alejado de la luz solar

## • Bioneer Worldwide

### Bioneer Corporation

**Address** 8-11 Munpyeongseo-ro, Daedeok-gu, Daejeon, 34302, Republic of Korea  
**Tel** +82-42-930-8777 (Korea: 1588-9788)  
**Fax** +82-42-930-8688  
**E-mail** sales@bioneer.com  
**Web** www.bioneer.com

### Bioneer Inc.

**Address** 155 Filbert St. Suite 216 Oakland, CA 94607, USA  
**Tel** +1-877-264-4300 (Toll-free)  
**Fax** +1-510-865-0350  
**E-mail** orders.usa@bioneer.com  
**Web** us.bioneer.com

### Bioneer R&D Center

**Address** Korea Bio Park BLDG #B-702, 700 Daewangpangyo-ro, Bundang-gu, Seongnam-si  
Gyeonggi-do, 13488, Republic of Korea  
**Tel** +82-31-628-0500  
**Fax** +82-31-628-0555  
**E-mail** sales@bioneer.co.kr  
**Web** www.bioneer.co.kr