ROTULO

Karin Osella
Directora Técnica
MN 11724
Altona Diagnostics Argentina s.r.l.

Mariela Ines Aranda
Gerente
Altona Diagnostics Argentina S.R.L.

AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5
IVD importado
Autorizado por ANMAT - PM 2436-54
Importado y distribuido por:
altona Diagnostics Argentina S.R.L
Monroe 1777, PB y Entrepiso, CABA.
Argentina.
Habilitación: N° 2436.
Directora Técnica: Farm. Karin Osella.
USO PROFESIONAL EXCLUSIVO.
LEA ATENTAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES

Se acondiciona con una etiqueta que contiene los datos siguientes:

- Nombre del producto:
- Leyenda: "IVD importado"
- Importado y distribuido por:
- Domicilio:
- Habilitación N° 2436.
- Director Técnico:
- Leyenda: Autorizado por ANMAT N° PM 2436-54
- Leyenda: "USO PROFESIONAL EXCLUSIVO"
- Leyenda: "LEA ATENTAMENTE EL MANUAL DE INSTRUCCIONES"

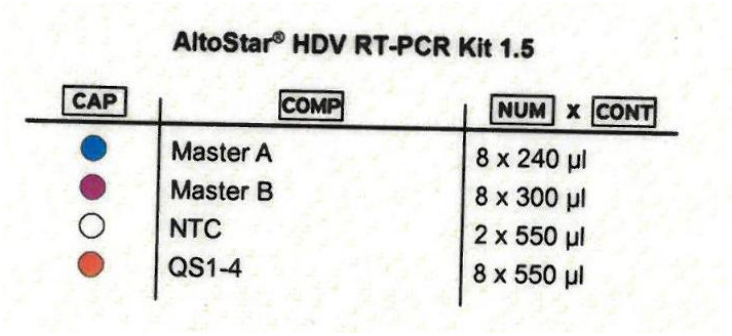
Información de origen en el envase secundario:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Fecha de vencimiento
- Constitución del kit, número de determinaciones posibles
- Indicación de unidades métricas
- Indicación de condiciones de almacenamiento y transporte.
- Nombre y domicilio de establecimiento elaborador

ETIQUETAS DE ORIGEN

Etiquetas de caja: envase secundario





Etiquetas de los tubos: envase primario



EMBALAJE



Material de embalaje secundario

Los tubos de plástico están embalados en una caja de cartón [dimensiones (ancho x alto x profundidad) 122 mm x 70 mm x 95 mm], que contiene un inserto de cartón con orificios para estabilizar los tubos durante el transporte y almacenamiento.



Material de embalaje primario

Todos los reactivos incluidos en el Altostar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se suministran en tubos de polipropileno de 2 ml con tapa.

Detalle:

- ✓ Tapa azul para tubo de plástico de 2 ml (Master A)
- ✓ Tapa morada para tubo de plástico de 2 ml (Master B)
- ✓ Tapa roja para tubo de plástico de 2 ml (QS 1-4)
- ✓ Tapa blanca para tubo de plástico de 2 ml (NTC)

AltoStar®

Instrucciones de uso

AltoStar®
HDV RT-PCR Kit 1.5

05/2025 ES

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

AltoStar®

HDV RT-PCR Kit 1.5

Para utilizar con

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)

CE 0483

IVD

REF AS0401543

Σ 96

05 2025

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12
22767 Hamburg • Germany

Índice

1. Acerca de estas instrucciones de uso 8

2. Uso indicado 9

3. Componentes del kit 10

3.1 Reactivos 10

4. Almacenamiento y manipulación 11

4.1 Almacenamiento 11

4.2 Manipulación 12

4.2.1 Master A y Master B 12

4.2.2 Estándares de cuantificación y No Template Control (control negativo) ... 13

5. Descripción del producto 13

5.1 Información general 14

5.2 Descripción de los reactivos 15

5.2.1 Master A y Master B 15

5.2.2 Estándares de cuantificación 15

5.2.3 No Template Control (control negativo) 16

5.3 AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 16

5.4 Muestras 17

5.4.1 Tipos de muestras 17

5.4.2 Recogida y manipulación de muestras 17

6. Advertencias, precauciones y limitaciones 19

7. Uso del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 21

7.1 Volumen de muestras 21

7.2 Tubos de muestras 21

7.3 Códigos de barras de la muestra 21

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.4 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados 22
7.5 Material y dispositivos generales 23
7.6 Procedimiento 24
7.6.1 Descripción general del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) 24
7.6.2 Programación de una AltoStar® run (serie) 30
7.6.3 Inicio de una serie de configuración de PCR 31
7.6.3.1 Preparación de reactivos para una serie de configuración de PCR 32
7.6.3.2 Carga del AltoStar® AM16 para una serie de configuración de PCR 32
7.6.3.3 Durante la serie de configuración de PCR 36
7.6.4 Fin de la serie de configuración de PCR 36
7.6.4.1 Resultados de serie de configuración de PCR 37
7.6.5 Sellado de la PCR plate (placa PCR) 39
7.6.5.1 Estabilidad de la mezcla de PCR 41
7.6.6 Inicio de una serie PCR 41
7.6.6.1 Durante la serie PCR 42
7.6.6.2 Asignación de ensayos a grupos de pocillos 42
7.6.7 Análisis de datos PCR 45
7.6.7.1 Corrección de la línea de base 47
7.6.7.2 Exclusión de señales de PCR irregulares 49
7.6.7.3 Ajuste de umbrales 53
7.6.8 Validez de los resultados de PCR 57
7.6.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos 57
7.6.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico 60
7.6.8.3 Validez de los resultados para una muestra 61
7.6.9 Exportación de resultados de PCR sin transferencia a un LIMS 62
7.6.9.1 Interpretación manual de los resultados 64
7.6.10 Exportación de resultados de PCR a un LIMS 65

IF-2026-10342326-APN-INPM#ANMAT

8. Datos de rendimiento 66
8.1 Plasma 66
8.1.1 Sensibilidad analítica 66
8.1.2 Especificidad analítica 68
8.1.2.1 Muestras negativas 68
8.1.2.2 Sustancias interferentes 68
8.1.2.3 Reactividad cruzada 70
8.1.3 Rango lineal 71
8.1.4 Precisión 72
8.1.5 Índice de fallo total 74
8.1.6 Arrastre 74
8.1.7 Rendimiento clínico 74
8.2 Suero 77
8.2.1 Sensibilidad analítica 77
8.2.2 Especificidad analítica 77
8.2.2.1 Muestras negativas 78
8.2.2.2 Sustancias interferentes 78
8.2.2.3 Reactividad cruzada 78
8.2.3 Rango lineal 79
8.2.4 Precisión 80
8.2.5 Índice de fallo total 82
8.2.6 Arrastre 82
8.2.7 Rendimiento clínico 82
9. Eliminación 82
10. Control de calidad 83
11. Soporte técnico 83
12. Resumen de seguridad y resultados 84

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

13. Bibliografía 84

14. Marcas comerciales y aviso legal 85

15. Símbolos 86

16. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect software e información para la integración de LIMS 88

17. Historial de revisiones 90

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

1. Acerca de estas instrucciones de uso

Estas instrucciones de uso guían al usuario en la utilización del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 en el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización) (Hamilton; en lo sucesivo, se abreviará como AltoStar® AM16) con el AltoStar® Connect software (versión 1.7.8 o superior, Hamilton) para la configuración de PCR automatizada en el CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad, en lo sucesivo, se abreviará como CFX96™ DW Dx) con el CFX Manager™ Dx software (versión 3.1, Bio-Rad) para PCR en tiempo real. Para obtener más información sobre el uso del AltoStar® AM16, el AltoStar® Connect software, el kit AltoStar® Purification Kit 1.5, el AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno) y el CFX96™ DW Dx, consulte las instrucciones de uso respectivas que figuran a continuación:

- AltoStar® Automation System AM16 Manual IVD del operador (Hamilton)
- AltoStar® Connect Software Manual IVD (Hamilton)
- Instrucciones de uso AltoStar® Purification Kit 1.5
- Instrucciones de uso AltoStar® Internal Control 1.5
- Sistemas CFX96™ Dx y CFX96™ Deep Well Dx Manual de funcionamiento (Bio-Rad)

En este manual, los términos PRECAUCIÓN y NOTA tienen los significados siguientes:

PRECAUCIÓN



Destaca instrucciones o procedimientos operativos que, si no se siguen correctamente, pueden provocar lesiones personales o afectar al rendimiento del producto. Contacte con el soporte técnico de altona Diagnostics para recibir ayuda.

NOTA



Se ofrece al usuario información que es útil pero no esencial para la tarea en cuestión.

Lea las instrucciones de uso detenidamente antes de utilizar el producto.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

2. Uso indicado

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 es un test diagnóstico *in vitro* basado en tecnología PCR en tiempo real para la detección y cuantificación de ARN específico del virus de la hepatitis D (HDV) en plasma con EDTA y suero humanos. Está configurado para su uso con el CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) en combinación con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización), el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y el AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno).

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se ha diseñado para la supervisión de la carga viral en individuos con la infección por HDV.

Los resultados generados con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 deben interpretarse junto con otros hallazgos clínicos y de laboratorio.

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se ha diseñado para que lo utilicen usuarios profesionales formados en técnicas biológicas moleculares y procedimientos de diagnósticos *in vitro*.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

3. Componentes del kit

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 está integrado por una caja con reactivos.

3.1 Reactivos

La caja del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 contiene los siguientes componentes:

Tabla 1: Componentes del kit

Color de la tapa	Componente	Número de tubos	Volumen nominal [µl/tubo]
Azul	Master A[1)]	8	240[2)]
Violeta	Master B[1)]	8	300[3)]
Rojo	QS1[4)]	2	550
Rojo	QS2[4)]	2	550
Rojo	QS3[4)]	2	550
Rojo	QS4[4)]	2	550
Blanco	NTC[5)]	2	550

[1)] Contiene material biológico de origen animal

[2)] Contiene un volumen adicional de 40 µl para compensar el volumen muerto de la manipulación de líquido del AltoStar® AM16

[3)] Contiene un volumen adicional de 52 µl para compensar el volumen muerto de la manipulación de líquido del AltoStar® AM16

[4)] Estándar de cuantificación (control positivo)

[5)] No Template Control (control negativo)

PRECAUCIÓN



Antes del primer uso, compruebe el producto y sus componentes para ver si están completos en cuanto a número, tipo y relleno. No utilice un producto incompleto o defectuoso, pues el rendimiento del mismo podría verse afectado.

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 contiene suficientes reactivos para realizar 96 reacciones en un número máximo de 8 series.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

La caja del kit se envía en hielo seco. En el momento de la recepción y antes de su primer uso, compruebe lo siguiente en la caja del kit y sus componentes:

- Integridad
- Si está completo en cuanto a número, tipo y relleno
- Etiquetado correcto
- Fecha de caducidad
- Estado congelado
- Claridad y ausencia de partículas

Si uno o más componentes no están congelados en el momento de la recepción, o si se han puesto en peligro tubos durante el envío, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics para obtener ayuda (consulte el capítulo 11. Soporte técnico).

4. Almacenamiento y manipulación

Todos los reactivos incluidos en el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 son soluciones listas para usar.

4.1 Almacenamiento

Todos los reactivos del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 deben almacenarse entre -25 °C y -15 °C tras su llegada.

PRECAUCIÓN



Unas condiciones de almacenamiento inadecuadas podrían afectar al rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



No use productos cuya fecha de caducidad haya expirado. El uso de productos caducados puede afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

4.2 Manipulación

PRECAUCIÓN



No exceda la secuencia de congelación y descongelación ni las duraciones de manipulación especificadas en estas instrucciones de uso, ya que podría afectar al rendimiento del producto.

PRECAUCIÓN



La manipulación incorrecta de componentes de productos y muestras puede provocar contaminación y podría afectar al rendimiento del producto:

- No intercambie tapones de viales y botes.
- Almacene los materiales positivos y/o potencialmente positivos separados de los componentes del kit.
- Utilice áreas de trabajo separadas para la preparación de las muestras, la configuración de reacción y las actividades de amplificación/detección.
- Deseche siempre los guantes después de manipular material positivo y/o potencialmente positivo.
- No abra las PCR plates (placas PCR) después de la amplificación.

PRECAUCIÓN



No mezcle componentes de diferentes lotes de kits. El uso de diferentes lotes de kits puede afectar al rendimiento del producto.

4.2.1 Master A y Master B

Tras la descongelación, el Master A y Master B permanecerán estables durante 5 horas a una temperatura de hasta +30 °C.

NOTA



Si Master A y Master B se han descongelado pero no se han utilizado, pueden volver a congelarse y a descongelarse para series futuras. Si se abren, deseche las tapas y utilice nuevas tapas para evitar la contaminación de los reactivos.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

4.2.2 Estándares de cuantificación y No Template Control (control negativo)

1. Después de la descongelación, los estándares de cuantificación (QS) y el No Template Control (NTC, control negativo) son estables durante 5 horas a una temperatura de hasta +30 °C.
2. Deseche las tapas de los tubos de QS y NTC en cada uso y utilice nuevas tapas para evitar la contaminación de los reactivos.
3. Tras el uso, cierre los tubos de QS y NTC con tapas nuevas y congélelos inmediatamente.
4. No supere la siguiente secuencia de descongelación-congelación para cada tubo de QS y NTC: *Descongelación 1 → Congelación 1 → Descongelación 2 → Congelación 2 → Descongelación 3 → Congelación 3 → Descongelación 4*

5. Descripción del producto

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 es un test diagnóstico *in vitro* para la detección y la cuantificación de ARN específico de HDV en plasma con EDTA y suero humanos.

Se basa en la tecnología de RT-PCR en tiempo real, que utiliza la reacción de la transcriptasa inversa (RT) para convertir ARN en ADN complementario (ADNc), la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias objetivo específicas de HDV y sondas específicas objetivo etiquetadas con fluorescencia para la detección del ADN amplificado.

Además del sistema de detección y amplificación específico del ARN del HDV, que se dirige a la región anterior al gen HDAg del genoma viral, el ensayo incluye oligonucleótidos para la amplificación y la detección del control interno (en lo sucesivo abreviado como IC; AltoStar® Internal Control 1.5).

La sonda específica para el ARN del HDV está marcada con el fluoróforo FAM™. La sonda específica para el IC está marcada con un fluoróforo (JOE™) detectable en el canal VIC™.

Utilizar sondas conectadas a colorantes distinguibles permite la detección paralela de ARN específico de HDV y el IC en los canales de detección correspondientes del CFX96™ DW Dx.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

5.1 Información general

El virus de la hepatitis D (HDV) es el único miembro del género *Deltavirus* y pertenece a la familia *Kolmioviridae*. Se han identificado 8 genotipos de HDV y su distribución geográfica varía en todo el mundo. El genoma del HDV está formado por un ARN circular cerrado de una sola cadena que codifica una única proteína, el antígeno de la hepatitis delta (HDAg). El HDV se considera un «virus satélite» porque necesita la presencia del virus de la hepatitis B (HBV) para reproducirse [1].

La infección por el HDV puede ocurrir tanto en forma de coinfección (un paciente se infecta simultáneamente con el HBV y el HDV) o como superinfección (un paciente padece una infección crónica por el HBV y contrae el HDV). Mientras que la coinfección suele dar lugar a una hepatitis aguda y solo se cronifica en raras ocasiones, la superinfección suele provocar infecciones crónicas por HDV [2]. La transmisión del HDV, igual que la del HBV, suele ocurrir a través de piel dañada (por inyecciones, tatuajes, etc.) o por contacto con sangre o productos sanguíneos infectados. Los pacientes infectados de forma crónica por el HBV corren el riesgo de padecer una infección por el HDV, así como las personas que no son inmunes al HBV. Se estima que hay 12 millones de personas positivas para el HDV en todo el mundo, con una prevalencia estimada del 4,5 % entre las personas positivas para el HBsAg. La prevalencia más alta se encuentra en Mongolia, la República de Moldavia y los países en el oeste y el centro de África [3].

La coinfección por el HDV y el HBV tiene síntomas similares a los de la infección por el HBV solo, y puede incluir fiebre, cansancio, ictericia, problemas gastrointestinales y dolor en las articulaciones. Los pacientes suelen recuperarse completamente de una infección aguda por el HDV. Comparada con una infección crónica por el HBV, una infección crónica por el HDV se asocia con daños más graves y rápidos en el hígado y con un riesgo más elevado de que evolucione a cirrosis y cáncer de hígado. Por eso, una infección crónica por el HDV se considera la forma más grave de hepatitis viral [4].

No existe ninguna vacuna específica contra el HDV, pero, como se necesita la presencia del HBV para la replicación del HDV, la vacuna contra el HBV también protege contra la infección por el HDV.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Durante los últimos 30 años, la hepatitis D crónica se ha tratado con peginterferón α, con el que solo se han obtenido respuestas constantes limitadas. Actualmente, la hepatitis D se puede tratar con Bulevirtida (nombre comercial Hepcludex), un péptido que se une al receptor NTCP y bloquea la entrada del HDV a los hepatocitos. Este tratamiento reduce la carga viral de forma significativa [5].

5.2 Descripción de los reactivos

5.2.1 Master A y Master B

Master A y Master B contienen todos los componentes (solución amortiguadora de PCR, transcriptasa inversa, polimerasa de ADN, sal de magnesio, cebadores y sondas) para permitir la transcripción inversa así como la amplificación con mediación de PCR y la detección objetivo de ARN específico de HDV y de IC en una configuración de reacción.

5.2.2 Estándares de cuantificación

Los QS contienen concentraciones estandarizadas de ARN específico de HDV (consulte la tabla 2). Se han calibrado con el 1er estándar internacional de la OMS para ensayos basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAT) del ARN del virus de la hepatitis D (código PEI: 7657/12). Los QS se utilizan para verificar la funcionalidad del sistema de detección y amplificación específicas del ARN del HDV, así como para generar una curva estándar, lo que permite la cuantificación del ARN específico del HDV en una muestra.

Tabla 2: Estándares de cuantificación

Estándar de cuantificación	Concentración [UI/µl]
QS1	1,00E+04
QS2	1,00E+03
QS3	1,00E+02
QS4	1,00E+01

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

5.2.3 No Template Control (control negativo)

El NTC no contiene ARN específico de HDV, pero sí contiene la plantilla de IC. El NTC se utiliza como control negativo para la RT-PCR en tiempo real de ARN específico de HDV e indica la posible contaminación de Master A y Master B.

5.3 AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

El AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) incluye los siguientes productos IVD:

- AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización) (Hamilton)
- AltoStar® Connect software versión 1.7.8 o superior (Hamilton)
- CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) con CFX Manager™ Dx versión de software 3.1 (Bio-Rad)

El flujo de trabajo incluye los pasos siguientes:

1. Programación de una AltoStar® run (serie).
2. Serie de purificación en el AltoStar® AM16 utilizando el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y el AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno).
3. Serie de configuración de RT-PCR en el AltoStar® AM16 usando el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5.
4. Serie RT-PCR en tiempo real en un CFX96™ DW Dx.

Para más detalles de los pasos 3 y 4 del flujo de trabajo, consulte el capítulo 7. Uso del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo). Todo los tipos de muestras y volúmenes de muestras especificados para su uso con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 pueden procesarse simultáneamente en el AltoStar® AM16. Cada muestra puede analizarse con tantos ensayos PCR en tiempo real en paralelo como permita el eluido disponible.

NOTA

Los ensayos con perfiles de temperatura de PCR diferentes se ordenan automáticamente en PCR plates (placas PCR) separadas.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

5.4 Muestras

5.4.1 Tipos de muestras

Los siguientes tipos de muestras están validados para su uso con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5:

- Plasma humano con EDTA
- Suero humano

PRECAUCIÓN



Este test solo se ha validado para su uso con plasma con EDTA y suero humanos. El uso de otros tipos de muestras puede afectar al rendimiento del producto.

5.4.2 Recogida y manipulación de muestras

Plasma con EDTA

La sangre debe recogerse mediante sistemas de recogida de sangre estándar y disponibles comercialmente (p. ej., de Sarstedt, Becton Dickinson, Greiner o equivalente). El contenido de los tubos deberá mezclarse justo después de la recogida de las muestras. Las muestras de sangre se deben enviar refrigeradas entre +2 °C y +8 °C. El transporte se debe realizar siguiendo las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material biológico.

Para la generación de plasma con EDTA, es necesario centrifugar la sangre entera en un plazo de 24 horas a partir de la recogida y de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el fabricante del sistema de recogida. Antes de su uso, el plasma con EDTA no debería permanecer almacenado durante más de 48 horas a temperatura ambiente (entre +20 °C y +25 °C), 5 días a una temperatura entre +2 °C y +8 °C o 2 meses a una temperatura entre -25 °C y -15 °C.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Suero

La sangre debe recogerse mediante sistemas de recogida de sangre estándar y disponibles comercialmente (p. ej., de Sarstedt, Becton Dickinson, Greiner o equivalente). El contenido de los tubos deberá mezclarse justo después de la recogida de las muestras y deberá almacenarse en posición vertical para la coagulación. Las muestras de sangre se deben enviar refrigeradas entre +2 °C y +8 °C. El transporte se debe realizar siguiendo las instrucciones locales y nacionales para el transporte de material biológico.

Para la generación de suero, es necesario centrifugar la sangre entera en un plazo de 24 horas a partir de la recogida y de acuerdo con las instrucciones proporcionadas por el fabricante del sistema de recogida. Antes de su uso, el suero no debería permanecer almacenado durante más de 48 horas a temperatura ambiente (de +20 °C a +25 °C), 5 días de +2 °C a +8 °C o 2 meses de -25 °C a -15 °C.

PRECAUCIÓN



Trate siempre las muestras como si fuera material infeccioso y (bio)peligroso conforme a los procedimientos de seguridad y de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.

PRECAUCIÓN



La recogida, el envío, el almacenamiento o la preparación inadecuados de las muestras podrían alterar el rendimiento del producto.

NOTA



El almacenamiento en congelación no pone en peligro el rendimiento del kit. Cuando trabaje con muestras congeladas, asegúrese de que se hayan descongelado y mezclado correctamente antes de su uso.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

6. Advertencias, precauciones y limitaciones

- Antes del primer uso, compruebe el producto y sus componentes para ver si están completos en cuanto a número, tipo y relleno. No utilice un producto incompleto o defectuoso, pues el rendimiento del mismo podría verse afectado.
- Unas condiciones de almacenamiento inadecuadas podrían afectar al rendimiento del producto.
- No use productos cuya fecha de caducidad haya expirado. El uso de productos caducados puede afectar al rendimiento del producto.
- No exceda la secuencia de congelación y descongelación ni las duraciones de manipulación especificadas en estas instrucciones de uso, ya que podría afectar al rendimiento del producto.
- La manipulación incorrecta de componentes de productos y muestras puede provocar contaminación y podría afectar al rendimiento del producto:
  - No intercambie tapones de viales y botes.
  - Almacene los materiales positivos y/o potencialmente positivos separados de los componentes del kit.
  - Utilice áreas de trabajo separadas para la preparación de las muestras, la configuración de reacción y las actividades de amplificación/detección.
  - Deseche siempre los guantes después de manipular material positivo y/o potencialmente positivo.
  - No abra las PCR plates (placas PCR) después de la amplificación.
- No mezcle componentes de diferentes lotes de kits. El uso de diferentes lotes de kits puede afectar al rendimiento del producto.
- Este test solo se ha validado para su uso con plasma con EDTA y suero humanos. El uso de otros tipos de muestras puede afectar al rendimiento del producto.
- Trate siempre las muestras como si fuera material infeccioso y (bio)peligroso conforme a los procedimientos de seguridad y de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.
- La recogida, el envío, el almacenamiento o la preparación inadecuados de las muestras podrían alterar el rendimiento del producto.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

- El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de la secuencia objetivo de HDV y podría afectar al rendimiento del producto.
- No use una versión del protocolo de ensayo distinta de la indicada en el código de barras 2D de estas instrucciones de uso. El uso de una versión incorrecta del protocolo de ensayo podría afectar al rendimiento del producto.
- La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación con restos de reactivos en las tapas y podría afectar al rendimiento del producto.
- No reutilice los tapones de tubos para evitar la contaminación de los reactivos, ya que podría afectar al rendimiento del producto.
- Como con cualquier test diagnóstico, los resultados se interpretarán teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.
- La presencia de inhibidores de PCR (p. ej., heparina) podría provocar falsos negativos o resultados no válidos.
- No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.
- Si la muestra contiene otros patógenos distintos de HDV, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas, lo que provocaría unos resultados de examen IVD incorrectos.
- La eliminación de los residuos peligrosos y biológicos deberá cumplir las normativas locales y nacionales para evitar la contaminación medioambiental.
- Las posibles mutaciones dentro de las regiones objetivo del genoma del HDV cubiertas por los cebadores o las sondas utilizados en el kit pueden provocar subcuantificación y/o fallos al detectar la presencia del patógeno.
- Este producto no está destinado a ser utilizado para detectar la presencia de HDV en sangre, componentes sanguíneos, células, tejidos, órganos o cualquiera de sus derivados con el fin de evaluar su idoneidad para transfusión, trasplante o administración de células.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7. Uso del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

La parte siguiente de estas instrucciones de uso describe la utilización del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 junto con el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo). El kit AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) está compuesto por distintos productos IVD (AltoStar® AM16, AltoStar® Connect software, kit AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno) y CFX96™ DW Dx). La utilización de estos productos se describe con detalle en las respectivas instrucciones de uso.

- AltoStar® Automation System AM16 Manual IVD del operador (Hamilton)
- AltoStar® Connect Software Manual IVD (Hamilton)
- Instrucciones de uso AltoStar® Purification Kit 1.5
- Instrucciones de uso AltoStar® Internal Control 1.5
- Sistemas CFX96™ Dx y CFX96™ Deep Well Dx Manual de funcionamiento (Bio-Rad)

7.1 Volumen de muestras

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 está validado para purificaciones de ácido nucleico de un volumen de muestras de 500 µl utilizando el AltoStar® AM16. Debe proporcionarse un volumen de muestras adicional para compensar el volumen muerto del tubo de muestras utilizado (consulte el capítulo 7.2 Tubos de muestras).

7.2 Tubos de muestras

Pueden comprarse tubos de muestras adecuados para su uso en el AltoStar® AM16 a altona Diagnostics (tubo de 7 ml con tapón, 82 x 13 mm, VK000010). El usuario puede probar la aplicabilidad de otros tubos de muestras. Para ver detalles, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

7.3 Códigos de barras de la muestra

Para la identificación automatizada de muestras con el AltoStar® AM16, deben etiquetarse todos los tubos de muestras con un código de barras adecuado. Para ver detalles, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.4 Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados

El material y los dispositivos que se muestran en la tabla 3 deben solicitarse a altona Diagnostics.

Tabla 3: Material y dispositivos necesarios

Material	Descripción	N.º de pedido
AltoStar® Molecular Diagnostic Workflow	El pack de productos contiene el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización), el AltoStar® Connect software (versión 1.7.8 o superior) y hardware informático	AM16
AltoStar® Detection	El pack de productos contiene el CFX96™ Deep Well Dx System con el CFX Manager™ Dx software (versión 3.1), un escáner de código de barras y hardware informático	DT16
AltoStar® Purification Kit 1.5	Química de aislamiento y purificación de ácidos nucleicos para el uso con el AltoStar® Automation System AM16	PK15-46
AltoStar® Internal Control 1.5	Extracción de ácido nucleico y control de detección y amplificación de PCR	IC15-46
PCR Plate	Placa de 96 pocillos con código de barras, semifaldón y pocillos blancos	VK000005
PCR Plate Sealing Foil	Lámina sellante para la PCR plate (placa PCR)	VK000006
1,000 µl CO-RE Tips	Puntas de filtro de 1 000 µl para usar con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	VK000007
300 µl CO-RE Tips	Puntas de filtro de 300 µl para usar con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	VK000008
Pooling Tube	Tubo con código de barras para la agrupación de reactivos de PCR	VK000002

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Material	Descripción	N.º de pedido
Waste Bag	Bolsa estéril apta para autoclave para usar con el AltoStar® Automation System AM16 (sistema de automatización)	VK000009
Screw Cap - red	Tapón de rosca para tubos de QS1-QS4 (rojo)	VK000012
Screw Cap - blue	Tapón de rosca para tubos de Master A (azul)	VK000013
Screw Cap - purple	Tapón de rosca para tubos de Master B (violeta)	VK000015
Screw Cap - white	Tapón de rosca para tubos de NTC (blanco)	VK000016

Tabla 4: Material y dispositivos adicionales de laboratorio

Material	Descripción	N.º de pedido
Sellador de placas	p. ej., AltoStar® Plate Sealer (sellador de placas)	VK000023
	p. ej., PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	VK000033

7.5 Material y dispositivos generales

- Agitador vortex
- Guantes sin polvo (desechables)
- Centrífuga para el centrifugado de componentes del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5
- Centrífuga para el centrifugado de PCR plates (placas PCR)

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6 Procedimiento

7.6.1 Descripción general del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

Los pasos del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) completo se resumen en la tabla 5. Se proporciona información sobre configuraciones específicas para el uso con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 en el capítulo 7.6.2 Programación de una AltoStar® run (serie). Para instrucciones detalladas para los pasos 1-5, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5, el AltoStar® Connect software y el AltoStar® AM16.

Los pasos 6-11 se describen con más detalle en los capítulos 7.6.3 Iniciar una serie de configuración de PCR hasta 7.6.10 Exportación de resultados de PCR a un LIMS.

Tabla 5: Descripción general del AltoStar® Workflow (flujo de trabajo)

Paso	Acción
1. Iniciar el AltoStar® AM16	• Encienda el AltoStar® AM16. • Encienda el ordenador y el monitor. • Inicie el AltoStar® Connect software.
2. Realizar mantenimiento	• En la barra de menú, haga clic en **Application** → **Instrument Maintenance** (aplicación → mantenimiento del instrumento). ◦ Si está pendiente el mantenimiento semanal, haga clic en **Start Weekly Maintenance** (iniciar mantenimiento semanal). ◦ Si está pendiente el mantenimiento diario, haga clic en **Start Daily Maintenance** (iniciar mantenimiento diario). • Siga las instrucciones en pantalla para completar el proceso de mantenimiento.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
3. Programación de una AltoStar® run (serie)	• En la barra de menú, haga clic en **Program Run** → **Program Run** (**AltoStar® Purification**) [programar serie → programar serie (AltoStar® Purification)]. De forma alternativa, vuelva a la pantalla de inicio y haga clic en el botón **Program Run** (programar serie). • Introduzca muestras o impórtelas del LIMS (por sus siglas en inglés). • Seleccione el siguiente ensayo para las muestras, a menos que ya lo haya importado del LIMS: ◦ AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 • Haga clic en el botón **Create Run** (crear serie) en la barra de herramientas para crear la AltoStar® run (serie).

Paso	Acción
4. Iniciar una serie de purificación	• En la barra de menú, haga clic en **Purification** → **Start Purification** (purificación → iniciar purificación). De forma alternativa, vuelva a la pantalla de inicio y haga clic en el botón **Start Purification** (iniciar purificación). • Seleccione la serie de purificación que desea iniciar para mostrar las muestras incluidas en la serie de purificación seleccionada. • Prepare los reactivos de purificación: ◦ Asegúrese de que los reactivos de purificación que desea utilizar tengan el mismo número de carga [excepto el AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno)] y no hayan caducado. ◦ Si hay precipitados visibles en el Lysis Buffer (tampón de lisis), caliéntelo (≤+50 °C) hasta que se disuelvan por completo. ◦ Descongele el IC [AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno)] y aplique un vórtice durante 5 segundos. ◦ Mezcle las Magnetic Beads (esferas magnéticas) con el agitador de vórtice durante 5 segundos sin mojar la tapa. • Prepare las muestras para iniciar la serie de purificación como se indica en las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5. • Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en la barra de herramientas. • Siga los cuadros de diálogo de carga y cargue el instrumento en consonancia. • Confirme el mensaje Loading complete (carga completa) haciendo clic en **OK** (aceptar) o espere 10 segundos. El sistema realizará a continuación la serie de purificación automáticamente.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
5. Finalizar la serie de purificación	• Asegúrese de que la bandeja de carga está vacía y confirme el cuadro de diálogo Run finished (serie finalizada) haciendo clic en **OK** (aceptar). • Siga las instrucciones del cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento) y confirme con **OK** (aceptar). • Selle y almacene los componentes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5 que puedan reutilizarse. Los eluidos de la eluate plate (placa de eluidos) sin sellar son estables a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante un total de 4 horas. • Si la serie de configuración de PCR asociada no se inicia inmediatamente, selle la eluate plate (placa de eluidos) con una Eluate Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas de eluidos) y almacénela a una temperatura de entre +2 °C y +8 °C durante 24 horas. • Vea los resultados de la serie de purificación para confirmar el procesamiento correcto de cada muestra.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
6. Inicio de una serie de configuración de PCR	• En la barra de menú, haga clic en **PCR Setup** → **Start PCR Setup** (configuración de PCR → iniciar configuración de PCR). De forma alternativa, vuelva a la pantalla de inicio y haga clic en el botón **Start PCR Setup** (iniciar configuración de PCR). • Seleccione la serie de configuración de PCR que desea iniciar para mostrar la eluate plate (placa de eluidos) y los reactivos en la serie de configuración de PCR seleccionada. • Prepare los reactivos de PCR: ◦ Asegúrese de que los masters y los controles que se van a utilizar son del mismo lote de kits y no están caducados. ◦ Descongele la cantidad necesaria de tubos de master y control, aplique un vortex brevemente y centrifugue. • Si la eluate plate (placa de eluidos) está sellada, centrifúguela brevemente y quite el sello con cuidado. • Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en la barra de herramientas. • Siga el cuadro de diálogo de Loading (carga) y cargue el instrumento en consonancia. • Confirme el mensaje Loading complete (carga completa) haciendo clic en **OK** (aceptar) o espere 10 segundos. El sistema realizará a continuación la serie de configuración de PCR automáticamente.
7. Finalizar la serie de configuración de PCR	• Asegúrese de que la bandeja de carga está vacía y confirme el cuadro de diálogo Run finished (serie finalizada) haciendo clic en **OK** (aceptar). • Siga las instrucciones del cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento) y confirme con **OK** (aceptar). • Selle y almacene los componentes del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 que puedan reutilizarse. • Vea los resultados de la serie de configuración de PCR para confirmar el procesamiento correcto de cada muestra.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Paso	Acción
8. Sellar la PCR plate (placa PCR)	• Selle la PCR plate (placa PCR) con una PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR).
9. Iniciar la serie PCR	• Encienda el CFX96™ DW Dx, el ordenador conectado y el monitor. • Inicie el CFX Manager™ Dx software. • Abra el CFX96™ DW Dx. • Centrifugue la PCR plate (placa PCR) e insértela en el CFX96™ DW Dx. • Seleccione **File** → **Open** → **LIMS File…** (archivo → abrir → archivo de LIMS...) en la barra de menú. • Escanee el código de barras de la PCR plate (placa PCR) con el escáner de código de barras de mano. • Cierre el CFX96™ DW Dx. • Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) para iniciar la serie PCR. Ponga nombre al archivo de la serie PCR y guárdelo. El CFX96™ DW Dx realizará a continuación la serie PCR automáticamente.
10. Separar ensayos para el análisis individual	• Separe todos los ensayos en la serie PCR en grupos de pocillos diferentes.
11. Analizar los datos e interpretar los resultados de la serie PCR	Para cada grupo de pocillos individualmente: • Realice la corrección de la línea de base en todos los pocillos para todos los canales de detección utilizados. • Excluya los pocillos con señales de PCR irregulares. • Establezca los umbrales de todos los canales de detección conforme a los controles. • Excluya los pocillos que contengan datos no válidos. • Genere el informe de resultados si los resultados no se transfieren a un LIMS o genere el archivo de resultados LIMS para la exportación de resultados al LIMS.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



El almacenamiento de eluidos en condiciones incorrectas puede provocar la degradación de la secuencia objetivo de HDV y podría afectar al rendimiento del producto.

7.6.2 Programación de una AltoStar® run (serie)

Para obtener información detallada sobre cómo iniciar una AltoStar® run (serie), consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5, el AltoStar® Connect software y el AltoStar® AM16. A continuación figuran las configuraciones específicas para usar con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5:

- Para la aplicación de ensayos cuantitativos, se seleccionan QS1-4 y NTC.
- El volumen de muestras necesario es de 500 µl más el volumen muerto para el tubo de muestras correspondiente (consulte los capítulos 7.1 Volumen de muestras y 7.2 Tubos de muestras).
- El volumen de eluido necesario para el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 es de 45 µl.
- Asegúrese de que se usa la versión correcta de protocolo de ensayo para la serie. Para obtener más información sobre la versión del protocolo actual, consulte el capítulo 16. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect software e información para la integración de LIMS. El protocolo de ensayo respectivo está codificado en el código de barras en 2D que se muestra allí. Para obtener más información sobre la importación del protocolo de ensayo y purificación en el AltoStar® Connect software, consulte las instrucciones de uso pertinentes.

PRECAUCIÓN



No use una versión del protocolo de ensayo distinta de la indicada en el código de barras 2D de estas instrucciones de uso. El uso de una versión incorrecta del protocolo de ensayo podría afectar al rendimiento del producto.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6.3 Inicio de una serie de configuración de PCR

1. Seleccione **PCR Setup** → **Start PCR Setup** (configuración de PCR → iniciar configuración de PCR) en la barra de menú. De forma alternativa, vuelva a la pantalla de inicio del AltoStar® Connect software y seleccione el botón **Start PCR Setup** (iniciar configuración de PCR). Se muestra la pantalla Start PCR Setup (iniciar configuración de PCR).

Las series de configuración de PCR pendientes se muestran en la tabla Programmed PCR Setup Runs (series de configuración de PCR programadas) en la parte izquierda de la pantalla.

2. Seleccione la serie de configuración de PCR que desea iniciar en la tabla Programmed PCR Setup Runs (series de configuración de PCR programadas).

   - Las muestras incluidas en la serie de configuración de PCR seleccionada se muestran en la tabla de la parte superior derecha de la pantalla [Samples in selected PCR Setup Run (muestras en la serie de configuración de PCR seleccionada)].
   - Los QS y controles necesarios para la serie de configuración de PCR seleccionada se muestran en la tabla de la parte central derecha de la pantalla [Controls in selected PCR Setup Run (controles en la serie de configuración de PCR seleccionada)].
   - El número de tubos maestros necesarios para la serie de configuración de PCR seleccionada se muestra en la tabla de la parte inferior derecha de la pantalla [Required master tubes for the selected PCR Setup Run (tubos maestros necesarios para la serie de configuración de PCR seleccionada)].

NOTA

El n.º de muestras priorizadas en una serie de configuración de PCR se muestra en la columna **No. of prioritized Samples** (n.º de muestras priorizadas). Realice series de configuración de PCR con muestras priorizadas primero para facilitar un procesamiento más rápido de las muestras priorizadas.

Antes de hacer clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) de la barra de herramientas, prepare los reactivos necesarios como se describe en el capítulo 7.6.3.1 Preparación de reactivos para una serie de configuración de PCR. Si la eluate plate (placa de eluidos) necesaria para la serie de configuración de PCR seleccionada se ha sellado para su almacenamiento, prepárela como se describe en las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

IF-2026-10034223G-APN-INDM#ANMAT

7.6.3.1 Preparación de reactivos para una serie de configuración de PCR

1. Descongele los QS, los controles y el número necesario de tubos maestros completamente a temperatura ambiente (máx. +30 °C).
2. Mezcle los reactivos aplicando un vortex suave.
3. Centrifugue los tubos brevemente para quitar las gotas de la tapa.

PRECAUCIÓN



La ausencia de centrifugación de los componentes del producto tras la descongelación podría provocar la contaminación con restos de reactivos en las tapas y podría afectar al rendimiento del producto.

7.6.3.2 Carga del AltoStar® AM16 para una serie de configuración de PCR

Para obtener información más detallada sobre el proceso de carga, consulte las instrucciones de uso del AltoStar® AM16 y del AltoStar® Connect software.

1. Haga clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en la barra de herramientas de la pantalla Start PCR Setup Run (iniciar serie de configuración de PCR) para mostrar el cuadro de diálogo Loading (carga).

El cuadro de diálogo Loading (carga) se compone de una representación visual de la plataforma del AltoStar® AM16 sobre una tabla que especifica los portadores, los raíles respectivos en la plataforma del AltoStar® AM16 para cada portador, el material que debe cargarse en cada portador y comentarios sobre la carga de los portadores.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

NOTA

Para visualizar la posición de un elemento en un portador y la posición del portador en la plataforma del AltoStar® AM16, seleccione la fila respectiva en la tabla del cuadro diálogo Loading (carga).

Se visualiza la posición del elemento y de su portador:

- Resaltada en rojo en la representación visual de la plataforma del instrumento.
- En el AltoStar® AM16, haciendo que parpadeen las luces de carga sobre los raíles en los que debe colocarse el portador seleccionado.

2. Cargue el material necesario, la eluate plate (placa de eluidos) preparada y los reactivos preparados en los portadores adecuados.

- Únicamente cambie bastidores de puntas de 1 000 µl **completamente vacíos** por bastidores de puntas de 1 000 µl **completamente llenos** en el portador de puntas.
- Únicamente cambie bastidores de puntas de 300 µl **completamente vacíos** por bastidores de puntas de 300 µl **completamente llenos** en el portador de puntas y placas.

NOTA

El intercambio de bastidores de puntas que no están completamente vacíos y la manipulación de puntas individuales puede interferir con la gestión automática de las puntas y provocar cancelaciones de las series.

- Coloque la eluate plate (placa de eluidos) necesaria con el pocillo A1 a la izquierda de la posición de la placa negra.
- Coloque una PCR plate (placa PCR) con el pocillo A1 a la izquierda de la posición de la placa frontal plateada.
- Cargue un portador de 24 tubos con un tubo de agrupación sin utilizar para cada ensayo en la serie de configuración de PCR.
- Empuje suavemente los tubos hasta la parte inferior del portador y gire los tubos hasta que los códigos de barras de los tubos se vean a través de la ventana del portador.
- Cargue el portador de 32 tubos de reactivo con los componentes del ensayo necesarios para la serie de configuración de PCR.

IF-2026-100342220-APN-INPM#ANMAT

- Empuje suavemente los tubos hasta la parte inferior del portador y gire los tubos hasta que los códigos de barras de los tubos se vean a través de la ventana del portador.

NOTA

La posición de los tubos individuales en los portadores es arbitraria.

NOTA

El sistema no comprueba el volumen de los componentes cargados antes del procesamiento. Un volumen de componentes insuficiente impedirá la correcta configuración de PCR para el ensayo en cuestión.

NOTA

Iniciar una serie de configuración de PCR con las tapas aún puestas en los tubos podría provocar que la serie se cancelase durante el procesamiento.

3. Cargue los portadores con el código de barras del portador hacia la parte posterior mirando a la derecha.
4. Inserte los portadores rellenados en los raíles respectivos entre los bloques deslizantes delanteros y traseros de la bandeja de carga hasta que toquen los ganchos de parada en la parte alejada de la bandeja.

NOTA

Empujar los portadores más allá de los ganchos de parada puede dañar el instrumento e interferir con el proceso de carga.

5. Compruebe que la hoja de eyección de puntas y el contenedor de puntas desechadas estén en la posición correcta y que se haya colocado una nueva bolsa de desechos en el contenedor.
6. Haga clic en **OK** (aceptar) en el cuadro de diálogo Loading (carga) para continuar con el proceso de carga.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

NOTA

Al hacer clic en **Cancel** (cancelar), se cancelará la serie de configuración de PCR, pero puede volver a iniciarse (consulte el capítulo 7.6.3 Inicio de una serie de configuración de PCR).

El AltoStar® AM16 introduce los portadores en el instrumento y realiza la verificación del código de barras.

NOTA

El AltoStar® AM16 verifica automáticamente:

- Tipo y localización correctos de los portadores cargados
- Identidad y posición correctas de los elementos cargados en los portadores
- Congruencia de lote de los componentes de los kits de ensayos AltoStar® individuales
- No caducidad de todos los componentes de ensayos AltoStar® cargados
- Posición correcta de la hoja de eyección de puntas

Si no se supera alguna de estas comprobaciones, se presenta al usuario un cuadro de diálogo de mensaje que especifica el problema en cuestión, con instrucciones para corregirlo adecuadamente. Para obtener más información sobre la gestión de errores, consulte las instrucciones de uso del AltoStar® Connect software.

NOTA

Alterar la posición de algún elemento cargado cuando el portador ya se ha introducido en el instrumento puede provocar la cancelación de la serie de configuración de PCR y/o daños en el instrumento.

Cuando se hayan superado todas las comprobaciones, se muestra el cuadro de diálogo Loading complete (carga completa).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7. Confirme el cuadro de diálogo Loading complete (carga completa) haciendo clic en **OK** (aceptar) o espere 10 segundos a que se produzca el inicio automático del proceso.

NOTA

Al hacer clic en **Cancel** (cancelar), se cancelará la serie de configuración de PCR, pero puede volver a iniciarse (consulte el capítulo 7.6.3 Inicio de una serie de configuración de PCR).

Se inicia la serie de configuración de PCR, que se realizará sin interacción del usuario.

7.6.3.3 Durante la serie de configuración de PCR

No se requiere más interacción del usuario hasta que finaliza la serie de configuración de PCR. Se abre la pantalla Processing Status (estado del procesamiento), que muestra el estado de la serie de configuración de PCR y una estimación del tiempo restante.

NOTA

Empujar los portadores o tirar de ellos o de la puerta del AltoStar® AM16 durante una serie de configuración de PCR podría anular la serie.

7.6.4 Fin de la serie de configuración de PCR

Al final de la serie de configuración de PCR, se muestra el cuadro de diálogo Run finished (serie finalizada).

1. Asegúrese de que la bandeja de carga está vacía.
2. Confirme el cuadro de diálogo Run finished (serie finalizada) haciendo clic en **OK** (aceptar).

El AltoStar® AM16 descargará los portadores. Asegúrese de no interponerse en el recorrido de los portadores que están descargándose.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Tras la descarga, se muestra el cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento).

3. Siga las instrucciones del cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento).

La tabla del cuadro de diálogo muestra el número de reacciones en los tubos maestros que no se han utilizado en la serie de configuración de PCR.

4. Si se va a iniciar inmediatamente otra serie de configuración de PCR que utiliza la eluate plate (placa de eluidos) cargada actualmente, la eluate plate (placa de eluidos) puede permanecer sin sellar en la posición del portador. Si **no** es el caso, selle y almacene la eluate plate (placa de eluidos). Para obtener más información, consulte las instrucciones de uso del kit AltoStar® Purification Kit 1.5.

NOTA

Los eluidos de la eluate plate (placa de eluidos) son estables a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante un total de 4 horas tras completarse la serie de purificación.

5. Cierre los tubos de reactivo con los tapones de tubos adecuados sin usar.

PRECAUCIÓN

No reutilice los tapones de tubos para evitar la contaminación de los reactivos, ya que podría afectar al rendimiento del producto.

6. Almacene los reactivos para su reutilización como se describe en el capítulo 4.2 Manipulación.
7. Deseche los materiales utilizados (consulte el capítulo 9. Eliminación).
8. Confirme el cuadro de diálogo Maintenance (mantenimiento) haciendo clic en **OK** (aceptar).

7.6.4.1 Resultados de serie de configuración de PCR

Los resultados de serie de configuración de PCR se guardan en el AltoStar® Connect software.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

1. Haga clic en **PCR Setup** → **PCR Setup Results** (configuración de PCR → resultados de configuración de PCR) en la barra de menú para acceder a la pantalla de resultados.

La pantalla Results (resultados) muestra una tabla con todas las muestras utilizadas en la última serie de configuración de PCR y una columna de **Status** (estado) a la derecha que indica si se ha realizado completamente el proceso de configuración de PCR para una muestra concreta (consulte la tabla 6).

Tabla 6: Resultados de serie de configuración de PCR

Status (estado)	Resultado de serie de configuración de PCR
Processed (procesado)	• El eluido se ha procesado correctamente en la serie de configuración de PCR. • La mezcla de RT-PCR resultante está lista para su uso en una serie PCR.
Error (error)	• El eluido no se ha procesado correctamente. • La mezcla de RT-PCR respectiva se omitirá automáticamente en el siguiente análisis de PCR.

2. Para ver los resultados de series de configuración de PCR anteriores, haga clic en el botón **Load** (cargar) de la barra de menú, seleccione la serie de configuración de PCR deseada en la lista del cuadro de diálogo Load Results (cargar resultados) que se abre y haga clic en **OK** (aceptar).

El AltoStar® Connect software genera automáticamente 3 archivos de resultado de serie de configuración de PCR:

- Un archivo LIMS (.xml) para transferir información detallada sobre la serie de configuración de PCR, incluidos los resultados de nuevo al LIMS
- Un informe (.pdf) que contiene información detallada sobre la serie de configuración de PCR, incluidos los resultados para fines de documentación
- Un archivo de ciclador (.plrn) para la programación automática del CFX96™ DW Dx

Estos archivos se guardan en la ubicación especificada en los System Settings (ajustes del sistema) del AltoStar® Connect software.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

NOTA

Los archivos de resultado de serie de configuración de PCR pueden volver a generarse cargando la serie de configuración de PCR respectiva y haciendo clic en el botón **Create LIMS File** (crear archivo LIMS) para generar el archivo LIMS, en el botón **Create Report** (crear informe) para generar el informe o en el botón **Create Bio-Rad Cycler File** (crear archivo de ciclador Bio-Rad) para generar el archivo de ciclador.

7.6.5 Sellado de la PCR plate (placa PCR)

Tras completar la serie de configuración de PCR, la PCR plate (placa PCR) debe sellarse con una PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR). Se recomienda usar el AltoStar® Plate Sealer (sellador de placas) [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)] o el PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad). La idoneidad de los selladores de placas distintos a los recomendados debe evaluarla el usuario.

Si va a utilizar los selladores de placas recomendados, proceda de este modo:

1. Encienda el sellador de placas y asegúrese de que el adaptador de placas no está en el cajón.
2. Asegúrese de que los ajustes del sellador de placas son los siguientes:

Tabla 7: Ajustes del sellador de placas

Sellador de placas	Configuración	
	Temperatura [°C]	Tiempo [s]
AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]	170	2
PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	175	3

3. Espere a que se alcance la temperatura configurada. Esto puede tardar unos minutos.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

4. Coloque la PCR plate (placa PCR) sobre el adaptador de placas del sellador de placas.
5. Coloque una PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR) en la PCR plate (placa PCR) de modo que se pueda leer la impresión «THIS SIDE UP» (este lado hacia arriba). Asegúrese de que todos los pocillos de la PCR plate (placa PCR) están cubiertos por la lámina y de que la escritura no oculte ninguno de ellos.

NOTA

Si se usa el sellador de placas sin el adaptador de placas colocado en el cajón, el sellador puede averiarse. En este caso, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics para conseguir asistencia (consulte el capítulo 11. Soporte técnico).

NOTA

Si la PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR) o el bastidor están mal colocados, la lámina podría quedarse pegada a la placa calentadora del interior del sellador de placas durante el sellado. Esto inutilizará el sellador. En este caso, o si se ha iniciado el paso de sellado sin la PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR), deje que el sellador de placas se enfríe hasta alcanzar la temperatura ambiente y póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics para que le ayuden (consulte el capítulo 11. Soporte técnico).

6. Ensamble el bastidor de sellado en la parte superior para sujetar la lámina sellante.
7. Abra el cajón pulsando el botón **Operate** (operar)*/ ⏏**.
8. Coloque el ensamblaje que se compone del adaptador de placas, la PCR plate (placa PCR), la PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR) y el bastidor de sellado en el sellador de placas y pulse el botón **Operate** (operar)*/ ⏏**.
9. El cajón se cierra automáticamente, sella durante el tiempo configurado y se vuelve a abrir automáticamente.
10. Saque la PCR plate (placa PCR) sellada y el adaptador de placas del sellador de placas y cierre el sellador de placas pulsando el botón **Close** (cerrar)*/ ⏏**.

* AltoStar® Plate Sealer (sellador de placas) [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

**PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)

7.6.5.1 Estabilidad de la mezcla de PCR

Tras completarse la serie de configuración de PCR, la mezcla de RT-PCR de la PCR plate (placa PCR) sellada es estable a temperatura ambiente (máx. +30 °C) durante 30 minutos.

PRECAUCIÓN

No supere el tiempo de almacenamiento de la mezcla de PCR, ya que esto podría afectar al rendimiento del producto.

7.6.6 Inicio de una serie PCR

La serie PCR se realiza en un CFX96™ DW Dx bajo el control del CFX Manager™ Dx software.

1. Encienda el CFX96™ DW Dx, el ordenador conectado y el monitor.
2. Inicie el CFX Manager™ Dx software.
3. En la barra de menú del CFX Manager™ Dx software, seleccione **File** → **Open** → **LIMS File…** (archivo → abrir → archivo LIMS…) para abrir el cuadro de diálogo Open LIMS File (abrir archivo LIMS).
4. En el cuadro de diálogo Open LIMS File (abrir archivo LIMS) que se abre, asegúrese de que el cursor está parpadeando en el campo **File name** (nombre de archivo) en la parte inferior. Si no es así, haga clic en el campo **File name** (nombre de archivo).
5. Escanee el código de barras de la PCR plate (placa PCR) con el escáner de código de barras de mano para seleccionar y abrir automáticamente el archivo LIMS correcto. Se muestra el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie).

NOTA

Todos los parámetros necesarios para el inicio de la serie PCR se transfieren automáticamente desde el AltoStar® Connect software al CFX96™ DW Dx mediante el archivo de ciclador.

6. Haga clic en el botón **Open Lid** (abrir tapa) en el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie) para abrir la tapa del CFX96™ DW Dx.

If-2020-100342226-APN-INPM#ANMAT

7. Centrifugue brevemente la PCR plate (placa PCR) sellada para asegurarse de que todo el líquido se quede en el fondo de los pocillos.
8. Inserte la PCR plate (placa PCR) sellada en el bloque calentador del CFX96™ DW Dx con el pocillo A1 a la izquierda.
9. Cierre el CFX96™ DW Dx haciendo clic en el botón **Close Lid** (cerrar tapa) en el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie).
10. Inicie la serie PCR haciendo clic en el botón **Start Run** (iniciar serie) en el cuadro de diálogo Run Setup (configuración de la serie).

7.6.6.1 Durante la serie PCR

No se requiere interacción del usuario hasta que finaliza la serie PCR. Se abre el cuadro de diálogo Run Details (detalles de la serie) que muestra el estado de la serie PCR y una estimación del tiempo restante.

NOTA

Abrir la tapa del CFX96™ DW Dx durante una serie PCR operando el botón de la parte frontal de la tapa o haciendo clic en **Open Lid** (abrir tapa) en el cuadro de diálogo Run Details (detalles de la serie) cancelará la serie y se invalidarán todos los resultados.

Al final de una serie PCR, se muestra la ventana Data Analysis (análisis de datos), la cual muestra las curvas de amplificación, la disposición de la placa y los resultados.

7.6.6.2 Asignación de ensayos a grupos de pocillos

El AltoStar® Workflow (flujo de trabajo) procesa uno o varios ensayos PCR simultáneamente en una PCR plate (placa PCR). Sin embargo, el usuario debe analizar cada ensayo por separado conforme a las instrucciones de uso del ensayo respectivo.

Con este fin, el usuario debe asignar todos los ensayos de una PCR plate (placa PCR) a grupos de pocillos individuales en el CFX Manager™ Dx software.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en el botón **Plate Setup** (configuración de la placa) en la barra de herramientas y seleccione **View/Edit Plate** (ver/editar placa). Se muestra el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa) (consulte la figura 1).

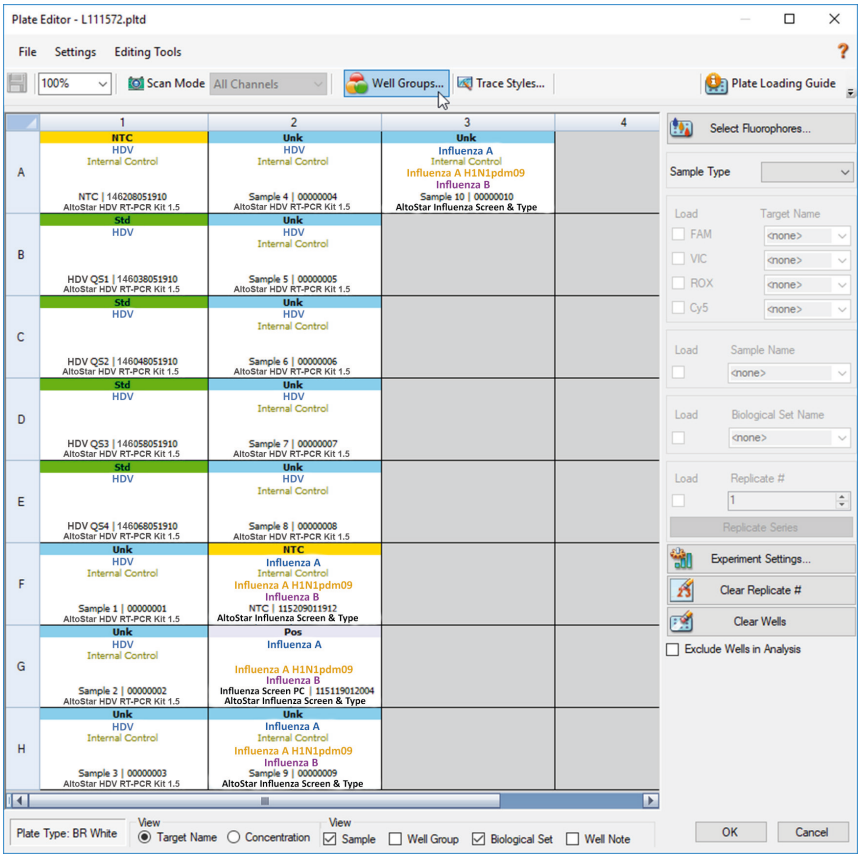


Figura 1: Cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa)

2. En el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa), haga clic en **Well Groups**… (grupos de pocillos...) en la barra de herramientas. Se muestra el cuadro de diálogo Well Groups Manager (gestor de grupos de pocillos) (consulte la figura 2).
3. Haga clic en el botón **Add** (añadir).
4. Escriba el nombre del primer ensayo en el cuadro de texto.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

5. Seleccione todos los pocillos en el área de la PCR plate (placa PCR) que pertenezcan al primer ensayo (consulte la figura 2). Los pocillos que pertenecen a un ensayo individual pueden identificarse en el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa) mediante la entrada del campo **Biological Set** (conjunto biológico).

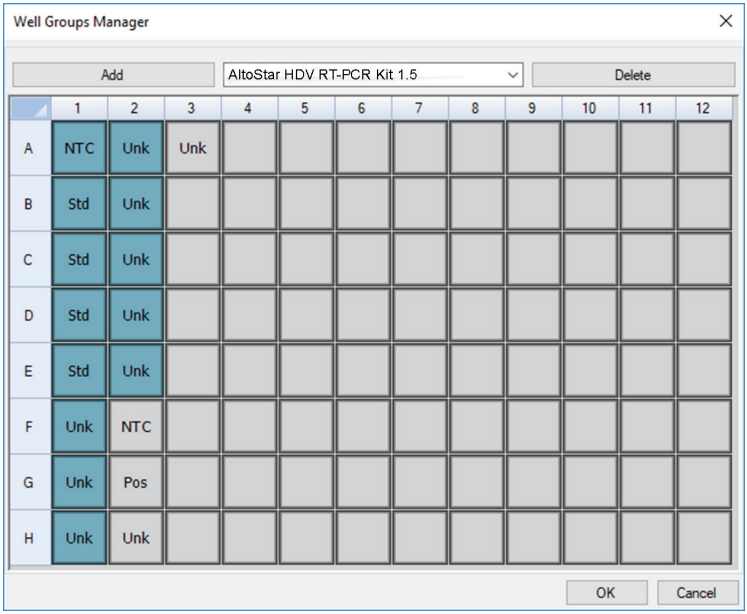


Figura 2: Cuadro de diálogo Well Groups Manager (gestor de grupos de pocillos)

6. Repita los pasos del 3 al 5 para todos los ensayos en la PCR plate (placa PCR).
7. Confirme la asignación de grupos de pocillos haciendo clic en **OK** (aceptar). Se cierra el cuadro de diálogo Well Groups Manager (gestor de grupos de pocillos).
8. Cierre el cuadro de diálogo Plate Editor (editor de placa) haciendo clic en **OK** (aceptar).
9. Confirme para aplicar los cambios haciendo clic en **Yes** (sí).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6.7 Análisis de datos PCR

Los resultados de todos los ensayos (grupos de pocillos) en la PCR plate (placa PCR) deben analizarse en la secuencia que se indica en la figura 3.



Figura 3: Proceso de análisis de datos de PCR

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar el **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas. No utilice el **Well Group** (grupo de pocillos) «*All Wells*» (todos los pocillos). La selección de la figura 4 se usa como vista de ejemplo general.

Antes de analizar los resultados, asegúrese de que el grupo de pocillo del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 contiene todos los pocillos del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 y ningún pocillo de otros análisis.

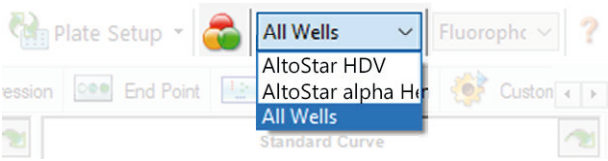


Figura 4: Botón Well Group (grupo de pocillos) y menú desplegable Well Group (grupo de pocillos)

NOTA

Los análisis combinados de más de un ensayo pueden arrojar resultados incorrectos.

PRECAUCIÓN

Como con cualquier test diagnóstico, los resultados se interpretarán teniendo en cuenta todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

7.6.7.1 Corrección de la línea de base

Es posible que sea necesario corregir los ajustes de línea de base utilizados por el CFX Manager™ Dx software para pocillos individuales del ensayo [**Well Group** (grupo de pocillos)] que se están analizando.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar el **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos) marque únicamente la casilla de verificación **FAM** para el canal de detección del HDV objetivo.
3. En la barra de menú de la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en **Settings** → **Baseline Threshold…** (ajustes → umbral de línea de base...) para abrir el cuadro de diálogo Baseline Threshold (umbral de línea de base) (consulte la figura 5).
4. Haga clic una vez en el símbolo ◊ en el encabezado de columna **Baseline End** (final de línea de base) para ordenar la tabla por valores ascendentes de **Baseline End** (final de línea de base).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

5. Seleccione todas las líneas que muestren un valor de **Baseline End** (final de línea de base) de 1 a 9 (consulte la figura 5).

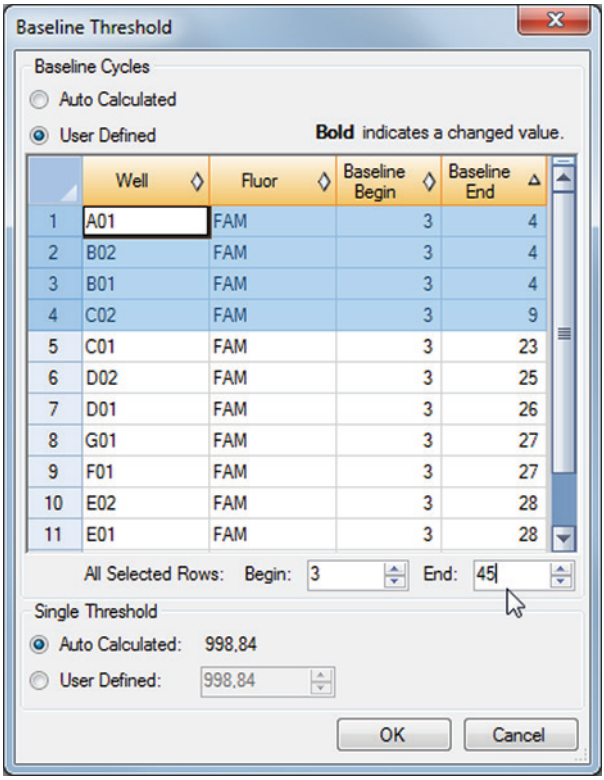


Figura 5: Cuadro de diálogo Baseline Threshold (umbral de línea de base)

6. Establezca el valor en el campo **End:** (final:) en 45 para las líneas seleccionadas (consulte la figura 5).
7. Confirme los ajustes haciendo clic en **OK** (aceptar).
8. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos) quite la marca de la casilla de verificación **FAM** y marque únicamente la casilla **VIC** para el canal de detección de IC objetivo.
9. Repita los pasos del 3 al 7 para el canal de detección VIC™ (IC).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6.7.2 Exclusión de señales de PCR irregulares

Los resultados válidos solo pueden derivarse de señales de PCR que estén libres de artefactos de señales, que pueden ser provocados, por ejemplo, por impurezas o burbujas en la mezcla de RT-PCR. El usuario debe excluir las señales de PCR que contengan artefactos de señales.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar el **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

2. Identifique pocillos con señales de PCR irregulares (aumento de señal lineal, picos de señal, etc.) en cualquiera de los canales de detección FAM™ (HDV objetivo) y VIC™ (IC) (consulte la figura 6).

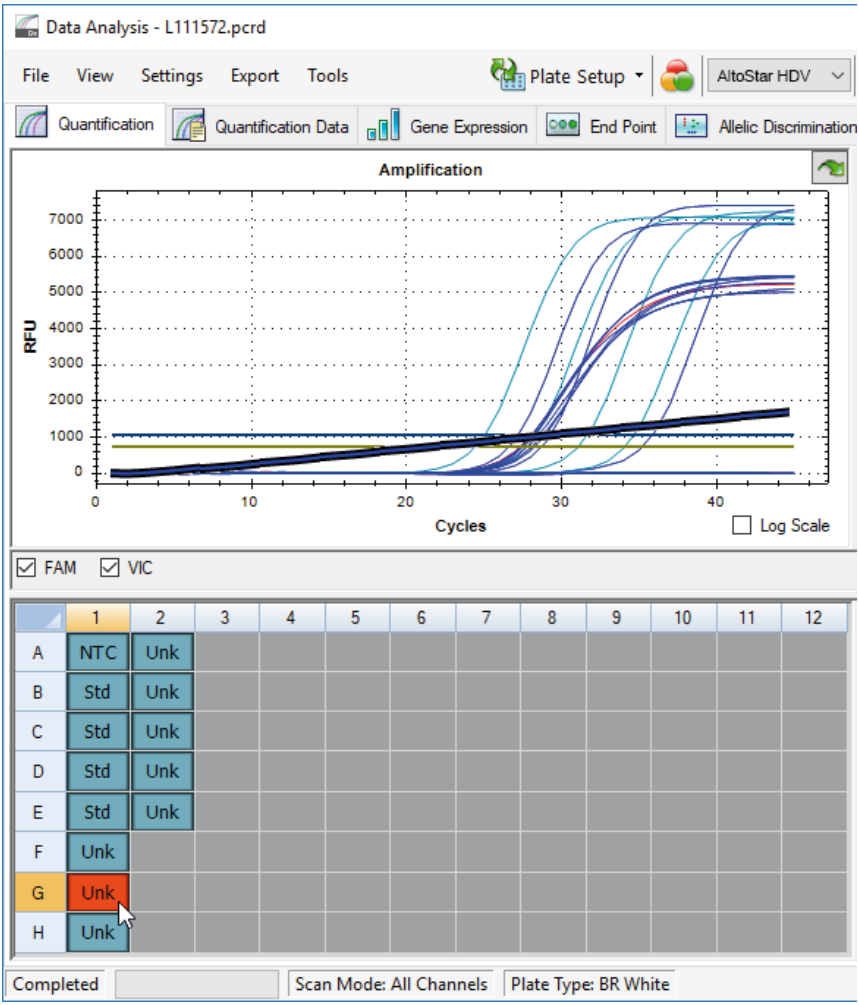


Figura 6: Ventana Data Analysis (análisis de datos): señal de PCR irregular

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

3. Haga clic en cada pocillo afectado con el botón derecho del ratón y seleccione **Well**... → **Exclude from Analysis** (pocillo... → excluir del análisis) (consulte la figura 7).

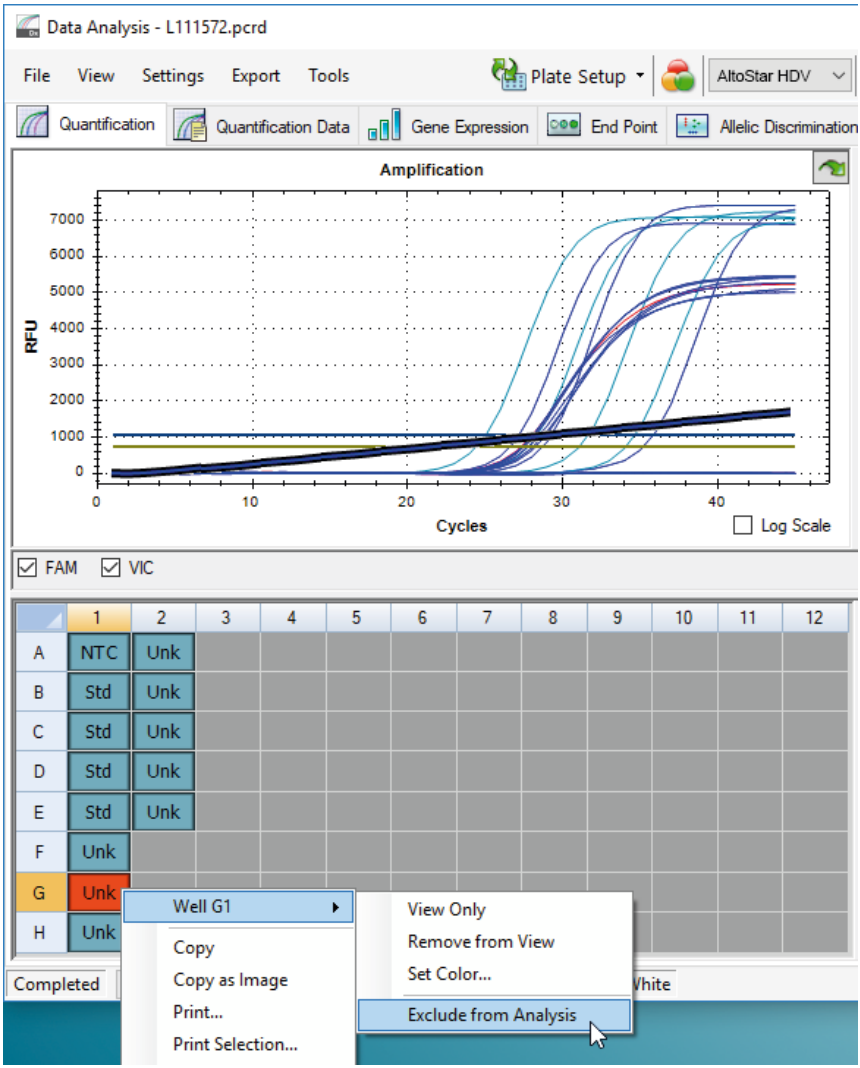


Figura 7: Ventana Data Analysis (análisis de datos): exclusión de un pocillo del análisis

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

4. El pocillo seleccionado se excluye del análisis. No se generarán resultados para este pocillo (consulte la figura 8).

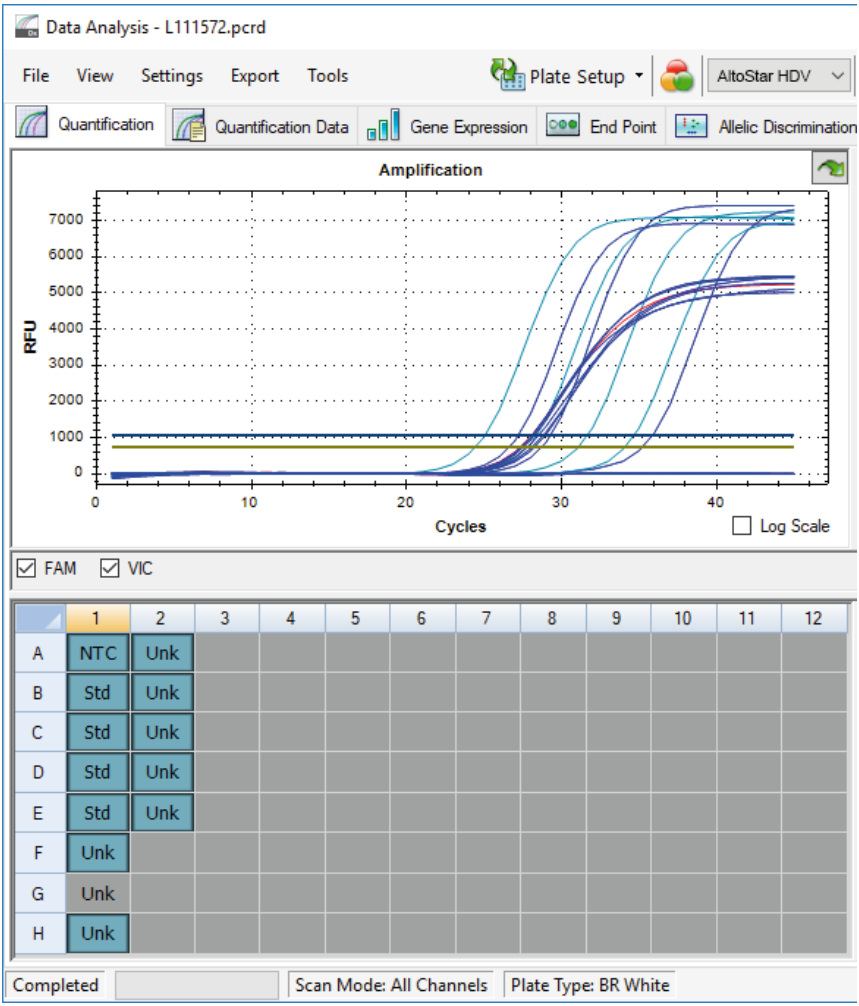


Figura 8: Ventana Data Analysis (análisis de datos): pocillo excluido

7.6.7.3 Ajuste de umbrales

Los umbrales para los canales de detección FAM™ (HDV objetivo) y VIC™ (IC) debe ajustarlos manualmente el usuario conforme a las señales de los controles.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar el **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

2. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos) marque únicamente la casilla de verificación **VIC** para el canal de detección del IC (consulte la figura 9).

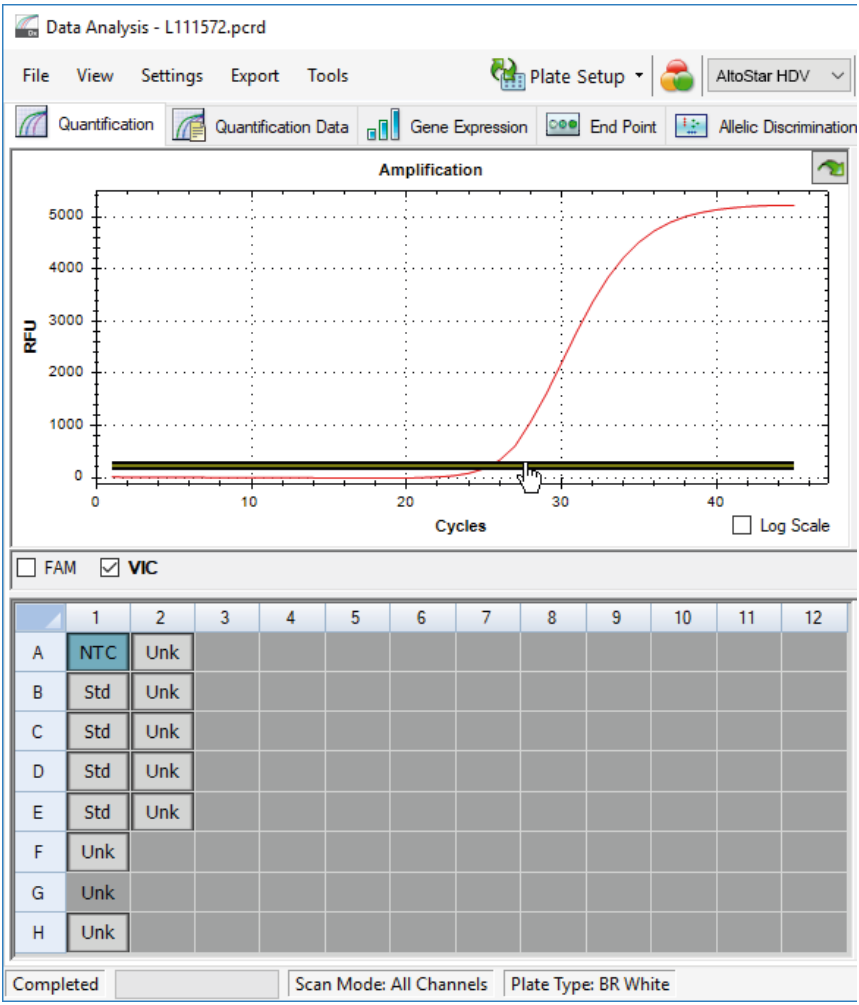


Figura 9: Ventana Data Analysis (análisis de datos): configuración del umbral VIC™

3. Seleccione únicamente el pocillo de NTC en la vista de placa de la ventana Data Analysis (análisis de datos) (consulte la figura 9).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

4. Arrastre el umbral hasta el área exponencial de la señal de NTC (consulte la figura 9).

NOTA

El NTC contiene la plantilla del IC, que produce una señal de IC en un pocillo de NTC válido.

5. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos) quite la marca de la casilla de verificación **VIC** y marque la casilla **FAM** para el canal de detección del HDV objetivo (consulte la figura 10).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

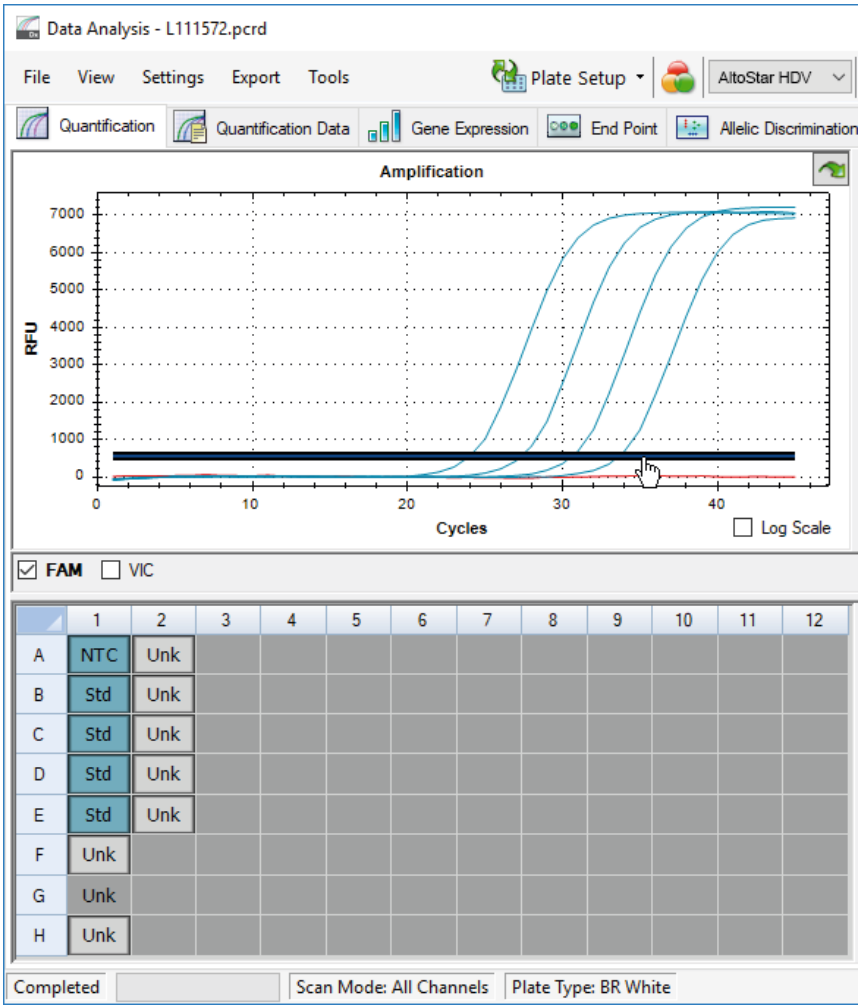


Figura 10: Ventana Data Analysis (análisis de datos): configuración del umbral FAM™

6. Seleccione únicamente los pocillos que contienen el NTC y los QS en la vista de placa de la ventana Data Analysis (análisis de datos) (consulte la figura 10).
7. Arrastre el pocillo de umbral por encima de la señal del NTC hacia el área exponencial de las señales de QS (consulte la figura 10).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6.8 Validez de los resultados de PCR

7.6.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos

El usuario debe excluir los pocillos que no contienen datos válidos de la generación de resultados.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar el **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. Identifique todos los pocillos que contengan datos no válidos. Un pocillo no es válido si existe cualquiera de las condiciones siguientes:

    a) La serie completa no es válida (consulte el capítulo 7.6.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico).

    b) Los datos de pocillos no cumplen las condiciones de control para un resultado válido (consulte el capítulo 7.6.8.3 Validez de los resultados para una muestra).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

3. Haga clic en cada pocillo que contenga datos no válidos conforme a los capítulos que van desde el 7.6.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico hasta el 7.6.8.3 Validez de los resultados para una muestra con el botón derecho del ratón y seleccione **Well**... → **Exclude from Analysis** (pocillo... → excluir del análisis) (consulte las figuras 11 y 12).

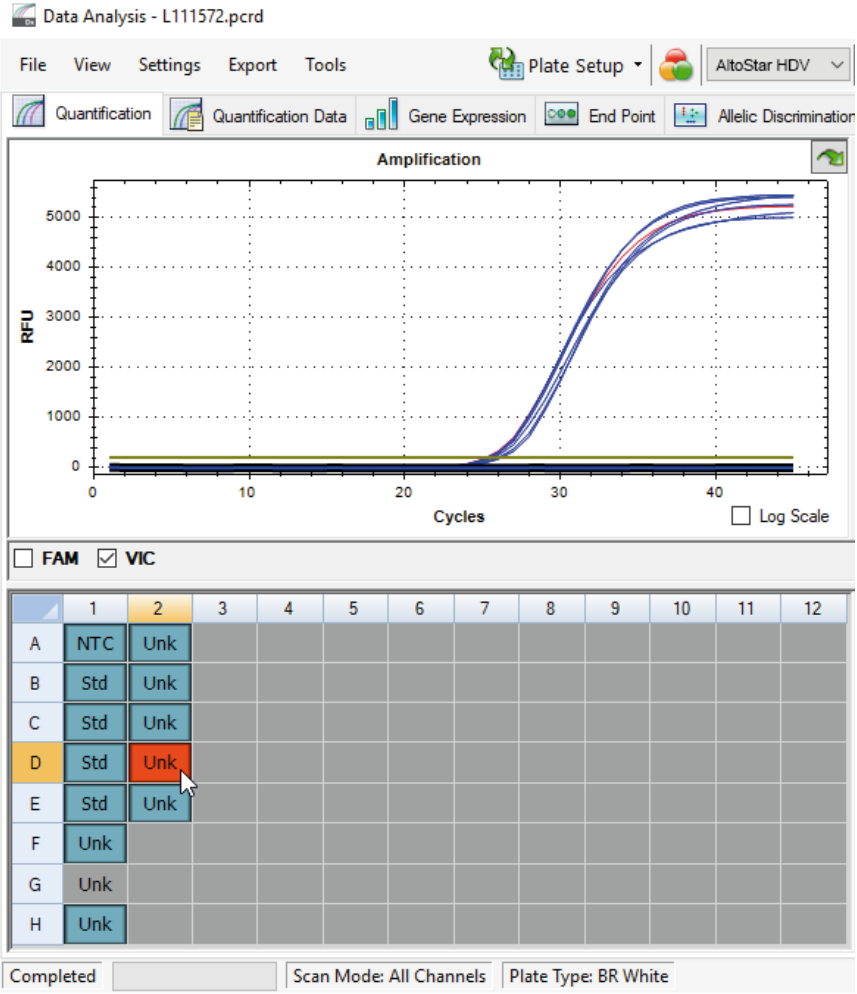


Figura 11: Ventana Data Analysis (análisis de datos): pocillo no válido

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

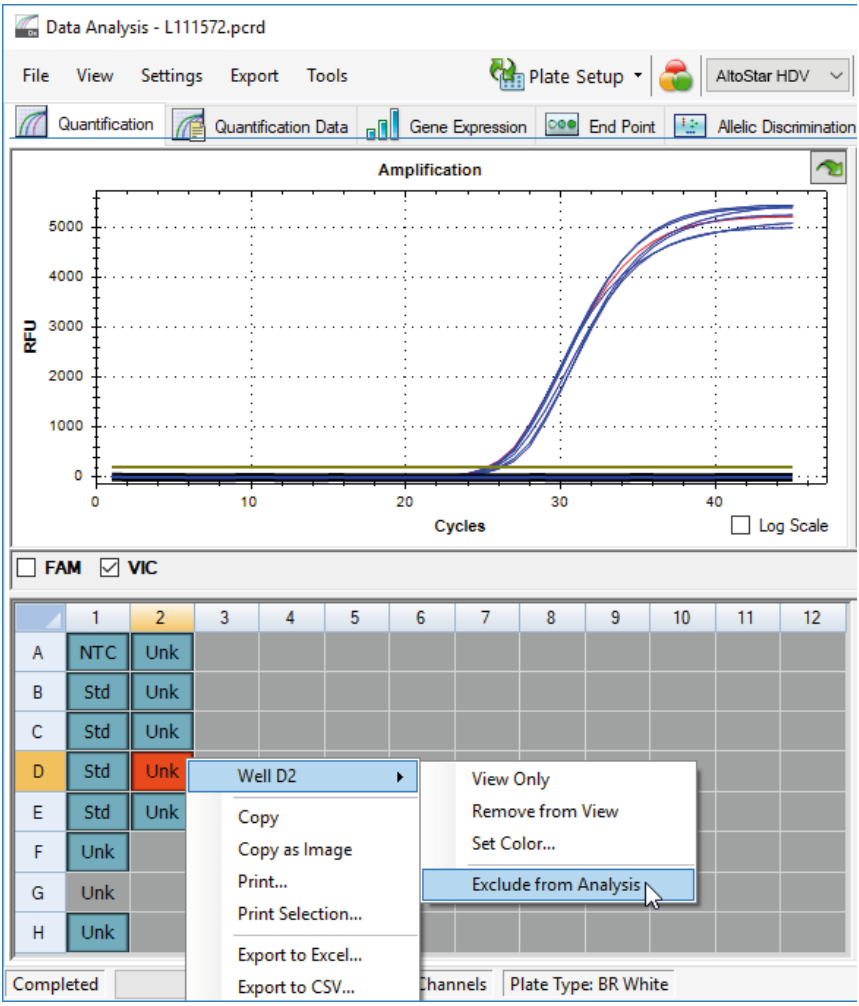


Figura 12: Ventana Data Analysis (análisis de datos): exclusión de un pocillo no válido del análisis

El pocillo seleccionado se excluye del análisis. No se generarán resultados para este pocillo.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6.8.2 Validez de una serie PCR de diagnóstico

Una serie PCR de diagnóstico es **válida** si:

a) se cumplen las siguientes condiciones de control:

Tabla 8: Condiciones de control para una serie PCR válida

Control	Canal de detección	
	FAM™ (HDV objetivo)	VIC™ (IC)
QS	+	No aplicable
NTC	-	+

y b) la curva estándar generada alcanza el siguiente valor de parámetro de control:

Tabla 9: Parámetro de control de curva estándar

Parámetro de control	Valor válido
R al cuadrado (R^2)	≥0,98

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

El parámetro de control de curva estándar se muestra bajo el gráfico curva estándar en la ventana Data Analysis (análisis de datos) (consulte la figura 13).

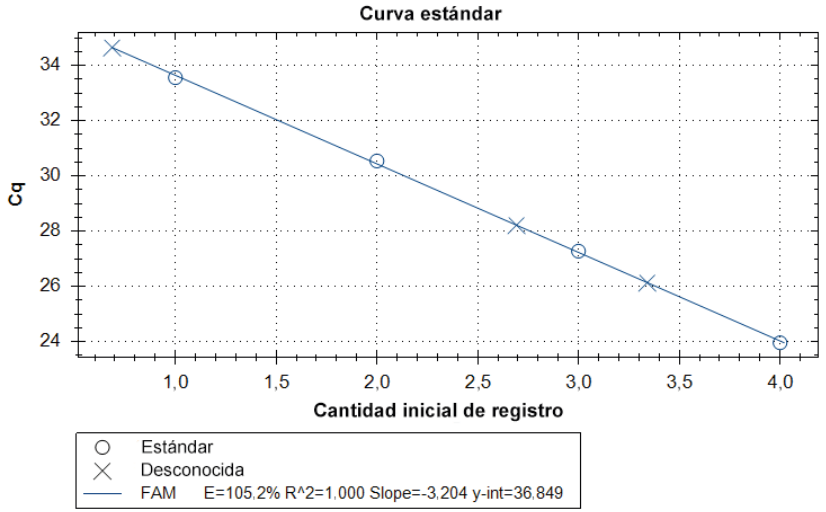


Figura 13: Datos de curva estándar

Una serie PCR de diagnóstico **no es válida** si:

- No se ha completado la serie.
- No se cumple alguna de las condiciones de control para una serie PCR de diagnóstico válida.

En caso de serie PCR de diagnóstico no válida, excluya todos los pocillos del análisis y repita la AltoStar® run (serie) empezando por las muestras originales.

7.6.8.3 Validez de los resultados para una muestra

El resultado de una muestra individual **no es válido** si las señales tanto del canal de detección VIC™ (IC) como del FAM™ (HDV objetivo) son negativas (consulte la tabla 10). En caso de resultado no válido para una muestra, excluya el pocillo del análisis y repita los tests desde la muestra original o recoja y pruebe una nueva muestra.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Tabla 10: Validez del resultado

Canal de detección		Validez del resultado
FAM™ (HDV objetivo)	VIC™ (IC)	
+	+	Resultado válido
+	-	Resultado válido*
-	+	Resultado válido
-	-	**Resultado no válido**

* La detección del IC no es necesaria cuando se detecta el HDV objetivo. Una elevada carga de ARN de HDV en la muestra puede generar una señal reducida o ausente del IC.

7.6.9 Exportación de resultados de PCR sin transferencia a un LIMS

El usuario debe realizar la interpretación de resultados manualmente. Con ese fin, los resultados de análisis de cada ensayo (grupo de pocillos) deben exportarse en forma de informe.

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. En la parte izquierda de la ventana Data Analysis (análisis de datos), marque la casilla de verificación **VIC** y la casilla **FAM**.
3. Asegúrese de que se hayan completado todos los pasos del proceso de análisis (consulte los capítulos que van del 7.6.7.1 Corrección de la línea de base hasta el 7.6.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos) para el grupo de pocillos del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5.
4. En la barra de menú de la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en **Tools** → **Reports**… (herramientas → informes...) para abrir el cuadro de diálogo Report (informe).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

5. Asegúrese de que se seleccione al menos el siguiente contenido para la generación de informes en la parte superior izquierda del cuadro de diálogo Report (informe) (consulte la figura 14):

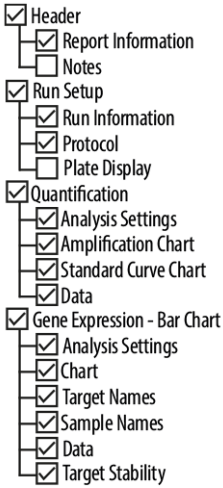


Figura 14: Cuadro de diálogo Report (informe)

6. Seleccione o anule la selección del contenido adicional del informe marcando las casillas de verificación respectivas como proceda.
7. En la barra de menú del cuadro de diálogo Report (informe), haga clic en **File** → **Save As**... (archivo → guardar como...) para abrir el cuadro de diálogo Save Report (guardar informe).
8. En el cuadro de diálogo Save Report (guardar informe), especifique el nombre y la ubicación para el archivo de informe que se va a generar y haga clic en **Save** (guardar).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

7.6.9.1 Interpretación manual de los resultados

1. Abra el archivo del informe generado para el grupo de pocillos del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 (consulte el capítulo 7.6.9 Exportación de resultados de PCR sin transferencia a un LIMS).
2. Consulte la tabla Quantification Data (datos de cuantificación) en el informe (consulte la figura 15). La tabla se compone de 2 filas para cada **Sample** (muestra): una para el *HDV* **Target** (objetivo) y otra para el *Internal Control* (control interno) **Target** (objetivo).

Quantification Data

Well	Fluor	Target	Content	Sample	Biological Set Name	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity	SQ Mean	SQ Std. Dev	Well Note
A01	FAM	HDV	NTC	NTC | 146208051910	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	
A02	FAM	HDV	Unkn	Sample 4 | 00000004	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
B01	FAM	HDV	Std	HDV QS1 | 146038051910	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	23.97	23.97	0.000	1.000E+04	4.000	1.00E+04	0.00E+00	
B02	FAM	HDV	Unkn	Sample 5 | 00000005	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	34.65	34.65	0.000	4.855E+00	0.686	4.85E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
C01	FAM	HDV	Std	HDV QS2 | 146048051910	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	27.28	27.28	0.000	1.000E+03	3.000	1.00E+03	0.00E+00	
C02	FAM	HDV	Unkn	Sample 6 | 00000006	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
D01	FAM	HDV	Std	HDV QS3 | 146058051910	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	30.54	30.54	0.000	1.000E+02	2.000	1.00E+02	0.00E+00	
E01	FAM	HDV	Std	HDV QS4 | 146068051910	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	33.56	33.56	0.000	1.000E+01	1.000	1.00E+01	0.00E+00	
E02	FAM	HDV	Unkn	Sample 8 | 00000008	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	28.22	28.22	0.000	4.924E+02	2.692	4.92E+02	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
F01	FAM	HDV	Unkn	Sample 1 | 00000001	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	26.14	26.14	0.000	2.195E+03	3.341	2.20E+03	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
H01	FAM	HDV	Unkn	Sample 3 | 00000003	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
A01	VIC	Internal Control	NTC	NTC | 146208051910	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	25.27	25.27	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	
A02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 4 | 00000004	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	26.08	26.08	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
B02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 5 | 00000005	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	25.46	25.46	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
C02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 6 | 00000006	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	25.33	25.33	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
E02	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 8 | 00000008	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	26.25	26.25	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
F01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 1 | 00000001	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	25.45	25.45	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml
H01	VIC	Internal Control	Unkn	Sample 3 | 00000003	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5	25.70	25.70	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 160.00 IU/ml

Figura 15: Informe: Quantification Data (datos de cuantificación)

Los resultados se marcan con un *Concentration factor* (factor de concentración) en la columna **Well Note** (nota de pocillo) de la tabla Quantification Data (datos de cuantificación) (consulte la figura 15).

3. Consulte la columna **Starting Quantity (SQ)** [cantidad inicial (SQ)] para ver la concentración del HDV objemedido en el eluido de la **Sample** (muestra) respectiva. Para calcular el resultado de la muestra del paciente original, el usuario debe multiplicar el valor de **Starting Quantity (SQ)** [cantidad inicial (SQ)] por el *Concentration factor* (factor de concentración) respectivo (incluida la unidad).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

4. Consulte la tabla 11 para ver la interpretación de los resultados.

Tabla 11: Interpretación del resultado

Starting Quantity (SQ) (cantidad inicial) del HDV objetivo	Interpretación del resultado
>0	Se ha detectado ARN específico de HDV. Multiplique el valor de la **Starting Quantity (SQ)** [cantidad inicial (SQ)] por el *Concentration factor* (factor de concentración) en la columna **Well Note** (nota de pocillo) (incluida la unidad) para calcular la concentración de la muestra original del paciente.
N/A	No se ha detectado ARN específico de HDV. La muestra no contiene cantidades detectables del ARN específico de HDV.

7.6.10 Exportación de resultados de PCR a un LIMS

Para que los resultados de la serie PCR estén disponibles para un LIMS, deben exportarse en forma de archivo de resultados de LIMS (.csv).

1. En la ventana Data Analysis (análisis de datos), asegúrese de seleccionar **Well Group** (grupo de pocillos) del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Por tanto, haga clic en el menú desplegable **Well Group** (grupo de pocillos) junto al botón **Well Group** (grupo de pocillos) (consulte la figura 4) de la barra de herramientas.
2. Asegúrese de que se hayan completado todos los pasos del proceso de análisis (consulte los capítulos que van del 7.6.7.1 Corrección de la línea de base hasta el 7.6.8.1 Exclusión de pocillos que contengan datos no válidos) para el grupo de pocillos del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5.
3. En la barra de menú de la ventana Data Analysis (análisis de datos), haga clic en **Export → Export All Data Sheets** (exportar → exportar todas las hojas de datos) para abrir el cuadro de diálogo Browse For Folder (buscar carpeta).
4. En el cuadro de diálogo Browse For Folder (buscar carpeta), especifique la ubicación para los archivos de resultados de LIMS que se van a generar y haga clic en **OK** (aceptar).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

NOTA

La integración de LIMS debe implementarse de conformidad con las especificaciones de altona Diagnostics. Para obtener más información sobre la integración de LIMS, consulte el capítulo 16. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect software e información para la integración de LIMS o contacte con el soporte técnico de altona Diagnostics (consulte el capítulo 11. Soporte técnico).

NOTA

Si se guardan los resultados de más de un ensayo (grupo de pocillos) de una serie PCR en la misma carpeta, se sustituyen los archivos de resultados de LIMS del primer ensayo (grupo de pocillos) por los archivos de resultados de LIMS del segundo ensayo (grupo de pocillos). En este caso, los archivos de resultados de LIMS del primer ensayo (grupo de pocillos) pueden volver a exportarse.

8. Datos de rendimiento

El rendimiento del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se evaluó utilizando el 1er estándar internacional de la OMS para el ARN del virus de la hepatitis D (código PEI: 7657/12), proporcionado por el PEI (Paul Ehrlich Institute), plásmidos y material del HDV disponible comercialmente y calibrado con el estándar internacional de la OMS.

8.1 Plasma

8.1.1 Sensibilidad analítica

Para la determinación del límite de detección (LoD) se generó una serie de dilución del 1er estándar internacional de la OMS para el ARN del virus de la hepatitis D (código PEI 7657/12) en plasma con EDTA de entre 5,00E+01 y 2,00E-02 UI/ml.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Cada dilución se probó en 8 réplicas en 3 series diferentes (total n = 24 por dilución) usando combinaciones de:

- 3 lotes del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5
- 3 lotes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 lotes del AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno)
- 3 instrumentos AltoStar® AM16
- 3 instrumentos CFX96™ DW Dx

Los datos de todas las series se combinaron y se realizó un análisis de probit para determinar el valor de LoD del 95 %.

Tabla 12: Resultados de PCR utilizados para calcular la sensibilidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5

Concentración [UI/ml]	N [total]	N [positivo]	Índice de éxito [%]
5,00E+01	24	24	100
1,00E+01	24	24	100
5,00E+00	24	24	100
1,00E+00	24	24	100
7,00E-01	24	20	83
5,00E-01	24	20	83
2,00E-01	24	16	67
1,00E-01	24	7	29
5,00E-02	24	6	25
2,00E-02	24	2	8

El LoD del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 para la detección del HDV en plasma con EDTA es de 1,12 UI/ml (intervalo de confianza del 95 %: 0,72-2,20 UI/ml).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

El LoD para los genotipos 2-8 del HDV se confirmó de conformidad con el protocolo descrito en la guía del CLSI EP17-A2 («Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition») [6] usando plásmidos que contenían la secuencia diana específica.

Los resultados confirmaron un LoD de al menos 1,12 UI/ml para los genotipos 2-8 del HDV.

8.1.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se garantiza mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se comprobaron mediante un análisis de comparación con secuencias disponibles públicamente para asegurar que se detectarán todos los genotipos relevantes de HDV.

Para la verificación de la especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, se realizaron los siguientes experimentos (consulte los capítulos desde el 8.1.2.1 Muestras negativas hasta el 8.1.2.3 Reactividad cruzada).

8.1.2.1 Muestras negativas

Se analizaron 105 muestras de plasma con EDTA negativas en HDV de donantes individuales con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Todas las muestras (105 de 105) dieron negativo para el ARN específico de HDV y positivo para el IC. La especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 para muestras de plasma con EDTA es de ≥99 %.

8.1.2.2 Sustancias interferentes

Para evaluar la influencia de sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes en el rendimiento del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, se añadieron las sustancias seleccionadas a las muestras de plasma con EDTA. Estas muestras de plasma contenían HDV a una concentración de 3 veces el LoD (3,36E+00 UI/ml), 2,00E+03 UI/ml y no HDV, respectivamente.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Los resultados obtenidos para las muestras que contenían sustancias potencialmente interferentes se compararon con los resultados generados para muestras de plasma con EDTA que no se enriquecieron con interferentes. Cada muestra se procesó en 3 réplicas.

No se observó interferencia para las muestras que contenían niveles elevados de:

- Sustancias endógenas
  - Bilirrubina
  - Hemoglobina
  - ADN genómico humano
  - Albúmina de suero humano
  - Triglicéridos
- Sustancias exógenas
  - Adefovir
  - Bulevirtida
  - Entecavir
  - Interferón α 2a
  - Lamivudina
  - Telbivudina
  - Tenofovir

Además, se analizaron muestras de plasma con EDTA de pacientes que padecían enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide) con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, enriquecidas y sin enriquecer con HDV hasta una concentración final de 3,36E+00 UI/ml y 2,00E+03 UI/ml, respectivamente. No se observaron interferencias en términos de especificidad, sensibilidad y cuantificación fiable.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN

La presencia de inhibidores de PCR (p. ej., heparina) podría provocar falsos negativos o resultados no válidos.

8.1.2.3 Reactividad cruzada

Se evaluó la especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con respecto a la reactividad cruzada con otros patógenos distintos de HDV mediante análisis:

- Virus relacionados con HDV
- Virus que provocan síntomas similares a una infección por HDV
- Virus que es probable que estén presentes en pacientes que padecen una infección por HDV

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 no mostró reacciones cruzadas con ninguno de los siguientes patógenos:

- Citomegalovirus (CMV)
- Virus de Epstein-Barr (EBV)
- Virus de la hepatitis A (HAV)
- Virus de la hepatitis B (HBV)
- Virus de la hepatitis C (HCV)
- Virus de la hepatitis E (HEV)
- Virus del herpes simple 1 (HSV-1)
- Virus del herpes simple 2 (HSV-2)
- Virus 1 de la inmunodeficiencia humana (HIV-1)
- Virus 2 de la inmunodeficiencia humana (HIV-2)
- Virus linfotrópico T humano I (HTLV-I)
- Virus linfotrópico T humano II (HTLV-II)
- Parvovirus B19

PRECAUCIÓN

Si la muestra contiene otros patógenos distintos de HDV, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas, lo que provocaría unos resultados incorrectos.

IF-2026-10034220-APN-INPM#ANMAT

8.1.3 Rango lineal

Para la determinación del rango lineal del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se analizó una serie de dilución de HDV en plasma con EDTA negativo de entre 1,00E+06 y 2,00E+01 UI/ml:

- Se analizaron diluciones con una concentración de entre 1,00E+06 y 1,00E+05 UI/ml en 4 réplicas.
- Se analizaron diluciones con una concentración de entre 1,00E+04 y 2,00E+01 UI/ml en 8 réplicas.

El análisis se realizó basándose en una regresión polinómica.

El rango lineal del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 para la cuantificación de HDV en plasma con EDTA es de entre 2,00E+01 y 1,00E+06 UI/ml. Se muestra una representación gráfica de los datos en la figura 16.

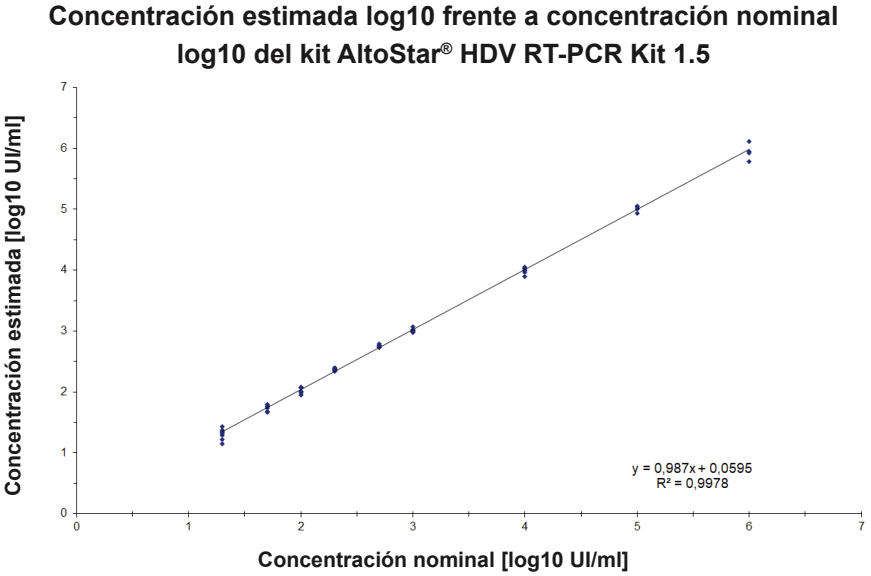


Figura 16: Análisis de regresión lineal del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con muestras de plasma con EDTA

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

8.1.4 Precisión

Se evaluó la precisión del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 usando un panel compuesto por:

- 1 muestra de plasma con EDTA con carga viral alta de HDV (2,00E+03 UI/ml)
- 1 muestra de plasma con EDTA con carga viral media de HDV [1,00E+02 UI/ml (5 veces el límite de cuantificación inferior (LLoQ))]
- 1 muestra de plasma con EDTA negativa para HDV

Los datos se obtuvieron con base en:

- Valores de cuantificación de las muestras positivas para el HDV con carga viral alta y media
- Valores de ciclo de umbral (C_q) del IC en las muestras negativas para el HDV

* Tenga en cuenta que el término elegido C_q es equivalente a la designación de C_t, la cual podría ser usada por otros cicladores distintos del CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

Los datos de repetibilidad se generaron siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI EP05-A3 («Evaluation of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition») [7]. Un operador analizó cada miembro del panel por duplicado en 2 series al día durante 20 días usando:

- 1 lote de kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5
- 1 lote de kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 1 lote de AltoStar® Internal Control 1.5
- 1 instrumento AltoStar® AM16
- 1 instrumento CFX96™ DW Dx

En la tabla 13 se muestran los cálculos de repetibilidad y de precisión intralaboratorio tanto en forma de desviaciones estándar (DE) como de coeficientes de variación (% CV) obtenidos para la muestra de carga viral alta de HDV, la muestra de carga viral media de HDV y el IC (basado en los valores de C_q) en la muestra negativa para el HDV.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Tabla 13: Repetibilidad y precisión intralaboratorio del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5

		Repetibilidad		Precisión intralaboratorio	
Muestra	Cuantificación de la media (log10 UI/ml)	DE (log10 UI/ml)	% CV	DE (log10 UI/ml)	% CV
Carga viral alta	3,47	0,02	0,56	0,05	1,35
Carga viral media	2,24	0,04	2,01	0,05	2,34
	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	% CV	DE (valores C_q)	% CV
Negativo	28,75	0,09	0,33	0,10	0,36

Además, se evaluó la reproducibilidad de un centro a otro mediante el análisis de un panel de muestras en 3 laboratorios diferentes. El panel de muestras estuvo compuesto por muestras de plasma con EDTA positivas para el HDV con 3 concentraciones diferentes [2,00E+03 UI/ml, 1,00E+02 UI/ml (5 x LLoQ) y 3,36E+01 UI/ml (3 x LoD)] además de por muestras negativas en HDV. Los resultados obtenidos en la muestra de 1,50E+03 UI/ml, la muestra de 1,00E+02 UI/ml y el IC (basado en los valores de C_q) en la muestra negativa para el HDV se muestran en la tabla 14.

Tabla 14: Reproducibilidad de un centro a otro del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5

		Reproducibilidad de un centro a otro	
Muestra	Cuantificación de la media (log10 UI/ml)	DE (log10 UI/ml)	% CV
Carga viral alta	4,32	0,03	0,77
Carga viral media	2,18	0,05	2,11
	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	% CV
Negativo	28,65	0,36	1,25

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Todas las muestras analizadas con 3 x LoD (muestras de carga viral baja) dieron positivo en todos los laboratorios.

8.1.5 Índice de fallo total

La solidez del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se evaluó analizando 106 muestras de plasma con EDTA negativas para el HDV de donantes individuales enriquecidas con HDV hasta una concentración final de 3 veces el límite de detección (3,36E+00 UI/ml). El 99,1 % (105 de 106) de las muestras dio positivo en el canal de detección de fluorescencia específico del HDV (FAM™).

8.1.6 Arrastre

La contaminación por arrastre es un riesgo que depende del flujo de trabajo y no del ensayo PCR que se utilice. Para el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo), se utilizó el kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5 como modelo de ejemplo. Se evaluó la posible contaminación cruzada por arrastre de muestras de carga viral alta analizando muestras alternativas de parvovirus B19 de carga viral alta (1,00E+07 UI/ml) y muestras negativas (n = 23 cada una por serie, 5 series) con el kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. No se observó arrastre, es decir, todas las muestras negativas para el parvovirus B19 dieron negativo.

8.1.7 Rendimiento clínico

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se evaluó en un estudio comparativo con el kit con marcado CE RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN). Se analizaron retrospectivamente 335 muestras de plasma con EDTA y suero en paralelo:

El RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN) se utilizó en combinación con el INSTANT Virus RNA/DNA Kit (ROBOSCREEN).

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se utilizó en combinación con el kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y el AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno) en el AltoStar® AM16 y el CFX96™ DW Dx.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Para el análisis cualitativo, se han excluido todas las muestras con un resultado no válido para uno o ambos ensayos, así como todas las muestras con un resultado cuantitativo por debajo del LoD de uno o ambos ensayos.

Los resultados para las 316 muestras restantes figuran en la tabla 15.

Tabla 15: Resultados de la evaluación de la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del HDV en muestras de plasma con EDTA y suero

		RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN)	
		POSITIVO	NEGATIVO
AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5	POSITIVO	188	0
	NEGATIVO	0	128

La sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 en comparación con el RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN) fueron del 100 % (intervalo de confianza del 98,13 % al 100,0 %) y del 95 % (intervalo de confianza del 97,2 % al 100,0 %), respectivamente.

Para la correlación cuantitativa, se han excluido las muestras que dieron negativo en uno o ambos ensayos y las muestras con un resultado cuantitativo por debajo del LLoQ de uno o ambos ensayos.

Se utilizaron las 187 muestras restantes para la correlación cuantitativa mediante análisis de regresión lineal (consulte la figura 17).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

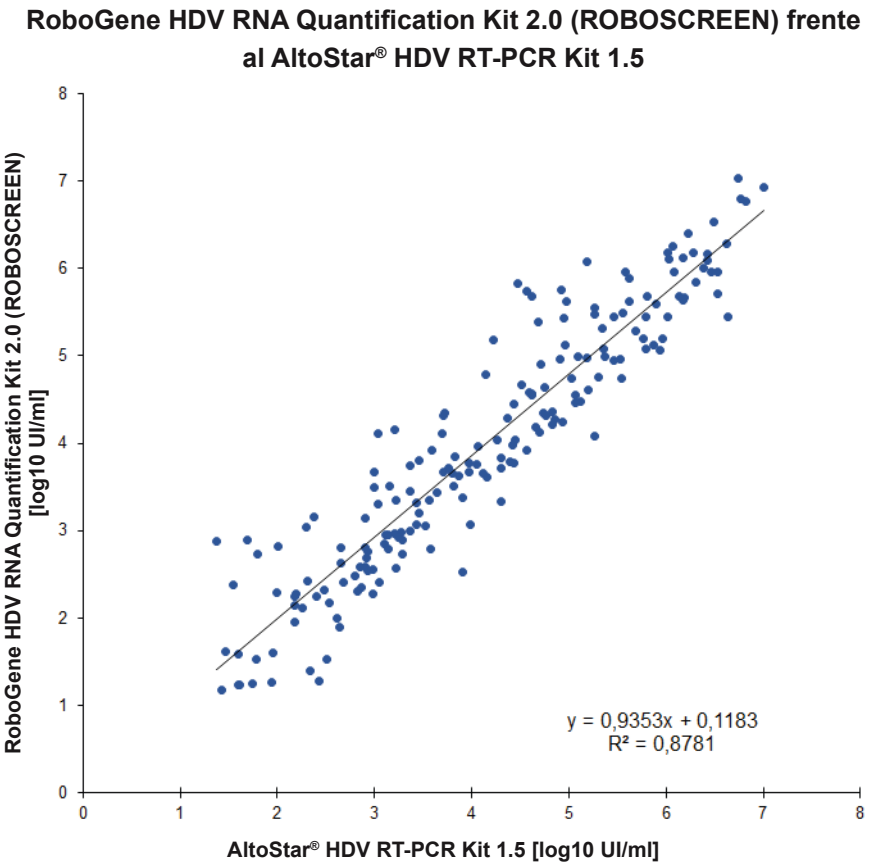


Figura 17: Análisis de regresión lineal de los resultados obtenidos con el RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN) (referencia) y el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5

Se muestra una muy buena correlación entre los resultados cuantitativos obtenidos con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 y el RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN) [coeficiente de correlación R = 0,94 (R^2 = 0,88)].

8.2 Suero

8.2.1 Sensibilidad analítica

El LoD para el HDV en suero se confirmó de conformidad con el protocolo descrito en la guía del CLSI EP17-A2 («Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition») [6].

El suero negativo para el HDV se enriqueció con HDV hasta una concentración final del valor del LoD obtenido para el plasma con EDTA (1,12 UI/ml) calculada para el 1er estándar internacional de la OMS para el ARN del virus de la hepatitis D (código PEI: 7657/12). A continuación, se analizaron las muestras en 3 series diferentes usando combinaciones de 3 lotes del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, 3 lotes del kit AltoStar® Purification Kit 1.5 y 3 lotes del AltoStar® Internal Control 1.5 (control interno) (n = 20 por serie; 60 réplicas en total).

Tabla 16: Confirmación de la sensibilidad analítica para HDV en suero

	N [total]	N [positivo]	Índice de éxito [%]
1er estándar internacional de la OMS	60	54	90

Los resultados confirmaron un LoD de al menos 1,12 UI/ml para HDV en suero.

Acerca del rendimiento en los genotipos 2-8 del HDV consulte el capítulo 8.1.1 Sensibilidad analítica.

8.2.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se garantiza mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se comprobaron mediante un análisis de comparación con secuencias disponibles públicamente para asegurar que se detectarán todos los genotipos relevantes de HDV.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Para la verificación de la especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, se realizaron los siguientes experimentos (consulte los capítulos desde el 8.2.2.1 Muestras negativas hasta el 8.2.2.3 Reactividad cruzada).

8.2.2.1 Muestras negativas

Se analizaron 105 muestras de suero negativas en HDV de donantes individuales con el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5. Todas las muestras (105 de 105) dieron negativo para el ARN específico de HDV y positivo para el IC. La especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 para muestras de suero es de ≥ 99 %.

8.2.2.2 Sustancias interferentes

No se analizaron sustancias interferentes adicionales para el suero, ya que es probable que en las muestras de suero se encuentren las mismas sustancias analizadas para el plasma con EDTA. Para evaluar la influencia de sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes en el rendimiento del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, consulte el capítulo 8.1.2.2 Sustancias interferentes.

PRECAUCIÓN



La presencia de inhibidores de PCR (p. ej., heparina) podría provocar falsos negativos o resultados no válidos.

8.2.2.3 Reactividad cruzada

No se analizaron patógenos adicionales en el suero, ya que la gama de virus distintos del de la hepatitis D que se hallan con frecuencia en las muestras de suero es idéntico al hallado en las muestras de plasma con EDTA. Acerca de la especificidad analítica del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con respecto a la reactividad cruzada con otros patógenos distintos del HDV, consulte el capítulo 8.1.2.3 Reactividad cruzada.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN

Si la muestra contiene otros patógenos distintos de HDV, puede darse competencia con la amplificación objetivo o reactividades cruzadas, lo que provocaría unos resultados de examen IVD incorrectos.

8.2.3 Rango lineal

Para la determinación del rango lineal del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5, se analizó una serie de dilución de HDV en suero de entre 1,00E+06 y 2,00E+01 UI/ml:

- Se analizaron diluciones con una concentración de entre 1,00E+06 y 1,00E+05 UI/ml en 4 réplicas.
- Se analizaron diluciones con una concentración de entre 1,00E+04 y 2,00E+01 UI/ml en 8 réplicas.

El análisis se realizó basándose en una regresión polinómica.

El rango lineal del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 para la cuantificación del HDV en suero es de entre 2,00E+01 y 1,00E+06 UI/ml. Se muestra una representación gráfica de los datos en la figura 18.

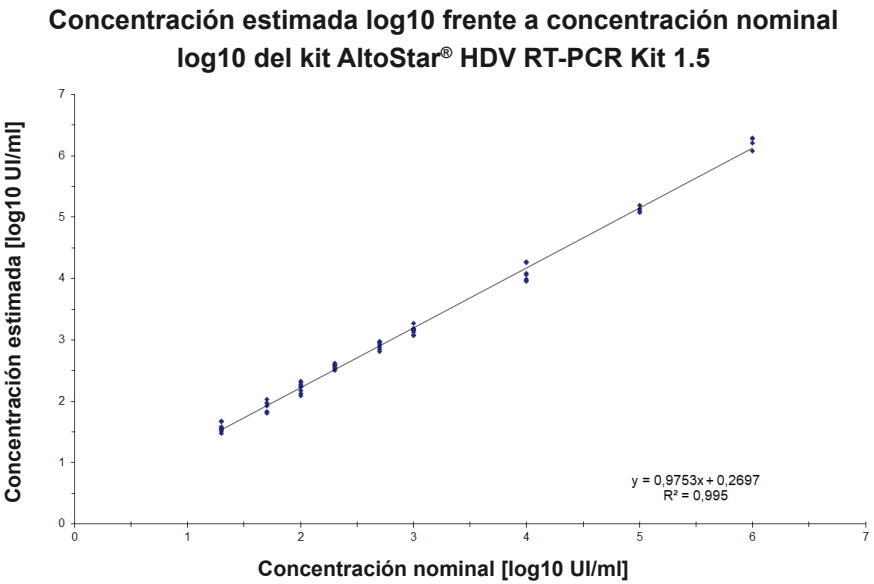


Figura 18: Análisis de regresión lineal del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 con muestras de suero

8.2.4 Precisión

Se evaluó la precisión del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 usando un panel compuesto por:

- 1 muestra de suero con carga viral alta (2,00E+03 UI/ml) de HDV
- 1 muestra de suero con carga viral media [1,00E+02 UI/ml (5 veces el límite de cuantificación inferior (LLoQ))] de HDV
- 1 muestra de suero negativa para HDV

Los datos se obtuvieron con base en:

- Valores de cuantificación de las muestras positivas para el HDV con carga viral alta y media
- Valores de ciclo de umbral (C_q) del IC en las muestras negativas para el HDV

* Tenga en cuenta que el término elegido C_q es equivalente a la designación de C_T la cual podría ser usada por otros cicladores distintos del CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad).

IF-2026-10034226-APN-INPM#ANMAT

Los datos de repetibilidad se generaron siguiendo las recomendaciones de la guía CLSI EP05-A3 («Evaluation of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition») [7]. Un operador analizó cada miembro del panel por duplicado en 2 series al día durante 20 días usando:

- 1 lote de kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5
- 1 lote de kit AltoStar® Purification Kit 1.5
- 1 lote de AltoStar® Internal Control 1.5
- 1 instrumento AltoStar® AM16
- 1 instrumento CFX96™ DW Dx

En la tabla 17 se muestran los cálculos de repetibilidad y de precisión intralaboratorio tanto en forma de desviaciones estándar (DE) como de coeficientes de la variación (% CV) obtenidos para la muestra de carga viral alta de HDV, la muestra de carga viral media de HDV y el IC (basado en los valores de C_q) en la muestra negativa para el HDV.

Tabla 17: Repetibilidad y precisión intralaboratorio del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5

		Repetibilidad		Precisión intralaboratorio	
Muestra	Cuantificación de la media (log10 UI/ml)	DE (log10 UI/ml)	% CV	DE (log10 UI/ml)	% CV
Carga viral alta	3,46	0,03	0,84	0,05	1,48
Carga viral media	2,19	0,03	1,39	0,04	2,04
	Media (valores C_q)	DE (valores C_q)	% CV	DE (valores C_q)	% CV
Negativo	28,59	0,10	0,35	0,11	0,39

Se analizó la variabilidad de un centro a otro para muestras de plasma con EDTA (consulte la tabla 14).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

8.2.5 Índice de fallo total

Se evaluó la robustez del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 analizando 105 muestras de suero negativas para el HDV de donantes individuales enriquecidas con HDV hasta una concentración final de 3 x LoD (3,36E+00 UI/ml). Todas las muestras (105 de 105) analizadas dieron positivo en el canal de detección de fluorescencia específico de HDV (FAM™).

8.2.6 Arrastre

La contaminación por arrastre es un riesgo que depende del flujo de trabajo y no del ensayo PCR que se utilice. Para el AltoStar® Workflow (flujo de trabajo), se utilizó el kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5 como modelo de ejemplo. Se evaluó la posible contaminación cruzada por arrastre de muestras de carga viral alta analizando muestras alternativas de parvovirus B19 de carga viral alta (1,00E+07 UI/ml) y muestras negativas (n = 23 cada una por serie, 5 series) con el kit AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. No se observó arrastre, es decir, todas las muestras negativas para el parvovirus B19 dieron negativo.

8.2.7 Rendimiento clínico

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se evaluó en un estudio comparativo con el kit con marcado CE RoboGene HDV RNA Quantification Kit 2.0 (ROBOSCREEN). Para obtener más detalles, consulte el capítulo 8.1.7 Rendimiento clínico.

9. Eliminación

Elimine los desechos peligrosos y biológicos conforme a las regulaciones locales y nacionales. No debe permitirse que los componentes sobrantes de producto ni los desechos lleguen al alcantarillado, a cursos de agua o al suelo exterior.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

PRECAUCIÓN



Trate siempre las muestras como si fuera material infeccioso y (bio)peligroso conforme a los procedimientos de seguridad y de laboratorio. Si se derrama material de las muestras, utilice rápidamente un desinfectante adecuado. Manipule los materiales contaminados como si fueran biopeligrosos.

PRECAUCIÓN



La eliminación de los residuos peligrosos y biológicos deberá cumplir las normativas locales y nacionales para evitar la contaminación medioambiental.

NOTA



La PCR plate (placa PCR) debe eliminarse sellada, ya que no se puede retirar la PCR Plate Sealing Foil (lámina sellante para placas PCR).

10. Control de calidad

De acuerdo con el sistema de control de calidad con certificación EN ISO 13485 de altona Diagnostics GmbH, cada lote del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 se somete a tests con especificaciones predeterminadas para asegurar una calidad del producto uniforme.

11. Soporte técnico

Si necesita asistencia, póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics:

email: **support@altona-diagnostics.com**

teléfono: **+49-(0)40-5480676-0**

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

NOTA

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con este producto, se notificará a altona Diagnostics y a la autoridad competente del país.

12. Resumen de seguridad y resultados

El resumen de seguridad y resultados elaborado para el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 puede consultarse en la Base de Datos Europea sobre Productos Sanitarios (EUDAMED) en cuanto esté plenamente operativo: https://ec.europa.eu/tools/eudamed.

13. Bibliografía

[1] Netter HJ, Barrios MH, Littlejohn M, Yuen LKW. Hepatitis Delta Virus (HDV) and Delta-Like Agents: Insights Into Their Origin. Front Microbiol. 2021 Jun 21;12:652962. doi: 10.3389/fmicb.2021.652962. PMID: 34234753; PMCID: PMC8256844.

[2] Taylor JM. Infection by Hepatitis Delta Virus. Viruses. 2020 Jun 16;12(6):648. doi: 10.3390/v12060648. PMID: 32560053; PMCID: PMC7354607.

[3] Stockdale AJ, Kreuels B, Henrion MYR, Giorgi E, Kyomuhangi I, de Martel C, Hutin Y, Geretti AM. The global prevalence of hepatitis D virus infection: Systematic review and meta-analysis. J Hepatol. 2020 Sep;73(3):523-532. doi: 10.1016/j.jhep.2020.04.008. Epub 2020 Apr 23. PMID: 32335166; PMCID: PMC7438974.

[4] Gilman C, Heller T, Koh C. Chronic hepatitis delta: A state-of-the-art review and new therapies. World J Gastroenterol. 2019 Aug 28;25(32):4580-4597. doi: 10.3748/wjg.v25.i32.4580. PMID: 31528088; PMCID: PMC6718034.

[5] Urban S, Neumann-Haefelin C, Lampertico P. Hepatitis D virus in 2021: virology, immunology and new treatment approaches for a difficult-to-treat disease. Gut. 2021 Sep;70(9):1782-1794. doi: 10.1136/gutjnl-2020-323888. Epub 2021 Jun 8. PMID: 34103404; PMCID: PMC8355886.

[6] CLSI. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition*. CLSI document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

[7] CLSI. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition.* CLSI document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

14. Marcas comerciales y aviso legal

4s3™ (4titude); AltoStar® (altona Diagnostics); CFX96™, CFX Manager™ (Bio-Rad); LOINC® (Regenstrief Institute, Inc.); FAM™, VIC™ (Thermo Fisher Scientific).

Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. usados en este documento, incluso si no están marcados específicamente como tales, no se deben considerar privados de protección legal.

El kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 es un producto con marcado CE conforme al Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico *in vitro*.

Producto sin licencia de Health Canada y no aprobado ni autorizado por la FDA.

No disponible en todos los países.

© 2025 altona Diagnostics GmbH; reservados todos los derechos.

15. Símbolos

Símbolo	Explicación
IVD	Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*
GTIN	Número mundial de artículo comercial
LOT	Código de lote
CONT	Contenido
CAP	Color del tapón
REF	Número de catálogo
NUM	Número
COMP	Componente
	Consultar instrucciones de uso
	Contiene suficiente para «n» tests/ reacciones (rxns)
	Límite de temperatura
	Fecha de vencimiento

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

Símbolo	Explicación
	Fabricante
	Precaución
	Número de material
	Versión
	Nota
	Contiene material biológico de origen animal

16. Protocolo de ensayo para el AltoStar® Connect software e información para la integración de LIMS

El código de barras en 2D en la figura 19 se debe usar para instalar el último protocolo de ensayo para el uso del kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5 en el AltoStar® AM16. El código de barras solo se puede escanear en forma impresa. Puede escanear el código de barras directamente desde el manual o imprimirlo en una hoja independiente. Tenga en cuenta que el tamaño de la impresión afecta a la capacidad de escaneo del código de barras. Asegúrese de que el tamaño de la escala es del 100 %. Para escanear, dirija el escáner hacia la línea roja en el código de barras. Para obtener más información sobre la gestión de los protocolos de ensayo, consulte el capítulo respectivo en las instrucciones de uso del AltoStar® Connect software. Para obtener más información para la integración de LIMS, consulte la tabla 19.

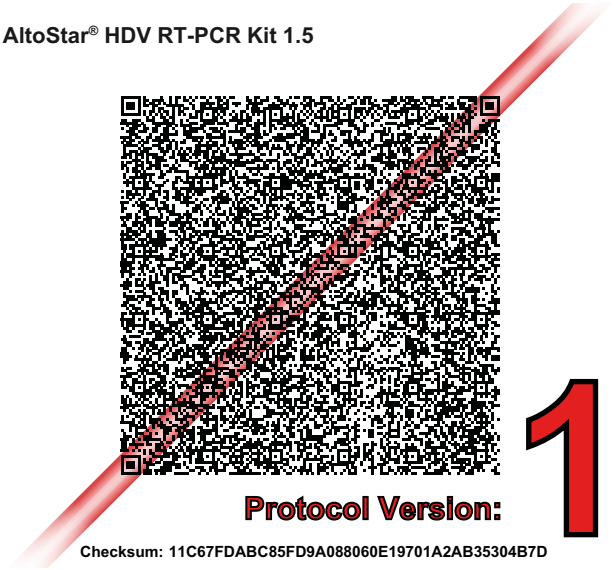


Figura 19: Código de barras para el protocolo de ensayo para el kit AltoStar® HDV RT-PCR Kit 1.5

Tabla 18: Registro de cambios para el protocolo de ensayo

Versión del protocolo	Actualizaciones de versiones
1	Versión inicial

Tabla 19: Información para la integración de LIMS

Uso	Datos
Pedido de prueba (LIMS → AltoStar® AM16)	AltoStar HDV RT-PCR Kit 1.5
Unidad del resultado de la prueba (CFX96™ DW Dx → LIMS)	IU/ml
Resultado de la prueba (CFX96™ DW Dx → LIMS) canal 1	HDV
Resultado de la prueba (CFX96™ DW Dx → LIMS) canal 2	Internal Control

Para LOINC® (Logical Observation Identifiers Names and Codes), consulte el sitio web de altona Diagnostics GmbH (www.altona-diagnostics.com) o póngase en contacto con el soporte técnico de altona Diagnostics (consulte el capítulo 11. Soporte técnico).

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

17. Historial de revisiones

Tabla 20: Historial de revisiones

Identificador	Fecha de emisión [mes/año]	Modificaciones
MAN-AS0401540-ES-S01	05/2025	Lanzamiento inicial

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

República Argentina - Poder Ejecutivo Nacional
Año de la Grandeza Argentina

Hoja Adicional de Firmas
Anexo

Número: IF-2026-100342226-APN-INPM#ANMAT

CIUDAD DE BUENOS AIRES
Jueves 15 de Octubre de 2026

Referencia: Rotulo e instrucciones de uso- 77118

El documento fue importado por el sistema GEDO con un total de 95 pagina/s.

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2026.10.15 10:04:53 -03:00

Lorena Terrizzano
Director Nacional
Instituto Nacional de Productos Médicos
Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

Digitally signed by GESTION DOCUMENTAL ELECTRONICA - GDE
Date: 2026.10.15 10:04:55 -03:00