

## Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Para exportación de EE. UU. solamente.

<b>Información general</b> .....	<b>2</b>
Uso indicado .....	2
Resumen y explicación de la prueba .....	2
Principios del procedimiento .....	3
Advertencias y precauciones .....	4
Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos .....	7
Recogida y conservación de las muestras .....	8
Muestras conservadas en el Panther System .....	12
Transporte de las muestras .....	12
<b>Panther System</b> .....	<b>13</b>
Reactivos y materiales suministrados .....	13
Materiales necesarios pero no suministrados .....	15
Materiales opcionales .....	16
Procedimiento de la prueba en el Panther System .....	16
Notas sobre el procedimiento .....	20
<b>Control de calidad</b> .....	<b>22</b>
Calibración del ensayo .....	22
Controles negativo y positivo .....	22
Calibrador interno/control interno .....	22
<b>Interpretación de los resultados</b> .....	<b>23</b>
<b>Limitaciones</b> .....	<b>24</b>
<b>Eficacia</b> .....	<b>25</b>
Límite de detección (LDD) utilizando el Tercer Estándar Internacional para HIV-1 de la OMS ...	25
Límite de detección en distintos subtipos y grupos de HIV-1 .....	26
Rango lineal .....	27
Linealidad en distintos subtipos y grupos de HIV-1 .....	28
Límite inferior de cuantificación (LIDC) utilizando el Tercer Estándar Internacional para HIV-1 de la OMS .....	29
Verificación del LIDC en distintos subtipos y grupos de HIV-1 .....	30
Precisión .....	31
Sustancias potencialmente interferentes .....	32
Especificidad .....	34
Especificidad analítica .....	35
Repetibilidad de las muestras clínicas .....	36
Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras .....	37
Correlación de métodos .....	38
Acuerdo diagnóstico .....	38
Contaminación por arrastre .....	39
Panel de seroconversión .....	39
Estudio de equivalencia de suero y plasma .....	40
<b>Bibliografía</b> .....	<b>41</b>

## **Información general**

### **Uso indicado**

El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx Assay es una prueba de amplificación de ácidos nucleicos *in vitro* para la detección y cuantificación de los grupos M, N y O del RNA del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (HIV-1) en el sistema Panther™ totalmente automático. Está indicado para facilitar el diagnóstico de la infección por HIV-1, como confirmación de la infección por HIV-1 y para facilitar la atención a los pacientes infectados por HIV-1.

El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay puede utilizarse para facilitar el diagnóstico de la infección por HIV-1, incluida la infección aguda o primaria. La presencia de RNA de HIV-1 en el plasma o el suero de pacientes sin anticuerpos anti-HIV-1 es indicativa de infección aguda o primaria por HIV-1. El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay puede utilizarse como prueba suplementaria para muestras que hayan obtenido repetidamente resultados reactivos en inmunoensayos de HIV aprobados. Si la muestra es reactiva en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, se confirma la infección por HIV-1.

El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay también puede utilizarse junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio para el pronóstico de la enfermedad en personas infectadas por HIV-1. El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay puede utilizarse para facilitar la vigilancia del efecto del tratamiento antirretroviral mediante la medición de los cambios en la concentración plasmática de RNA de HIV-1.

Cuando el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se utiliza para facilitar el diagnóstico de la infección por HIV-1, la eficacia en cuanto a los resultados cualitativos se establece con muestras tanto de plasma como de suero.\* Cuando se utiliza para facilitar la vigilancia del efecto del tratamiento antirretroviral, la eficacia en cuanto a los resultados cuantitativos se establece únicamente con muestras de plasma. Las muestras de suero no pueden utilizarse para los resultados cuantitativos.

Este ensayo no está concebido para el cribado de donantes de sangre o plasma.

### **Resumen y explicación de la prueba**

Estudios epidemiológicos identificaron el virus de inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) como el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (1-7). El HIV puede transmitirse por contacto sexual, exposición a sangre o hemoderivados infectados o a través de la transmisión madre a hijo (8). En el periodo de 3 a 6 semanas posterior a la exposición al HIV, las personas infectadas suelen presentar un síndrome breve y agudo caracterizado por síntomas similares a los de la gripe y asociados a altos niveles de viremia en la sangre periférica (9-12). En la mayoría de las personas infectadas, esta fase inicial es seguida por una respuesta inmunitaria específica al HIV y por una reducción de la viremia plasmática, por lo general en el periodo de 4 a 6 semanas posterior al comienzo de los síntomas (13-14). Tras la seroconversión, las personas infectadas suelen entrar en una fase asintomática clínicamente estable que puede durar años (15-17). El periodo asintomático se caracteriza por viremia plasmática persistente de bajo nivel (18) y por una reducción gradual de linfocitos T CD4+. Esta reducción provoca inmunodeficiencia grave, diversas infecciones oportunistas, cánceres y muerte (19). Aunque los niveles del virus en la sangre periférica son relativamente bajos durante la fase asintomática de la infección, la multiplicación y la eliminación del virus parecen ser procesos dinámicos en los que altas tasas de producción de virus e infección de las células CD4+ se ven contrarrestadas por tasas igualmente altas de

eliminación del virus, muerte de las células infectadas y reposición de células CD4+, lo que resulta en unos niveles relativamente estables tanto de viremia plasmática como de células CD4+ (20-22).

Las mediciones cuantitativas de HIV en la sangre periférica han mostrado que el aumento de los niveles del virus se puede correlacionar con un mayor riesgo de progresión clínica de la enfermedad asociada al HIV, y que la reducción de los niveles plasmáticos del virus pueden asociarse a un menor riesgo de progresión clínica (23-25). Los niveles del virus en la sangre periférica pueden cuantificarse mediante la medición de las concentraciones séricas de antígeno p24 del HIV, mediante el cultivo cuantitativo de HIV de plasma o mediante la medición directa de RNA vírico en plasma utilizando tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos o de amplificación de señal (26-30).

Actualmente, la detección de la infección por HIV-1 se basa principalmente en pruebas serológicas de anticuerpos o antígeno p24 mediante un inmunoensayo. Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades estadounidenses recomiendan el uso de una prueba de anticuerpos y RNA para diagnosticar las infecciones agudas por HIV (31). Aunque la sensibilidad de la detección de anticuerpos anti-HIV-1 y antígeno p24 ha mejorado, aún existe un margen de tiempo entre el momento de la infección y el de la detección mediante marcadores serológicos. Este margen de tiempo depende de la sensibilidad de la prueba serológica utilizada. Un cálculo (32) indica que los ensayos de antígeno p24/anticuerpos de 4.<sup>a</sup> generación pueden detectar la infección cuando la concentración de RNA de HIV-1 alcanza las 14.000 copias/ml. El límite de detección del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay es significativamente inferior a 14.000 copias/ml y puede detectar la presencia de HIV-1 antes que los inmunoensayos de HIV.

Las técnicas moleculares, como la amplificación mediada por transcripción (transcription-mediated amplification, TMA), han sido utilizadas ampliamente para amplificar ácidos nucleicos (31). La TMA utiliza una captura de diana específica y amplificación isotérmica para detectar ácidos nucleicos en múltiples agentes infecciosos (32).

El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, mediante la TMA, utiliza múltiples cebadores de cadena larga dirigidos contra múltiples regiones del genoma HIV-1 con el fin de compensar la alta tasa de mutación y las múltiples mutaciones potenciales en la región diana.

## Principios del procedimiento

Para realizar el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay hay que llevar a cabo tres pasos principales, todos los cuales tienen lugar en un único tubo en el Panther System: captura seleccionada, amplificación de la diana mediante amplificación mediada por transcripción (transcription-mediated amplification, TMA), y detección de los productos de la amplificación (amplicón) por las sondas fluorescentes marcadas.

Durante la captura de la diana, los ácidos nucleicos virales se aíslan de las muestras. La muestra se trata con un detergente para solubilizar la envoltura vírica, desnaturalizar las proteínas y liberar el RNA genómico viral. Los oligonucleótidos de captura hibridan con regiones altamente conservadas del genoma del HIV-1, si las hay, de la muestra analítica. A continuación, la diana hibridada se captura sobre micropartículas magnéticas que se separan de la muestra en un campo magnético. Los pasos de lavado retiran los componentes extraños del tubo de reacción.

La amplificación diana se produce a través de la TMA, que es un método de amplificación de ácidos nucleicos mediada por transcripción que utiliza dos enzimas: transcriptasa inversa de MMLV (virus de la leucemia murina de Moloney) y RNA polimerasa T7. La transcriptasa


inversa se utiliza para generar una copia de DNA (que contiene una secuencia promotora para la RNA polimerasa T7) de la secuencia diana. La RNA polimerasa T7 genera varias copias del amplicón de RNA a partir del molde de copia de DNA. El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx utiliza el método de TMA para amplificar una parte del RNA de HIV-1 (pol y LTR). La amplificación de estas regiones específicas se logra utilizando primers diseñados para amplificar los grupos M, N y O de HIV-1. El diseño de los primers y el método de doble diana aseguran una detección y una cuantificación precisas del HIV-1.

La detección se lleva a cabo utilizando unas sondas fluorescentes de ácidos nucleicos monocatenarios que están presentes durante la amplificación de la diana e hibridan específicamente con el amplicón en tiempo real. Cada sonda fluorescente tiene un fluoróforo y un extintor de fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente hibrida con el amplicón, el extintor de fluorescencia está muy cerca del fluoróforo y suprime la fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente se une al amplicón, el extintor se aleja del fluoróforo y emite una señal a una longitud de onda específica cuando es excitado por una fuente luminosa. Cuantas más sondas de fluorescencia hibridan con el amplicón, mayor es la señal fluorescente generada. El tiempo que tarda la señal fluorescente en llegar a un umbral especificado es proporcional a la concentración inicial de HIV-1. Cada reacción tiene un calibrador interno/control interno (internal control, IC) que controla las variaciones del procesamiento, la amplificación y la detección de las muestras. La concentración de una muestra la determina el Panther System Software utilizando las señales del HIV-1 y del IC correspondientes a cada reacción y comparándolas con la información de la calibración.

## Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System) antes de realizar este ensayo.

## Relacionadas con el laboratorio

-  C. **PRECAUCIÓN:** Los controles de este ensayo contienen plasma humano. El plasma es negativo para antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg), anticuerpos anti-HCV, anticuerpos anti-HIV-1 y anti-HIV-2 y antígeno de HIV cuando se analiza con procedimientos aprobados por la Administración de Medicamentos y Alimentos estadounidense. Además, el plasma es no reactivo para RNA de HCV y RNA de HIV-1 cuando se analiza con pruebas de ácidos nucleicos aprobadas utilizando muestras combinadas. Todo el material proveniente de sangre humana debe considerarse potencialmente infeccioso y manipularse según las precauciones universales (35-37).
- D. Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente el lugar siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- E. Utilice únicamente el material desechable de laboratorio suministrado o especificado.
- F. Siga las precauciones de rutina del laboratorio. No pipetee con la boca. No comer, beber o fumar en las áreas de trabajo asignadas. Utilice guantes desechables sin talco, protección ocular y batas de laboratorio cuando manipule las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.

- G. Las superficies de trabajo, las pipetas y los otros equipos se deben descontaminar periódicamente con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 % - 3,5 % (0,35 M - 0,5 M).
- H. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa local, estatal y comunitaria (35-38). Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.
- I. Los controles contienen azida sódica como conservante. No utilice tubos de metal para transferir reactivos. Si se desechan soluciones que contengan compuestos de azida sódica en un sistema de tuberías, dichas soluciones se deben diluir y eliminar enjuagando el desagüe con agua corriente abundante. Se recomienda seguir estas precauciones para evitar la acumulación de depósitos en tuberías de metal, donde pueden darse las condiciones necesarias para una explosión.
- J. Las buenas prácticas estándar para laboratorios moleculares incluyen la vigilancia medioambiental. Para vigilar el entorno de un laboratorio, se sugiere el procedimiento siguiente.
  1. Consiga una torunda con punta de algodón y emparéjela con el tubo de alícuotas de muestras Aptima (specimen aliquot tube, SAT).
  2. Etiquete adecuadamente cada SAT.
  3. Llene cada SAT con 1 ml de diluyente de muestras Aptima.
  4. Para recoger muestras de superficie, humedezca ligeramente una torunda con agua desionizada libre de nucleasas.
  5. Ponga en contacto la torunda con la superficie de interés utilizando un movimiento vertical de arriba abajo. Gire la torunda una media vuelta mientras la mantiene en contacto con el lugar.
  6. Coloque inmediatamente la muestra de la torunda en el tubo y agite suavemente la torunda en el diluyente para extraer el material absorbido. Presione la torunda sobre un lado del tubo de transporte para extraer tanto líquido como sea posible. Deseche la torunda y tape el tubo.
  7. Repita los pasos con las muestras de las torundas restantes.
  8. Analice la torunda con un ensayo molecular.



### **Relacionadas con las muestras**

- K. Las muestras pueden ser infecciosas. Siga las precauciones universales (35-37) para realizar este ensayo. Deben establecerse métodos correctos de manipulación y eliminación de materiales de acuerdo con la normativa local (38). Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y en la manipulación de material infeccioso.
- L. Mantenga las condiciones de conservación apropiadas durante el envío de especímenes para garantizar la integridad de los mismos. No se ha evaluado la estabilidad de los especímenes en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- M. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras. Los especímenes pueden contener niveles extremadamente altos de organismos. Compruebe que los recipientes de las muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cámbiese los guantes si entran en contacto con una muestra.

**Relacionadas con el ensayo**

- N. Los resultados cuantitativos del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se han evaluado con plasma. El suero no puede utilizarse para obtener resultados cuantitativos. Los resultados cualitativos se han evaluado tanto con plasma como con suero.
- O. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.
- P. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes diferentes. Los fluidos del ensayo pueden ser de números de lote diferentes. Los controles y el calibrador pueden ser de números de lote diferentes.
- Q. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- R. Tape y conserve todos los reactivos del ensayo a las temperaturas especificadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente pueden afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos y Procedimiento de la prueba en el Panther System* para obtener más información.
- S. No combine ningún reactivo ni fluido del ensayo sin instrucciones específicas. No rellene los frascos de reactivos o de fluidos que contengan aún líquido. El Panther System verifica los niveles de reactivo.
- T. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con símbolos de riesgo y seguridad.

**Nota:** la comunicación sobre peligros refleja las clasificaciones de las fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información de comunicación sobre peligros específica de su país, consulte la Biblioteca de fichas de datos de seguridad (SDS) en [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).


	<p><b>HIV VL Kit Controls</b>  <b>Azida de sodio 0.2%</b>                  Human Serum 95-100%</p>
	<p><b>Atención</b>                  H312 - Nocivo en contacto con la piel                  H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos                  P273 - Evitar su liberación al medio ambiente                  P280 - Llevar gafas/máscara de protección</p>

## Requisitos de conservación y manipulación de los reactivos

- A. La tabla siguiente muestra las condiciones de conservación y la estabilidad de los reactivos, los controles y el calibrador.

Reactivos	Conservación sin abrir	Kit abierto (reconstituido)	
		Conservación	Estabilidad
Reactivo de amplificación qHIV-1	De 2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de amplificación qHIV-1	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
Reactivo enzimático qHIV-1	De 2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución enzimática qHIV-1	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
Reactivo promotor qHIV-1	De 2 °C a 8 °C		
Solución de reconstitución de promotor qHIV-1	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
Reactivo de captura qHIV-1	De 2 °C a 8 °C	De 2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
qHIV-1 NC CONTROL – (Control negativo)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en las 20 horas posteriores a la apertura
qHIV-1 LPC CONTROL + (Control positivo bajo)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en las 20 horas posteriores a la apertura
qHIV-1 HPC CONTROL + (Control positivo alto)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en las 20 horas posteriores a la apertura
qHIV-1 PCAL (Calibrador positivo)	De -15 °C a -35 °C	De 15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en las 20 horas posteriores a la apertura

<sup>a</sup> Al retirarlos del Panther System, los reactivos se deben volver a guardar inmediatamente a sus temperaturas de conservación adecuadas.

- B. Deseche todos los reactivos reconstituidos y el reactivo de captura (target capture reagent, TCR) no utilizados después de 30 días o de la fecha de caducidad del lote maestro, lo que ocurra primero.
- C. Los reactivos conservados en el instrumento Panther System tienen 72 horas de estabilidad en el instrumento. Los reactivos pueden cargarse en el Panther System hasta 5 veces. El Panther System registra cada vez que se cargan los reactivos.
- D. Tras descongelar el calibrador, la solución debe estar transparente, esto es, no debe estar turbia ni presentar precipitados.
-  E. Tanto el reactivo promotor como el reactivo promotor reconstituido son fotosensibles. Proteja estos reactivos de la luz durante la conservación y la preparación para el uso.

## Recogida y conservación de las muestras

**Nota:** Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes potencialmente infecciosos. Siga las precauciones universales.

**Nota:** Tenga cuidado para evitar la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de las muestras. Por ejemplo, deseche el material usado sin hacerlo pasar sobre tubos abiertos.

**Nota:** Para la conservación, solo se recomiendan tubos secundarios de plástico.

Pueden utilizarse muestras de sangre completa recogidas en los tubos de cristal o plástico siguientes:

Para las mediciones cuantitativas:

- Tubos con anticoagulantes de EDTA o de ácido citrato dextrosa (ACD) o
- Tubos de preparación de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT).

Para la determinación cualitativa:

- Tubos con anticoagulantes de EDTA o de ACD, o
- PPT, o
- Tubos de suero, o
- Tubos separadores de suero (Serum Separator Tubes, SST).

En el caso del suero, deje que se coagule antes de seguir procesándolo.

### A. Recogida de las muestras

La sangre completa puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras. Separe el plasma o el suero del sedimento de eritrocitos siguiendo las instrucciones del fabricante del tubo utilizado. El plasma o el suero pueden analizarse en el Panther System en un tubo primario o transferirse a un tubo secundario como el tubo de alícuotas de muestras (Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima. Para obtener un volumen de reacción de 500 µl, el volumen mínimo de plasma o suero para los tubos de recogida primarios es de hasta 1200 µl, mientras que para los tubos secundarios es de 700 µl. En la siguiente tabla se identifican los requisitos de volumen muerto para cada tipo de tubo primario y secundario.

Tubo (tamaño y tipo)	Volumen muerto en Panther
Tubo de alícuotas de muestras (Specimen Aliquot Tube, SAT) Aptima	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm con gel	0,3 ml
16x100 mm con gel	0,7 ml

Si no se analizan inmediatamente, el plasma y el suero pueden conservarse de acuerdo con las especificaciones siguientes. Si se transfieren a un tubo secundario, el plasma puede congelarse a -20 °C o -70 °C, y el suero puede congelarse a -20 °C. No lleve a cabo más de tres ciclos de congelación-descongelación para evitar afectar al resultado. No congele las muestras en tubos de recogida primarios de suero, EDTA o ACD.

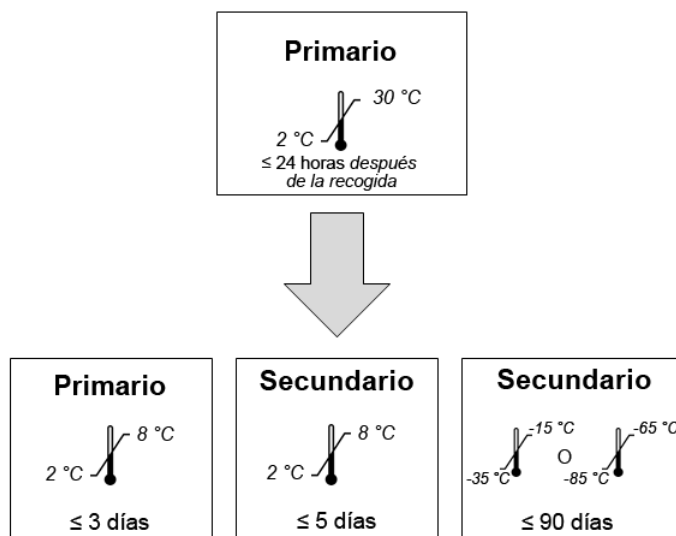


## B. Condiciones de conservación de las muestras

## 1. Muestras de plasma con EDTA y ACD

Durante las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras, los tubos primarios con plasma centrifugado pueden conservarse entre 2 °C y 30 °C (figura 1, caja superior). Pasadas 24 horas, el plasma puede conservarse durante más tiempo en una de las condiciones siguientes (figura 1, cajas inferiores):

- En el tubo de recogida primario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 3 días,
- En el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo secundario, entre -20 °C o -70 °C durante un máximo de 90 días.



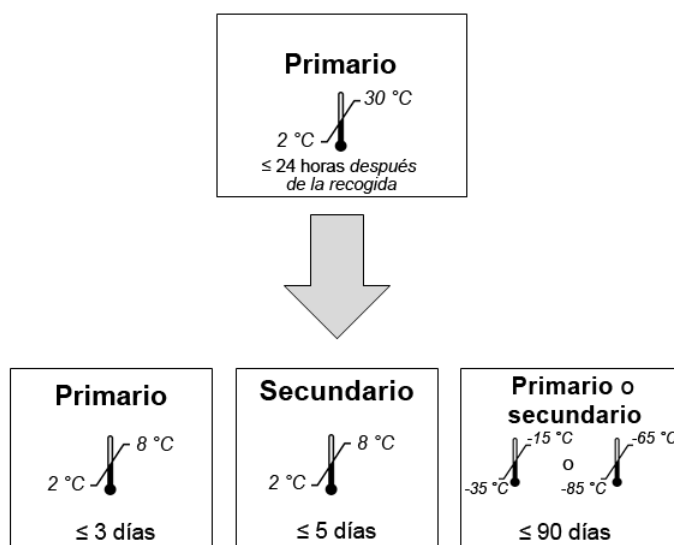
**Figura 1. Condiciones de conservación de los tubos con EDTA o ACD**

2. Muestras de PPT

Durante las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras, los PPT con plasma centrifugado pueden conservarse entre 2 °C y 30 °C (figura 2, caja superior).

Pasadas 24 horas, el plasma puede conservarse durante más tiempo en una de las condiciones siguientes (figura 2, cajas inferiores):

- En el PPT, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 3 días,
- En el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días, o
- En el PPT o en el tubo secundario, entre -20 °C o -70 °C durante un máximo de 90 días.

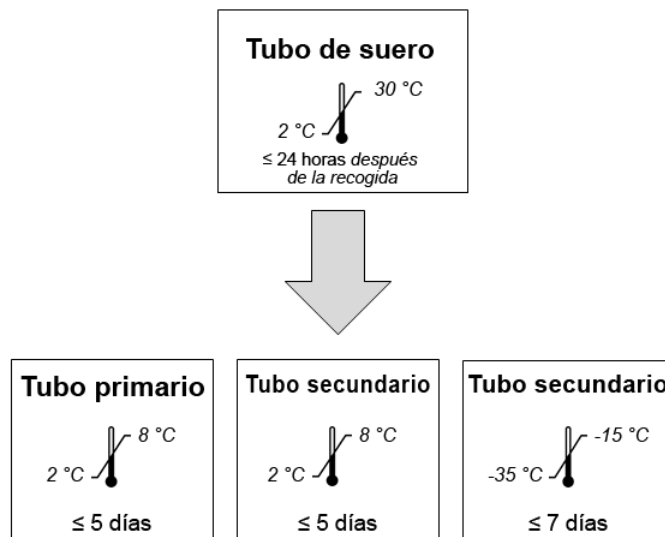


**Figura 2. Condiciones de conservación de los PPT**

### 3. Muestras en tubos de suero

Durante las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras, los tubos de suero con suero centrifugado pueden conservarse entre 2 °C y 30 °C (figura 3, caja superior). Pasadas 24 horas, el suero puede conservarse durante más tiempo en una de las condiciones siguientes (figura 3, cajas inferiores):

- En el tubo de suero, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días,
- En el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo secundario, entre -20 °C durante un máximo de 7 días.

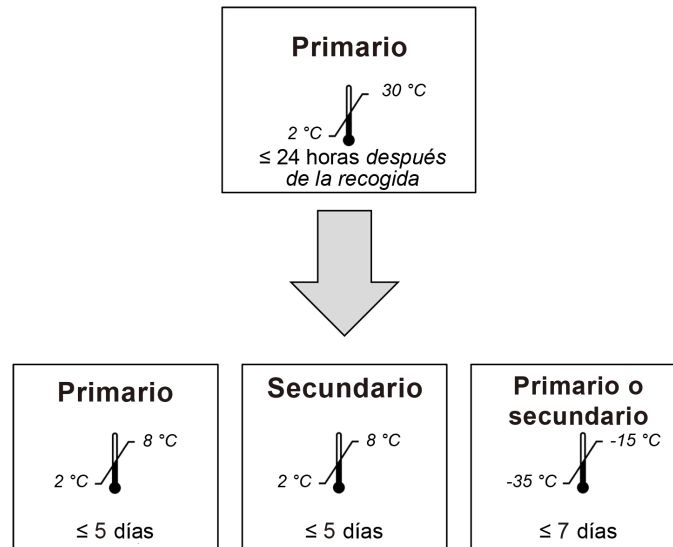


**Figura 3. Condiciones de conservación de los tubos de suero**

4. Muestras en SST

Durante las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras, los SST con suero centrifugado pueden conservarse entre 2 °C y 30 °C (figura 4, caja superior). Pasadas 24 horas, el suero puede conservarse durante más tiempo en una de las condiciones siguientes (figura 4, cajas inferiores):

- En el SST, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días,
- En el tubo secundario, entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 5 días, o
- En el tubo secundario o SST a -20 °C durante un máximo de 7 días.



**Figura 4. Condiciones de conservación de los SST**

C. Dilución de las muestras de plasma

Una muestra de plasma puede diluirse en el SAT o en un tubo secundario para su análisis en el Panther System. Consulte el *Procedimiento de la prueba en el Panther System*, paso E.6, para obtener más información.

**Nota:** Las muestras que se diluyan deberán analizarse inmediatamente después de su dilución. No congele las muestras diluidas.

⚠ La dilución de muestras de plasma sólo puede utilizarse para resultados cuantitativos. No diluya las muestras de plasma para obtener resultados del diagnóstico.

**Muestras conservadas en el Panther System**

Las muestras pueden dejarse sin tapar en el Panther System durante un máximo de 8 horas. Las muestras pueden retirarse del Panther System y analizarse siempre que el tiempo total transcurrido en el instrumento no supere las 8 horas antes de que el Panther System pipetee la muestra.

**Transporte de las muestras**

Mantenga las condiciones de conservación de las muestras como se describe en *Recogida y conservación de las muestras*.

**Nota:** Las muestras deben enviarse de acuerdo con la normativa de transporte nacional, internacionales y regionales aplicables.

## Panther System

Los reactivos del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay para uso con el Panther System se indican a continuación. Junto al nombre del reactivo se muestran también los símbolos de identificación del reactivo.

### Reactivos y materiales suministrados

*Nota: Para obtener información sobre cualquier aviso de riesgo o precaución que pueda estar asociado a los reactivos, consulte la Biblioteca de hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheet Library) en [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).*

**Kit del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay**, 100 pruebas, REF. PRD-03000 (1 caja de ensayo, 1 kit de calibrador y 1 kit de controles)

Es posible realizar el pedido de calibradores y controles por separado. Consulte los números de catálogo correspondientes a continuación.

**Caja del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay**  
(almacenar entre 2 °C y 8 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
<b>A</b>	<b>Reactivo de amplificación qHIV-1</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón.</i>	1 vial
<b>E</b>	<b>Reactivo enzimático qHIV-1</b> <i>Transcriptasa inversa y RNA polimerasa secadas en solución de tampón HEPES.</i>	1 vial
<b>PRO</b>	<b>Reactivo promotor qHIV-1</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos secados en solución de tampón.</i>	1 vial
<b>AR</b>	<b>Solución de reconstitución de amplificación qHIV-1</b> <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 7,2 ml
<b>ER</b>	<b>Solución de reconstitución enzimática qHIV-1</b> <i>Solución de tampón HEPES con surfactante y glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
<b>PROR</b>	<b>Solución de reconstitución de promotor qHIV-1</b> <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 4,5 ml
<b>TCR</b>	<b>Reactivo de captura qHIV-1</b> <i>Ácidos nucleicos en una solución salina de tampón con fase sólida, ácidos nucleicos no infecciosos y calibrador interno.</i>	1 x 72,0 ml
	<b>Collares de reconstitución</b>	3
	<b>Hoja de códigos de barras del lote maestro</b>	1 hoja

**Kit de calibrador Aptima HIV-1 Quant Dx (REF. PRD-03001)**  
(almacenar entre -15 °C y -35 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	<b>Calibrador positivo qHIV-1</b> <i>Transcrito en solución de tampón.</i>	5 x 2,5 ml
	<b>Etiqueta de código de barras del calibrador</b>	—

**Kit de controles Aptima HIV-1 Quant Dx (REF. PRD-03002)**  
(almacenar entre -15 °C y -35 °C al recibirla)

Símbolo	Componente	Cantidad
NC	<b>Control negativo qHIV-1</b> <i>Plasma humano desfibrinado negativo en HIV-1 con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	<b>Control positivo bajo qHIV-1</b> <i>Armored RNA de HIV-1 no infeccioso en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	<b>Control positivo alto qHIV-1</b> <i>Armored RNA de HIV-1 no infeccioso en plasma humano desfibrinado con gentamicina y azida sódica al 0,2 % como conservantes.</i>	5 x 1,5 ml
	<b>Etiqueta de código de barras de los controles</b>	—

**Materiales necesarios pero no suministrados**

*Nota: A menos que se indique lo contrario, los materiales comercializados por Hologic aparecen en la lista con su referencia.*

<b>Material</b>	<b>REF.</b>
Panther System	—
Kit del ciclo del Panther para ensayos en tiempo real (sólo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5000 pruebas)
<i>Kit de fluidos del Aptima Assay (también denominado Kit de fluidos universales) contiene solución de lavado Aptima, tampón para fluido de desactivación Aptima y reactivo de aceite Aptima</i>	303014 (1000 pruebas)
<i>Unidades multitubo (Multi-Tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Juego de bolsas de desechos Panther</i>	902731
<i>Tapa del «bin» de desechos Panther</i>	504405
O, Kit del ciclo del Panther System <i>(al procesar ensayos TMA no en tiempo real en paralelo con ensayos TMA en tiempo real)</i> <i>contiene MTU, bolsas para desechos, tapas para el recipiente de desechos, detección automática y fluidos del ensayo</i>	303096 (5000 pruebas)
Puntas, conductoras de 1000 µl, para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Lejía, solución de hipoclorito de sodio al 5 % - 7 % (0,7 M - 1,0 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones no perforables de repuesto	103036A
Tapas de repuesto para reactivos <i>Frascos de reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor</i> CL0041 (100 tapas) <i>Frasco de TCR</i> CL0040 (100 tapas)	
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Opciones para el tubo de recogida primario (ACD, EDTA, PPT, SST, suero): 13 mm x 100 mm — 13 mm x 75 mm — 16 mm x 100 mm —	
Centrífuga	—
Mezclador vórtex	—

## Materiales opcionales

Material	REF.
Opciones para el tubo secundario:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tubos de alícuotas de muestras Aptima (SAT) (paquete de 100)	503762
Tapa de tubo de transporte (paquete de 100) tapa para SAT	504415
Diluyente de muestras Aptima	PRD-03003
Kit de diluyente de muestras Aptima contiene diluyente de muestras, 100 SAT y 100 tapones	PRD-03478
Pipetas de transferencia	—
Paneles comerciales, por ejemplo: HIV-1 de control de calidad para diagnóstico molecular (QCMD) o Panel del estudio de carga vírica de HIV del College of American Pathologists (CAP) o Paneles de HIV SeraCare ACCURUN	—
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	—

## Procedimiento de la prueba en el Panther System

**Nota:** Consulte el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System) para obtener más información sobre los procedimientos.

### A. Preparación de la zona de trabajo

1. Limpie las superficies de trabajo donde se prepararán los reactivos. Limpie las superficies de trabajo con una solución de hipoclorito de sodio al 2,5 %-3,5 % (0,35 M-0,5 M). Deje la solución de hipoclorito de sodio en contacto con las superficies durante 1 minuto como mínimo y, a continuación, enjuague con agua desionizada (DI). No deje que la solución de hipoclorito de sodio se seque. Cubra la superficie de la mesa en la que se van a preparar los reactivos y las muestras con una cubierta absorbente con forro de plástico para mesas de laboratorio limpia.
2. Limpie una superficie de trabajo aparte para preparar las muestras. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).
3. Limpie los pipeteadores que vaya a utilizar. Utilice el procedimiento descrito más arriba (paso A.1).

### B. Preparación del calibrador y de los controles

Deje que el calibrador y los controles alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlos de la manera siguiente:

1. Saque el calibrador y los controles del almacenamiento de conservación (entre -15 °C y -35 °C) y póngalos entre 15 °C y 30 °C. Durante el proceso de descongelación, invierta suavemente cada tubo para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.



**Opción.** Los tubos del calibrador y de los controles pueden ponerse en un balancín para tubos para mezclar bien su contenido. Asegúrese de que el contenido de los tubos se descongele por completo antes de utilizarlo.

**Nota:** Evite que se cree demasiada espuma al invertir el calibrador y los controles. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.

2. Cuando el contenido de los tubos se haya descongelado, seque la parte exterior del tubo con un paño desechable limpio y seco.
3. Para evitar la contaminación, no abra los tubos.

C. Reconstitución de reactivos y preparación de un nuevo kit

**Nota:** La reconstitución de los reactivos debe llevarse a cabo antes de iniciar cualquier tarea en el Panther System.

1. Para preparar reactivo de captura (Target Capture Reagent, TCR), haga lo siguiente:

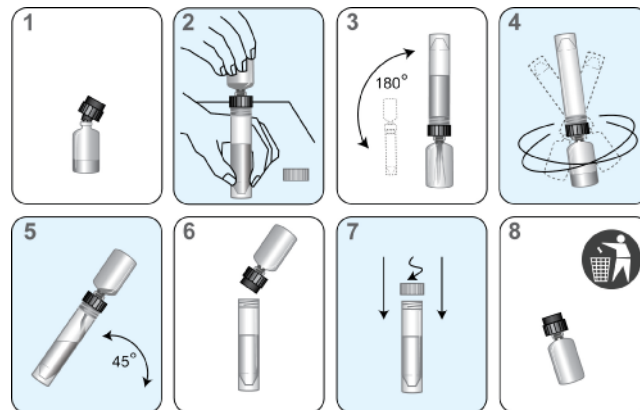
- a. Saque el TCR del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C). Asegúrese de que el número de lote del frasco de TCR coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
- b. Agite de inmediato y enérgicamente el frasco de TCR 10 veces. Deje que el frasco de TCR permanezca entre 15 °C y 30 °C para que se caliente durante un mínimo de 45 minutos. Durante este periodo, agite e invierta el frasco de TCR al menos cada 10 minutos.

**Opción.** El frasco de TCR puede prepararse en un balancín para tubos siguiendo estas instrucciones: Saque el TCR del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C) y agítelo de inmediato y enérgicamente 10 veces. Ponga el frasco de TCR en un balancín para tubos y déjelo entre 15 °C y 30 °C para que se caliente durante un mínimo de 45 minutos.

- c. Asegúrese de que todo el precipitado esté en la solución y que las partículas magnéticas estén suspendidas antes del uso.
2. Para reconstituir los reactivos de amplificación, enzimático y promotor, haga lo siguiente:
    - a. Saque los reactivos liofilizados y las soluciones de reconstitución correspondientes del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C). Empareje cada solución de reconstitución con el reactivo liofilizado correspondiente.
    - b. Asegúrese de que las etiquetas de los frascos de la solución de reconstitución y del reactivo liofilizado sean del mismo color. Compruebe los números de lote en la hoja de códigos de barras del lote maestro para asegurarse de que está emparejando los reactivos adecuados.
      - i. Abra el vial de reactivo liofilizado retirando el precinto metálico y el tapón de goma.
      - ii. Inserte firmemente el extremo con muesca del collar de reconstitución (negro) en el vial (figura 5, paso 1).
      - iii. Abra el frasco de solución de reconstitución correspondiente y deje el tapón sobre una superficie de trabajo limpia y cubierta.
      - iv. Ponga el frasco de solución de reconstitución sobre una superficie estable (p. ej., un banco). A continuación, invierta el frasco de reactivo liofilizado sobre el frasco de solución de reconstitución y acople firmemente el collar en el frasco de solución de reconstitución (figura 5, paso 2).
      - v. Invierta lentamente los frascos acoplados (el vial acoplado al frasco de solución) para permitir que la solución pase al vial de cristal (figura 5, paso 3).

- vi. Agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos (figura 5, paso 4).
- vii. Espere al menos 30 minutos para que el reactivo liofilizado entre en la solución.
- viii. Una vez que el reactivo liofilizado haya entrado en la solución, agite los frascos acoplados durante un mínimo de 10 segundos y, a continuación, balancee ligeramente la solución del interior del frasco de cristal hacia delante y hacia atrás para mezclarla bien.
- c. Inclíne lentamente de nuevo los frascos acoplados para hacer que toda la solución vuelva al frasco de solución de reconstitución (figura 5, paso 5).
- d. Retire con cuidado el collar de reconstitución y el frasco de cristal (figura 5, paso 6).
- e. Vuelva a tapar el frasco. Registre las iniciales del usuario y la fecha de reconstitución en la etiqueta (figura 5, paso 7).
- f. Deseche el collar de reconstitución y el frasco de cristal (figura 5, paso 8).

**Advertencia:** Evite que se forme demasiada espuma al reconstituir los reactivos. La espuma afecta a la detección del nivel en el Panther System.



**Figura 5. Proceso de reconstitución de los reactivos**

#### D. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos

1. Saque los reactivos previamente preparados del almacenamiento de conservación (entre 2 °C y 8 °C).
2. Los reactivos de amplificación, enzimático, promotor y TCR previamente preparados deben alcanzar una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes del inicio del ensayo.
3. En el caso del TCR previamente preparado, lleve a cabo el paso C.1 descrito más arriba antes de cargarlo en el sistema.
4. Agite e invierta los reactivos de amplificación, enzimático y promotor para mezclarlos bien antes de cargarlos en el sistema. Evite que se forme demasiada espuma al invertir los reactivos.
5. No rellene los frascos de reactivos que contengan aún líquido. El Panther System reconocerá y rechazará las botellas que se hayan rellenado.

#### E. Manipulación de muestras

1. Asegúrese de que las muestras procesadas en los tubos primarios o las muestras sin diluir en los tubos secundarios se hayan conservado correctamente de acuerdo con Recogida y conservación de las muestras en la página 8.

2. Asegúrese de descongelar por completo las muestras congeladas. Agite con un mezclador vórtex las muestras descongeladas de 3 a 5 segundos para mezclarlas bien.
3. Deje que las muestras alcancen una temperatura de entre 15 °C y 30 °C antes de su procesamiento. Consulte *Muestras conservadas en el Panther System* para obtener más información sobre la conservación en el instrumento.
4. Asegúrese de que cada tubo de recogida contenga hasta 1200 µl de muestra o de que cada SAT contenga al menos 700 µl de muestra. Consulte la tabla que se proporciona en *Recogida de las muestras* en la página 8 para identificar los requisitos de volumen muerto para cada tipo de tubo primario y secundario. Si es necesario diluir las muestras, consulte el paso E.6 descrito más abajo para obtener más información.
5. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla, centrifugue cada muestra entre 1000 y 3000 g durante 10 minutos. No retire las tapas. La presencia de burbujas en el tubo puede afectar a la detección del nivel por parte del Panther System.

Consulte *Preparación del sistema*, paso F.2, para obtener información sobre la carga de la gradilla y la retirada de las tapas.

6. Diluya una muestra de plasma en la proporción 1:3 en un SAT o 1:100 en un tubo secundario.

Las muestras de plasma pueden diluirse en un tubo secundario para su análisis en el Panther System.

- ⚠ La dilución de muestras de plasma solamente puede utilizarse para obtener resultados cuantitativos. No diluya muestras de plasma para obtener resultados diagnósticos.

**Nota:** Las muestras que se diluyan deberán analizarse inmediatamente después de su dilución.

- a. Dilución de muestras de bajo volumen

El volumen de las muestras de plasma puede aumentarse hasta el volumen mínimo requerido (700 µl) utilizando el diluyente de muestras Aptima. Las muestras con un mínimo de 240 µl de plasma pueden diluirse con dos partes de diluyente de muestras (1:3) de la manera siguiente:

- i. Vierta 240 µl de muestra en el SAT.
- ii. Añada 480 µl de diluyente de muestras Aptima.
- iii. Tape el tubo.
- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

Las muestras diluidas 1:3 pueden analizarse utilizando la opción 1:3 del Panther System (consulte el *Panther System Operator's Manual* [Manual del usuario del Panther System] para obtener más información). El software indicará automáticamente el resultado correspondiente a la muestra sin diluir aplicando el factor de dilución. Estas muestras se marcarán como muestras diluidas.

- b. Dilución de muestras de altos títulos

Si el resultado de una muestra está por encima del límite superior de cuantificación, puede diluirse con 99 partes de diluyente de muestras Aptima (1:100) de la manera siguiente:

- i. Vierta 30 µl de muestra en un SAT o en un tubo secundario.
- ii. Añada 2970 µl de diluyente de muestras Aptima.

- iii. Tape el tubo.
- iv. Invierta suavemente 5 veces para mezclar el contenido.

Las muestras diluidas 1:100 pueden analizarse utilizando la opción 1:100 del Panther System (consulte el *Panther System Operator's Manual* [Manual del usuario del Panther System] para obtener más información). El software indicará automáticamente el resultado correspondiente a la muestra sin diluir aplicando el factor de dilución. Estas muestras se marcarán como muestras diluidas.

**Nota:** Para las muestras diluidas con concentraciones sin diluir superiores al LSDC, los resultados se emitirán con notación científica.

#### F. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema siguiendo las instrucciones del *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System) y las *Notas sobre el procedimiento*. Asegúrese de utilizar gradillas de reactivos y adaptadores para TCR del tamaño adecuado.

2. Cargue las muestras en la gradilla de muestras. Lleve a cabo los pasos siguientes para cada tubo de muestra (muestra y, cuando sea necesario, calibrador y controles):

- a. Afloje la tapa de un tubo de muestras, pero no la retire aún.

**Nota:** Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles. Afloje suavemente las tapas de los tubos de muestras.

- b. Cargue el tubo de la muestra en la gradilla de muestras.
- c. Repita los pasos 2.a y 2.b para cada muestra restante.
- d. Una vez cargadas las muestras en la gradilla de muestras, retire y deseche las tapas de todos los tubos de muestras de una gradilla de muestras. Para evitar la contaminación, no pase ninguna tapa sobre otras gradillas de muestras o tubos de muestras.
- e. Si es necesario, utilice una pipeta de transferencia desechable nueva para eliminar las burbujas y la espuma.
- f. Cuando haya retirado el último tapón, cargue la gradilla de muestras en un compartimento de muestras.

**Nota:** Antes de cargar la gradilla de muestras en un compartimento de muestras, fije el retén de las muestras si está procesando otros ensayos y tipos de muestras al mismo tiempo.

- g. Repita los pasos del 2.a al 2.f con la gradilla de muestras siguiente.

### Notas sobre el procedimiento

#### A. Calibrador y controles

1. Los tubos de calibrador positivo qHIV-1, control positivo bajo qHIV-1, control positivo alto qHIV-1 y control negativo qHIV-1 pueden cargarse en cualquier posición de la gradilla de muestras y en cualquier carril del compartimento de muestras del Panther System. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos condiciones siguientes:
  - a. El sistema está procesando actualmente el calibrador y los controles.
  - b. Se registran resultados válidos para el calibrador y los controles en el sistema.

2. Una vez que los tubos de calibrador y controles se hayan pipeteado y estén procesándose para el kit de reactivos del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, las muestras podrán analizarse con el kit reconstituido asociado durante un periodo máximo de 24 horas **a menos que:**
    - a. Los resultados del calibrador o los controles no sean válidos.
    - b. Se retire del sistema el kit de reactivos del ensayo asociado.
    - c. El kit de reactivos del ensayo asociado haya sobrepasado los límites de estabilidad.
  3. El calibrador y cada tubo de control se puede utilizar una vez. Los intentos de utilizar el tubo más de una vez pueden dar lugar a errores de procesamiento.
- B. Talco en los guantes
- Al igual que en cualquier otro sistema de reactivos, el exceso de talco de algunos guantes puede contaminar los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin talco.

## **Control de calidad**

Los usuarios pueden invalidar resultados de ciclos o muestras si observan y documentan dificultades técnicas o relacionadas con el usuario o el instrumento durante la realización del ensayo. En este caso, es necesario volver a analizar las muestras.

### **Calibración del ensayo**

Para generar resultados válidos, el ensayo debe calibrarse. Se procesa por triplicado un único calibrador positivo cada vez que se carga un kit de reactivos en el Panther System. Una vez que se ha establecido la calibración, tendrá una validez de hasta 24 horas. El software del Panther System avisa al usuario cuando hay que realizar una calibración. El usuario escanea un coeficiente de calibración en la hoja de códigos de barras del lote maestro incluida en cada kit de reactivos.

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación del calibrador. Si son válidas menos de dos de las réplicas del calibrador, el software invalida automáticamente el ciclo. Las muestras de un ciclo invalidado se pueden volver a analizar utilizando un calibrador recién preparado y controles recién preparados.

### **Controles negativo y positivo**

Para generar resultados válidos, debe analizarse un conjunto de controles del ensayo. Se deben analizar una réplica del control negativo, una del control positivo bajo y una del control positivo alto cada vez que se carga un kit de reactivos en el Panther System. Una vez que se han establecido los controles, tendrán una validez de hasta 24 horas. El software del Panther System avisa al usuario cuando se requieren controles.

Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación de los controles. Para generar resultados válidos, el control negativo debe dar un resultado de «No detectado» y los resultados de los controles positivos deben estar dentro de unos parámetros predefinidos. Si cualquiera de los controles tiene un resultado no válido, el software invalida automáticamente el ciclo. Las muestras de un ciclo invalidado se pueden volver a analizar utilizando un calibrador recién preparado y controles recién preparados.

### **Calibrador interno/control interno**

Cada muestra contiene un calibrador interno/control interno (Internal Control, IC). Durante el procesamiento, el software del Panther System verifica automáticamente los criterios de aceptación del IC. Si el resultado del IC no es válido, el resultado de la muestra se invalida. Todas las muestras con un resultado de IC no válido se deberán volver a analizar para obtener un resultado válido.

El software del Panther System se ha diseñado para verificar con precisión los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y el *Panther System Operator's Manual* (Manual del usuario del Panther System).

## Interpretación de los resultados

**Nota:** Los resultados cuantitativos del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se han evaluado con plasma. El suero no puede utilizarse para obtener resultados cuantitativos. Los resultados cualitativos se han evaluado tanto con plasma como con suero.

El Panther System determina automáticamente la concentración de RNA de HIV-1 en muestras y controles comparando los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de RNA de HIV-1 se notifican en copias/ml y  $\log_{10}$  copias/ml. La interpretación de los resultados se indica en la tabla 1. Si se utiliza la dilución 1:3 o 1:100 para las muestras diluidas, el Panther System calcula automáticamente la concentración de HIV-1 correspondiente a la muestra sin diluir, multiplicando la concentración diluida por el factor de dilución. Las muestras diluidas se indican como diluidas.

**Nota:** En el caso de las muestras diluidas, los resultados indicados como «No detectado» o «<30 detectados» pueden generarse diluyendo una muestra con una de las concentraciones indicadas más arriba, pero cercana al LDD (límite de detección) o al LIDC (límite inferior de cuantificación). Si no se obtiene un resultado cuantitativo, se recomienda recoger y analizar otra muestra sin diluir.

El Panther System no ofrece un resultado cualitativo (esto es, «reactivo» o «no reactivo») para uso diagnóstico. El usuario debe interpretar la concentración de RNA de HIV-1 notificada para generar un resultado cualitativo (tabla 1). Las muestras con resultados indicados de «no detectado» son no reactivas para RNA de HIV-1. Las muestras con resultados de «<30 detectados» o las muestras con resultados dentro del rango lineal indican que se detectó RNA de HIV-1 y, por lo tanto, las muestras son reactivas para RNA de HIV-1.

Tabla 1: Interpretación de los resultados

Resultado notificado del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay		Interpretación de las concentraciones de RNA de HIV-1	Interpretación cualitativa diagnóstica del usuario <sup>e</sup>
Copias/ml <sup>a</sup>	Valor <sup>b</sup> $\log_{10}$		
No detectado	No detectado	RNA de HIV-1 no detectado.	No reactivo para RNA de HIV-1
<30 detectados <sup>e</sup>	<1,47	Se detecta RNA de HIV-1, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC).	Reactivo para RNA de HIV-1
De 30 a 10.000.000	de 1,47 a 7,00	La concentración de RNA de HIV-1 está dentro del rango lineal de 30 a 10.000.000 copias/ml.	Reactivo para RNA de HIV-1
>10.000.000	>7,00	La concentración de RNA de HIV-1 está por encima del límite superior de cuantificación (LSDC).	Reactivo para RNA de HIV-1
No válido <sup>d</sup>	No válido <sup>d</sup>	Hubo un error en la generación del resultado. Hay que volver a analizar la muestra.	No válido

<sup>a</sup> Para convertir copias en unidades internacionales (UI), el factor de conversión correspondiente al Tercer Patrón Internacional para RNA de HIV-1 (10/152) es de 0,35 copias/UI.

<sup>b</sup> El valor se muestra con dos dígitos decimales.

<sup>c</sup> Se puede hacer una interpretación diagnóstica a partir de muestras no diluidas de suero o plasma.

<sup>d</sup> Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

<sup>e</sup> El valor mínimo que puede notificar el software es de 30 copias/ml. El límite de detección más alto del ensayo es de 17,5 copias/ml para el subtipo G. Si desea ver los valores de límite de detección de todos los subtipos, consulte la Tabla 3. El límite de detección utilizando la 3ª norma internacional de la OMS (subtipo B) para el RNA de HIV-1 es 12,1 copias/ml (consulte la Tabla 2).

**Limitaciones**

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal capacitado en el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones de este prospecto puede dar lugar a resultados erróneos.
- B. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, la conservación y el procesamiento de las muestras.
- C. Este ensayo se ha validado para utilizarse como ensayo cuantitativo únicamente con plasma humano.
- D. Este ensayo se ha validado para utilizarse como ensayo cualitativo con plasma y suero humanos.
- E. Aunque infrecuentes, las mutaciones producidas dentro de las regiones altamente conservadas del genoma vírico cubierto por los primers o por las sondas en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay pueden producir una infracuantificación del virus o una incapacidad para detectarlo.



**Eficacia****Límite de detección (LDD) utilizando el Tercer Estándar Internacional para HIV-1 de la OMS**

El límite de detección (LDD) se define como la concentración de RNA de HIV-1 que se detecta con una probabilidad de 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI (39). El LDD se determinó analizando paneles compuestos por diluciones del Tercer Patrón Internacional para HIV-1 de la OMS (subtipo B, código NIBSC: 10/152) en plasma negativo para HIV-1. Se procesaron 30 réplicas de cada dilución en tres sistemas Panther System utilizando tres lotes de reactivos, con un total de 90 réplicas por cada dilución. Según el documento EP17-A2 del CLSI, los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección predicho se definen como LDD y se muestran en la tabla 2. Mediante análisis probit, el LDD del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay es de 12 copias/ml (35 UI/ml; 0,35 copias = 1 UI).

*Tabla 2: Límite de detección del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay utilizando el Tercer Patrón Internacional para HIV-1 de la OMS*

Límite de detección predicho	Concentración (copias/ml)
10%	1,2
20%	1,6
30%	2,0
40%	2,5
50%	3,1
60%	3,8
70%	4,8
80%	6,2
90%	9,0
95%	12,1

### Límite de detección en distintos subtipos y grupos de HIV-1

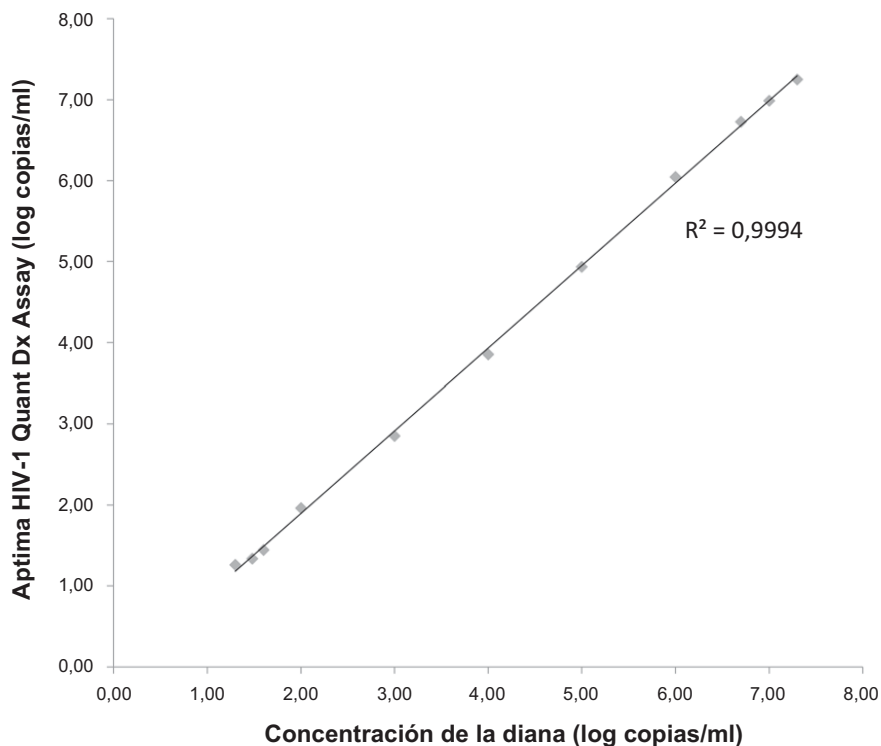
Para los grupos M (subtipos A, C, D, F, G, CRF01\_AE y CRF02\_AG), N y O de HIV-1, se crearon siete paneles añadiendo virus HIV-1 cultivado o muestras clínicas positivas a plasma humano negativo para HIV-1 (de 0 a 40 copias/ml). Cada muestra del panel se analizó en 30 réplicas con dos lotes de reactivos, con un total de 60 réplicas por muestra del panel. La asignación de la concentración correspondiente a muestras clínicas o estirpes de virus cultivadas se determinó utilizando un ensayo comparativo. Se realizó un análisis probit para generar límites de detección del 50 % y del 95 %. Según el documento EP17-A2 del CLSI (39), los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección predicho se definen como LDD y se muestran en la tabla 3.

Tabla 3: Límite de detección en distintos subtipos y grupos de HIV-1

Subtipo/grupo	Límite de detección predicho	Concentración (copias/ml)
A	50 %	3,0
	95 %	12,3
CRF01_AE	50 %	1,8
	95 %	6,2
CRF02_AG	50 %	3,4
	95 %	15,4
C	50 %	2,0
	95 %	10,7
D	50 %	3,7
	95 %	14,0
F	50 %	2,1
	95 %	8,3
G	50 %	3,1
	95 %	17,5
N	50 %	1,2
	95 %	7,8
O	50 %	1,8
	95 %	8,0

## Rango lineal

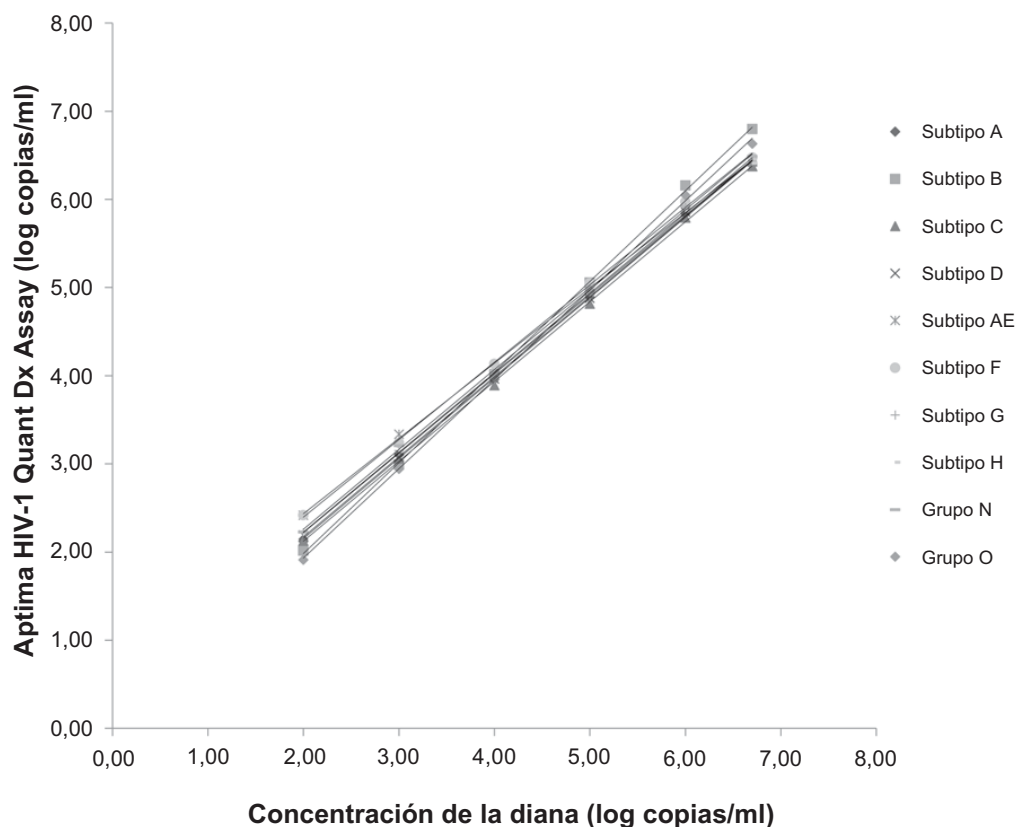
El rango lineal del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se estableció analizando paneles compuestos por virus HIV-1 subtipo B cultivado y diluido en plasma humano negativo para HIV-1 según el documento EP06-A del CLSI (40). Las concentraciones de los paneles fueron de 1,30 a 7,30 log copias/ml. Los análisis se realizaron en siete sistemas Panther System con dos lotes de reactivos del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Como se muestra en la figura 6, el Aptima Quant Dx Assay demostró ser lineal en el rango comprobado.



**Figura 6. Linealidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay**

### Linealidad en distintos subtipos y grupos de HIV-1

La respuesta lineal del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en los grupos M (subtipos A, B, C, D, F, G, H y CRF01\_AE), N y O se confirmó analizando paneles compuestos por transcrito de HIV-1 diluido en tampón a concentraciones de entre 2,00 y 6,70 log copias/ml. Los análisis se realizaron en cuatro sistemas Panther System y en seis ciclos. Se observó linealidad en el rango comprobado (figura 7).



**Figura 7. Linealidad en los grupos M (subtipos A, B, C, D, F, G, H y CRF01\_AE), N y O**

### Límite inferior de cuantificación (LIDC) utilizando el Tercer Estándar Internacional para HIV-1 de la OMS

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja a la que se cuantifica el RNA de HIV-1 de manera fiable dentro de un margen total de error (TE), de acuerdo con el documento EP17-A2 del CLSI (39). El TE se calculó a través del modelo Westgard ( $TE = |\text{sesgo}| + 2DE$ ). Para asegurar la exactitud y la precisión de las mediciones, el TE del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se estableció a 1 log copias/ml (esto es, al LIDC, la diferencia entre dos mediciones de más de 1 log copias/ml es estadísticamente significativa).

El LIDC se determinó analizando paneles compuestos por diluciones del Tercer Patrón Internacional para HIV-1 de la OMS (subtipo B, código NIBSC: 10/152) en plasma negativo para HIV-1. Según el documento EP17-A2 del CLSI, los paneles se analizaron con tres lotes de reactivos en réplicas de 30 para cada lote en 23 ciclos. Los resultados se muestran en la tabla 4. El LIDC más alto de los tres lotes analizados en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay utilizando el Tercer Estándar Internacional de la OMS es de 15 copias/ml (1,17 log copias/ml) (tabla 5).

Tabla 4: Determinación del LIDC del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay utilizando el Tercer Patrón Internacional para HIV-1 de la OMS

Lote de reactivos	Concentración diana (log copias/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx Assay (log copias/ml)	DE (log copias/ml)	Sesgo  (log copias/ml)	TE calculado (log copias/ml)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

DE = desviación estándar

Tabla 5: Resumen de LIDC utilizando el Tercer Patrón Internacional para HIV-1 de la OMS (3 lotes de reactivos)

Lote de reactivos	LIDC (log copias/ml)	LIDC (copias/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

### Verificación del LIDC en distintos subtipos y grupos de HIV-1

Se verificó el LIDC en distintos subtipos y grupos de HIV-1 siguiendo el documento EP17-A2 del CLSI (39). Se elaboraron paneles para cada uno de los grupos M (subtipos A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE y CRF02\_AG), N y O de HIV-1 añadiendo muestras clínicas infectadas naturalmente o aislados clínicos a plasma humano combinado negativo para HIV-1. Los análisis consistieron en un total de 30 réplicas por muestra del panel. Los datos de la tabla 6 muestran la concentración más baja de cada subtipo o grupo a la que el TE fue inferior a 1 log copias/ml. El LIDC más alto de todos los subtipos y grupos analizados fue de 30 copias/ml; por lo que este valor más alto se seleccionó como LIDC del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabla 6: Verificación del LIDC por subtipo o grupo de HIV-1

Panel	LIDC (copias/ml)
Subtipo A	30
Subtipo CRF01_AE	10
Subtipo CRF02_AG	30
Subtipo B	10
Subtipo C	30
Subtipo D	15
Subtipo F	15
Subtipo G	30
Grupo N	10
Grupo O	15

## Precisión

Para evaluar la precisión del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, se elaboró un panel añadiendo virus HIV-1 subtipo B cultivado a plasma negativo para HIV-1, tras lo que tres usuarios analizaron dicho panel utilizando tres lotes de reactivos en tres sistemas Panther System durante 20 días (tabla 7). El panel estaba compuesto por una muestra del panel negativa para HIV-1 y ocho muestras del panel positivas para HIV-1. La asignación de la concentración correspondiente a muestras clínicas o estirpes de virus cultivadas se determinó utilizando un ensayo comparativo.

Tabla 7: Precisión del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Número de réplicas válidas	Concentración media (log copias/ml)	Entre instrumentos		Entre usuarios		Entre lotes		Entre ciclos		Intraciclo		Total	
		DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)	DE	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 <sup>a</sup>	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = coeficiente de variación, DE = desviación estándar

<sup>a</sup> Esta muestra del panel se diluyó 1:3 con diluyente de muestras y se analizó para evaluar la precisión de la muestra diluida.

**Nota:** La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa; esto puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, DE = 0 y CV = 0 %. El número total de réplicas analizadas fue de 162 por cada panel; solamente se analizaron réplicas con un valor numérico.

### Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a las interferencias causadas por altos niveles de sustancias endógenas y por medicamentos que se suelen recetar a las personas infectadas por HIV-1. Se analizaron muestras de plasma humano negativo para HIV-1 y muestras enriquecidas hasta obtener una concentración de 3 log copias/ml de RNA de HIV-1.

No se observaron interferencias en la eficacia del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en presencia de albúmina (90 mg/ml), hemoglobina (5 mg/ml), triglicéridos (30 mg/ml) o bilirrubina no conjugada (0,2 mg/ml).

No se observaron interferencias en la eficacia del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en presencia de las sustancias exógenas indicadas en la tabla 8 a concentraciones de al menos tres veces la  $C_{máx}$  (plasma humano).

Tabla 8: Sustancias exógenas

Combinado de sustancias exógenas	Sustancias exógenas comprobadas
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesilato, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapina, efavirenz, rilpivirina, claritromicina, anfotericina B
3	Tenofovir disoproxilo fumarato, adefovir dipivoxilo, ribavirina, enfuvirtida, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abacavir sulfato, didanosina, zidovudina, lamivudina, estavudina, entecavir, telbivudina, emtricitabina
5	Paroxetina HCl, fluoxetina, sertralina
6	Ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, rifampicina, etambutol
7	Ciprofloxacina, azitromicina, amoxicilina, cafealexina, ampicilina, trimetoprima
8	Valganciclovir hidrocloreuro, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Interferón pegilado alfa-2b, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b
10	Heparina, EDTA, citrato sódico
11	Tipranavir
12	Isoniazida



Las muestras clínicas de plasma indicadas en la tabla 9, de pacientes con altos niveles de sustancias definidas o de pacientes con las enfermedades indicadas, se analizaron con el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en presencia y en ausencia de 3 log copias de RNA de HIV-1. No se observó ninguna interferencia en la eficacia.

Tabla 9: Tipos de muestras clínicas analizadas

<b>Tipos de muestras clínicas</b>	
<b>1</b>	Factor reumatoide (FR)
<b>2</b>	Anticuerpo antinuclear (ANA)
<b>3</b>	Anticuerpo anti-Jo-1 (JO-1)
<b>4</b>	Lupus sistémico eritematoso (LSE)
<b>5</b>	Artritis reumatoide (AR)
<b>6</b>	Esclerosis múltiple (EM)
<b>7</b>	Hiperglobulinemia
<b>8</b>	Alanina aminotransferasa elevada (ALT)
<b>9</b>	Cirrosis alcohólica (CA)
<b>10</b>	Mieloma múltiple (MM)
<b>11</b>	Lipémico (lípido elevado)
<b>12</b>	Ictérico (bilirrubina elevada)
<b>13</b>	Hemolizado (hemoglobina elevada)
<b>14</b>	Proteína albúmina elevada
<b>15</b>	Anticuerpos anti-HCV
<b>16</b>	Anticuerpos anti-HBV
<b>17</b>	Anticuerpos anti-HIV-2

## Especificidad

La especificidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se determinó utilizando muestras de plasma negativo para HIV-1, 120 recientes y 510 congeladas, y muestras de suero negativo para HIV-1, 120 recientes y 510 congeladas. Todos los resultados fueron no reactivos (especificidad del 100 %; IC del 95 %: 99,4-100 %).

Tabla 10: Especificidad en muestras clínicas de suero y plasma

	Plasma reciente	Plasma congelado	Total del plasma	Suero reciente	Suero congelado	Total del suero
<b>Réplicas válidas (n)</b>	120	510	630	120	510	630
<b>No reactivo</b>	120	510	630	120	510	630
<b>% de especificidad (IC del 95 %)</b>	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)

IC = Intervalo de confianza

## Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada con patógenos (tabla 11) se evaluó en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay en presencia o en ausencia de 3 log copias/ml de RNA de HIV-1 en plasma negativo para HIV-1. No se observó ninguna interferencia en la eficacia del ensayo en presencia de los patógenos.

Tabla 11: Patógenos comprobados para determinar la especificidad analítica

Patógeno	Concentración
<b>Virus de la hepatitis A</b>	100.000 UFP/ml <sup>a</sup>
<b>Virus de la hepatitis B</b>	100.000 UI/ml <sup>b</sup>
<b>Virus de la hepatitis C</b>	100.000 UI/ml
<b>Virus de la hepatitis G</b>	100.000 copias/ml
<b>Virus del herpes simple 1 (HSV-1)</b>	100.000 UFP/ml
<b>Virus del herpes simple 2 (HSV-2)</b>	75.000 UFP/ml
<b>Virus del herpes humano 6</b>	100.000 copias/ml
<b>Virus del herpes humano 8</b>	42.000 UFP/ml
<b>HIV-2</b>	5.500 UFP/ml
<b>Virus linfotrópico de células T humano (HTLV)</b>	100.000 pv/ml <sup>c</sup>
<b>Virus del Nilo occidental</b>	100.000 copias/ml
<b>Parvovirus B19</b>	100.000 UI/ml
<b>Citomegalovirus</b>	100.000 copias/ml
<b>Virus de Epstein-Barr</b>	100.000 copias/ml
<b>Adenovirus tipo 5</b>	100.000 UFP/ml
<b>Virus del dengue</b>	100.000 copias/ml
<b>Virus de la gripe A</b>	100.000 UFP/ml
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	1.000.000 UFC/ml <sup>d</sup>
<b><i>Propionibacterium acnes</i></b>	1.000.000 UFC/ml
<b><i>Staphylococcus epidermidis</i></b>	1.000.000 UFC/ml
<b><i>Neisseria gonorrhoeae</i></b>	1.000.000 UFC/ml
<b><i>Chlamydia trachomatis</i></b>	300.000 UFI/ml <sup>e</sup>
<b><i>Candida albicans</i></b>	1.000.000 UFC/ml

<sup>a</sup> UFP/ml = unidades formadoras de placa por ml.

<sup>b</sup> UI/ml = unidades internacionales por ml.

<sup>c</sup> pv/ml = partículas víricas por ml.

<sup>d</sup> UFC/ml = unidades formadoras de colonias por ml.

<sup>e</sup> UFI/ml = unidades formadoras de inclusión por ml.

**Repetibilidad de las muestras clínicas**

Se analizaron diez muestras clínicas de plasma en tres réplicas utilizando el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. La concentración media y la desviación estándar se muestran en la tabla 12.

Tabla 12: Repetibilidad de las muestras clínicas

Muestra	Concentración media (log copias/ml)	DE
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00

### Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras

Para evaluar la dilución de muestras, se utilizó un panel compuesto por 11 muestras con concentraciones que abarcaban el rango lineal del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y que incluían dos muestras por encima del límite superior de cuantificación del ensayo; dichas muestras se analizaron sin diluir y diluidas (1:3 o 1:100 en diluyente de muestras) por triplicado (tabla 13).

Tabla 13: Dilución de las muestras

Dilución	Concentración media sin diluir (log copias/ml)	Concentración media notificada <sup>a</sup> (log copias/ml)	Diferencia
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 <sup>b</sup>	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 <sup>c</sup> )	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 <sup>c</sup> ) <sup>b</sup>	7,39	-0,01

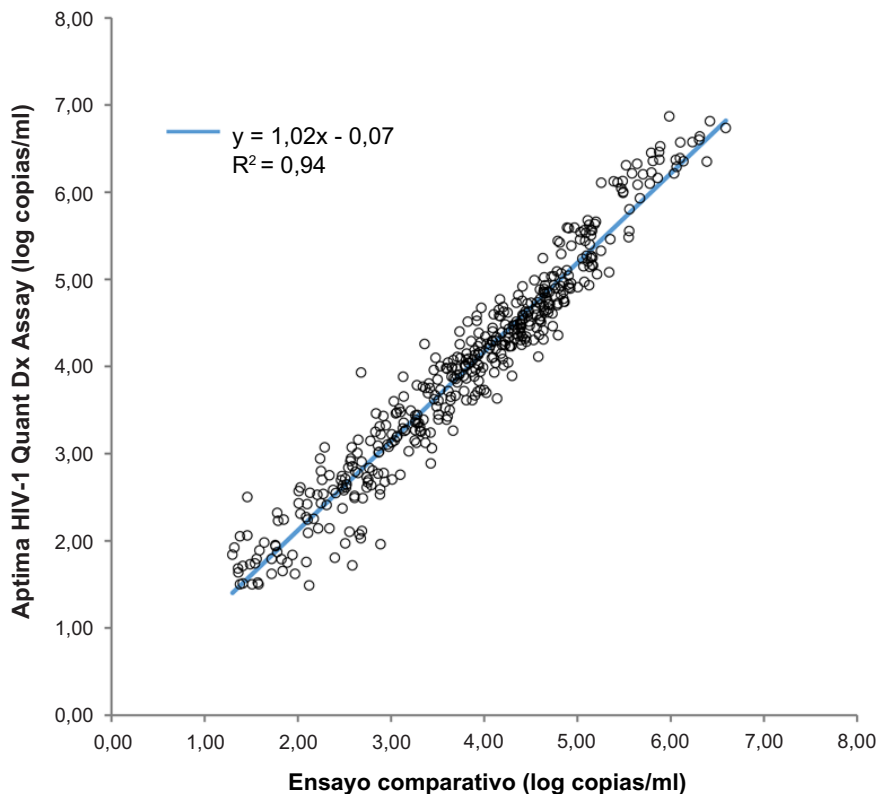
<sup>a</sup> La concentración notificada es el valor que ha calculado el Panther system después de aplicar el factor de dilución.

<sup>b</sup> Muestra con aditivo.

<sup>c</sup> Todos los resultados >7,00 log copias/ml se calcularon utilizando un análisis adicional.

## Correlación de métodos

La eficacia del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se evaluó contrastando sus resultados con los de un ensayo comparativo con marca CE, para lo que se analizaron muestras clínicas de plasma sin diluir de pacientes infectados por el HIV-1 en cuatro sistemas Panther System con dos lotes de reactivos. Para la regresión lineal se utilizó un total de 342 muestras de plasma congelado y 108 de plasma reciente con resultados cuantificables tanto en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay como en el ensayo comparativo (figura 8). Las muestras incluyeron muestras de HIV-1 de grupo M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE y CRF02\_AG).



**Figura 8. Correlación entre el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y el ensayo comparativo**

## Acuerdo diagnóstico

Para evaluar el acuerdo diagnóstico, se analizaron muestras de personas positivas para HIV-1 utilizando el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y un ensayo cualitativo de HIV-1 con marca CE comparativo: 414 muestras obtuvieron resultados válidos (tabla 14). Los resultados de ambos ensayos se categorizaron de la manera siguiente. Todos los resultados que arrojaron un resultado cuantificable o detectable se categorizaron como «Detectado». Todos los resultados de diana no detectada se categorizaron como «Diana no detectada».

**Tabla 14: Acuerdo diagnóstico entre el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y el ensayo comparativo**

		Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	
		Detectado	Diana no detectada
Ensayo comparativo	Detectado	214	0
	Diana no detectada	0	200

## Contaminación por arrastre

Para demostrar que el Panther System reduce al mínimo el riesgo de obtener resultados positivos falsos debidos a la contaminación por arrastre, se realizó un estudio analítico multiciclo utilizando paneles de muestras con aditivos en dos sistemas Panther System. La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras enriquecidas con HIV-1 de título alto (7 log copias/ml) entremezcladas con muestras negativas para HIV-1 en un patrón de tablero de ajedrez. Las pruebas se realizaron en cinco ciclos. La tasa global de contaminación por arrastre fue del 0 % (n = 469).

## Panel de seroconversión

Se utilizó el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay para analizar 19 conjuntos de paneles de seroconversión de HIV-1, compuestos por 204 muestras. La detección del RNA de HIV-1 se comparó con la detección con pruebas de antígeno p24 y con pruebas de anticuerpos anti-HIV-1/2. El número de días hasta el primer resultado reactivo utilizando las pruebas de antígeno p24, las pruebas de anticuerpos anti-HIV-1/2, y el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se indica en la tabla 15. El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay detectó RNA de HIV-1 una media de 5,58 y 11,16 días antes que las pruebas de antígeno p24 y de anticuerpos anti-HIV-1/2.

Tabla 15: Resumen de los datos del panel de seroconversión

Identificación del panel	Número de muestras analizadas del panel	Número de muestras reactivas del panel			Días hasta el primer resultado reactivo			Diferencia en días con el primer resultado reactivo (sobre la base de la fecha de la obtención de la muestra)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	Antígeno p24 de HIV	Anticuerpos anti-HIV-1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	Antígeno p24 de HIV	Anticuerpos anti-HIV-1/2	Días de detección anterior al antígeno p24 de HIV	Días de detección anterior a los anticuerpos anti-HIV-1/2
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 <sup>a</sup>	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 <sup>a</sup>	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 <sup>a</sup>	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 <sup>a</sup>	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 <sup>b</sup>	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 <sup>b</sup>	5	3	1	0	7	14	14 <sup>a</sup>	7	7
PRB978 <sup>b</sup>	7	3	1	0	26	33	33 <sup>a</sup>	7	7
<b>Total</b>	<b>204</b>	<b>82</b>	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>Media</b>			<b>5,58</b>	<b>11,16</b>
					<b>Mediana</b>			<b>7</b>	<b>12</b>

<sup>a</sup> Todas las obtenciones de muestras de este panel fueron no reactivas para anticuerpos anti-HIV-1/2. La última obtención de muestras se utilizó como «Días hasta el primer resultado reactivo».

Las pruebas de anticuerpos anti-HIV-1/2 se realizaron con la prueba Abbot Anti-HIV 1/2, con las excepciones siguientes:

<sup>b</sup> Los paneles PRB974, PRB975 y PRB978 se analizaron con la prueba Siemens Anti-HIV 1/2.

Las pruebas de antígeno p24 de HIV-1 se realizaron con la prueba Coulter HIV-1 p24 Ag, con las excepciones siguientes:

<sup>c</sup> Los paneles PRB974, PRB975 y PRB978 se analizaron con la prueba BioMérieux p24 Ag.

**Estudio de equivalencia de suero y plasma**

Para evaluar la equivalencia, se utilizó el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay para analizar conjuntos emparejados de suero y plasma (25 positivos para HIV-1 y 25 negativos para HIV-1) y 40 muestras a las que se añadió HIV-1 cultivado (50-1.000.000 copias/ml en plasma y suero negativos para HIV-1). El acuerdo en negativos fue del 100,0 % (IC del 95 %: 97,0 %-100,0 %). El acuerdo en positivos fue del 98,4 % (IC del 95 %: 95,4 %-99,5 %).



**Bibliografía**

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziuz, W. Rozenbaum, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
9. Gaines, H., M. A. von Sydow, and L. V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B., and D. A. Cooper. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H. C. Lane. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. Coffin, J. M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton. 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA

- levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.
25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
  26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
  27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2<sup>nd</sup> ed. Springer-Verlag, New York.
  28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
  29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
  30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
  31. **Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
  32. **Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner.** 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639–2642.
  33. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
  34. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
  35. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
  36. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
  37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.*
  38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
  39. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
  40. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Hologic, Inc.  
10210 Genetic Center Drive  
San Diego, CA 92121 EE. UU.

Atención al cliente: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
Asistencia técnica: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Para obtener más información de contacto, visite [www.hologic.com](http://www.hologic.com).



**Hologic BVBA**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Hologic, Aptima, Panther y sus logotipos asociados son marcas comerciales o registradas de Hologic, Inc. o sus filiales en Estados Unidos o en otros países.

Armored RNA es una marca comercial de Asuragen, Inc.

Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este prospecto pertenecen a sus respectivos propietarios.

Este producto puede estar cubierto por una o más de las patentes estadounidenses identificadas en [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2014-2019 Hologic, Inc. Reservados todos los derechos.

AW-11853-301 Rev. 006

2019-04