

Dried Blood Spot (DBS) Supplement to the Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Para exportación de EE. UU. solamente.

Información general	2
Introducción	2
Uso indicado	2
Resumen y explicación de la prueba para las muestras de DBS	3
Advertencias y precauciones	3
Recogida y almacenamiento de muestras de DBS	5
Muestras conservadas en el Panther System	7
Transporte de muestras	7
Panther System	8
Material necesario que debe adquirirse por separado para muestras de DBS ..	8
Procedimiento de la prueba del Panther System	9
Notas de procedimiento para calibradores y controles	12
Control de calidad	13
Calibración del ensayo	13
Controles negativo y positivo	13
Calibrador interno/control interno	13
Interpretación de los resultados para DBS	14
Limitaciones	16
Rendimiento de DBS	17
Límite de detección (LdD) utilizando el Tercer Patrón Internacional para VIH-1 de la OMS	17
Rango lineal	18
Precisión	19
Sustancias potencialmente interferentes	20
Especificidad	20
Especificidad analítica	20
Rendimiento clínico	18
Acuerdo diagnóstico para el diagnóstico precoz en la infancia	18
Correlación de métodos	18
Bibliografía	25

Información general

Introducción

Este prospecto tiene como finalidad proporcionar información complementaria al prospecto del ensayo *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853). Este documento ofrece explicaciones, advertencias y precauciones, e instrucciones relativas a la preparación y la prueba de muestras de gotas de sangre seca (Dried Blood Spot, DBS) para la supervisión de la carga viral (CV) de VIH-1 y el diagnóstico precoz en la infancia con la ayuda del *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*. Para las advertencias y precauciones generales, así como la preparación de reactivos en el *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*, consulte el documento AW-11853.

Uso indicado

El *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 ARN del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) en el sistema Panther™ totalmente automático. Está indicado para utilizarse como ayuda en el diagnóstico de infecciones por el VIH-1, para confirmar la infección por VIH-1 y como ayuda en el tratamiento clínico de pacientes infectados por el VIH-1.

Adicionalmente, el *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* puede utilizarse como ayuda en el diagnóstico de la infección primaria o aguda por el VIH-1. La presencia de ARN del VIH-1 en el plasma, el suero o la sangre de pacientes sin anticuerpos contra el VIH-1 es indicativo de infección primaria o aguda por el VIH-1. El *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* puede usarse como prueba complementaria para muestras que tienen resultados reactivos repetidos con inmunoensayos aprobados para el VIH. Si la muestra es reactiva en el *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*, se confirma la infección por el VIH-1.

Teniendo en cuenta la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio, el *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* puede igualmente usarse para establecer un pronóstico para los pacientes infectados por el VIH-1. El *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* también puede utilizarse como ayuda en el diagnóstico precoz en la infancia de infección por el VIH-1 en bebés menores de 18 meses a partir de muestras de DBS. El *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* puede utilizarse como ayuda en la supervisión del efecto del tratamiento antirretroviral mediante la medición de los cambios en las concentraciones de ARN del VIH-1 en muestras de plasma y de gotas de sangre seca.

Cuando el *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* se usa como ayuda en el diagnóstico de infección por el VIH-1, el rendimiento de los resultados cualitativos se establece tanto en las muestras de plasma y de suero como en las muestras de DBS en bebés menores de 18 meses. Cuando se usa como ayuda para supervisar el efecto del tratamiento antirretroviral, el rendimiento de los resultados cuantitativos se establece solo con las muestras de plasma y de gotas de sangre seca. Las muestras de suero no deben usarse para la obtención de resultados cuantitativos.

Este ensayo no está destinado para su uso en el cribado de donantes de sangre o de plasma.

Resumen y explicación de la prueba para las muestras de DBS

Las muestras de DBS pueden usarse para supervisar la carga viral y para detectar la falta de respuesta virológica con un valor de corte de 1000 copias/mL. (1) Las muestras de DBS también pueden utilizarse como ayuda en el diagnóstico precoz en la infancia de infección por el VIH-1 en bebés menores de 18 meses. (2).

Debido a que los bebés infectados por el VIH están expuestos a un alto riesgo de muerte durante el primer año de vida, el inicio oportuno del tratamiento antirretroviral reduce la morbilidad y la mortalidad de manera significativa. Las pruebas serológicas para el diagnóstico precoz en la infancia de la infección por el VIH no son recomendables debido a que los anticuerpos IgG maternos que cruzaron la barrera placentaria podrían estar presentes hasta los 18 meses y dar lugar a resultados positivos falsos en las pruebas de anticuerpos contra el VIH. Para el diagnóstico de la infección por el VIH-1 en bebés menores de 18 meses se requieren ensayos que detecten componentes de este virus, como el ARN del VIH-1 o el antígeno p24 del VIH-1. Para los menores de 18 meses, la OMS recomienda utilizar pruebas virológicas, por ejemplo, ensayos para detectar el ADN del VIH-1, el ARN del VIH-1 o el antígeno p24 del VIH-1. Cuando se usa un método basado en la detección de ARN del VIH, el tipo de muestra recomendado para el diagnóstico precoz en la infancia es la muestra de gotas de sangre seca. (2,3)

Advertencias y precauciones

Nota: La comunicación sobre peligros refleja las clasificaciones de las fichas de seguridad (SDS) de la UE. Para ver la ficha de seguridad específica de su país, consulte la Biblioteca de fichas de datos de seguridad (SDS) en www.hologicds.com.

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

Información sobre las muestras de DBS

- C. Las muestras pueden ser infecciosas. Adopte las precauciones universales (4, 5, 6) al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos correctos de manipulación y eliminación de material según la normativa local.(6) 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.
- D. Mantenga las condiciones de almacenamiento apropiadas durante el envío de muestras para garantizar su integridad. No se ha evaluado la estabilidad de las muestras en condiciones de envío distintas a las recomendadas.
- E. Evite la contaminación cruzada durante los pasos de manipulación de muestras. Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles al aflojar o destapar los tubos de muestras y al procesar muestras de DBS. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de 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 la muestra.

- F. La recopilación y manipulación de sangre venosa (EDTA) y sangre obtenida por punción digital o punción del talón para la preparación de las muestras de sangre seca, así como la manipulación de las tarjetas de papel secante con muestras de DBS, debe hacerse de acuerdo con las directrices locales relativas a la prevención de infecciones por patógenos de transmisión hemática.
- G. Se recomienda preparar al menos tres gotas de sangre seca en cada tarjeta de papel secante.
- H. La preparación, secado, almacenamiento y manipulación inapropiados de las muestras de DBS pueden ocasionar resultados erróneos en las pruebas.
- I. Asegúrese de que las tarjetas de papel secante con muestras de DBS estén completamente secas antes de almacenarlas en bolsas con cierre de cremallera (tipo zip lock) con secante. Si las muestras de DBS no están totalmente secas, su estabilidad puede reducirse y producir resultados erróneos.
- J. Asegúrese de que las tarjetas de papel secante con muestras de DBS sin utilizar se almacenan y se manipulan conforme a las instrucciones del fabricante de dicha tarjeta.
- K. Para obtener información adicional sobre la preparación y la manipulación de muestras de DBS, consulte las instrucciones del fabricante de tarjetas de papel secante con muestras de DBS.
- L. Para evitar la contaminación por arrastre, asegúrese de que las herramientas utilizadas para cortar y manipular los círculos que contienen la sangre seca se descontaminen antes y después de entrar en contacto con la muestra.
- M. Utilice únicamente el tampón de extracción Aptima DBS para la extracción de muestras de DBS. No use el diluyente de muestras Aptima ni otros tampones para extraer muestras de gotas de sangre seca.
- N. Para conocer advertencias y precauciones adicionales para laboratorios, consulte el prospecto del *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Información sobre los ensayos

- O. Los resultados cuantitativos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se han evaluado con muestras de DBS y plasma. No debe usarse suero para obtener resultados cuantitativos. Se han evaluado los resultados cualitativos de muestras de plasma, suero y DBS. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.
- P. No utilice las tarjetas de papel secante con muestras de DBS después de la fecha de caducidad especificada por el fabricante. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes maestros diferentes. Los líquidos 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 indicadas. El uso de reactivos conservados incorrectamente pueden afectar a la eficacia del ensayo. Consulte *Procedimiento de la prueba del Panther System* para obtener más información.

- S. No combine ningún reactivo ni líquido del ensayo sin instrucciones específicas. No llene hasta arriba los frascos de reactivos o líquidos. El Panther System verifica los niveles de reactivo.
- T. Para obtener información de la comunicación sobre peligros, consulte el prospecto del *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Recogida y almacenamiento de muestras de DBS

Nota: *Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes posiblemente infecciosos. Respete 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.*

Pueden utilizarse muestras de sangre completa recogidas en EDTA o de sangre capilar obtenida mediante punción dactilar o del talón.

A. Recogida y preparación de muestras de DBS

- La sangre completa recogida en los tubos adecuados puede almacenarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 2 °C y 30 °C antes de añadirla a las tarjetas de papel secante con muestras de DBS. Antes de añadir la sangre a la tarjeta de papel secante con la muestra de DBS, mézclela bien. Pueden extraerse muestras de sangre capilar mediante punción dactilar o del talón según el procedimiento estándar y la práctica local.
- Añada aproximadamente 70 µl de sangre completa en el centro de los círculos de 12 mm (media pulgada) de las tarjetas Ahlstrom/Munktel TFN o equivalentes (por ejemplo, Whatman 903). Si se utiliza sangre obtenida mediante punción dactilar o del talón, añada unas 3-5 gotas (aproximadamente 70 µl) a cada círculo, asegurándose de que se sature toda la superficie del círculo (ambos lados de la tarjeta de papel secante con la muestra de DBS).
- Deje secar al aire las tarjetas de papel secante con muestras de DBS a temperatura ambiente (de 15 °C a 30 °C) durante un periodo de 4 a 24 horas. Asegúrese de que las tarjetas de papel secante con muestras de DBS se mantengan lejos de la luz solar directa, que no se toquen entre sí y que estén completamente secas antes de proceder al envasado, almacenamiento y envío.

Nota: *Las muestras de DBS preparadas con poca sangre, secadas de forma insuficiente o con una manipulación o almacenamiento inadecuado de las tarjetas de papel secante con muestras de DBS pueden dar lugar a resultados erróneos en las pruebas.*

B. Muestras de DBS

Durante un máximo de 24 horas después de la recogida de la muestra, los tubos de recogida primarios que contienen la sangre completa pueden almacenarse a una temperatura entre 2 °C y 30 °C, antes de preparar la muestra de DBS (Figura 1, cuadro superior).

Las muestras de DBS preparadas pueden almacenarse bajo una de las condiciones siguientes (Figura 1, cuadros inferiores):

- tarjeta de papel secante con muestra de DBS a una temperatura entre 2 °C y 30 °C durante un máximo de 12 semanas a humedad ambiente, o

- tarjeta de papel secante con muestra de DBS a una temperatura entre -15 °C y -35 °C durante un máximo de 12 semanas, o
- tarjeta de papel secante con muestra de DBS a una temperatura de 40 °C durante un máximo de 2 semanas a 85 % de humedad.

Antes del análisis, las muestras de DBS extraídas en tubos de alícuotas de muestras (SAT) pueden almacenarse entre 15 °C y 30 °C durante un máximo de 24 horas.

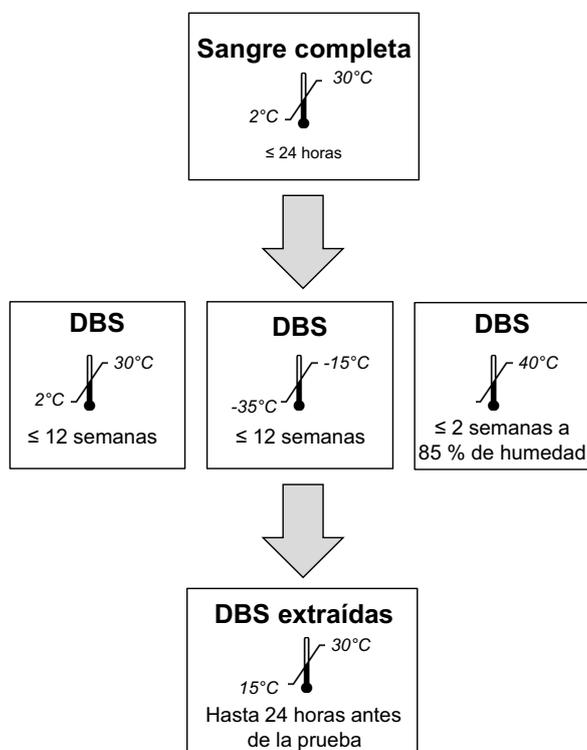


Figura 1. Condiciones de almacenamiento de las muestras de DBS

Muestras conservadas en el Panther System

Las muestras de DBS extraídas pueden dejarse sin tapar en el Panther System durante un total 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 muestras

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

Nota: *Las muestras deben enviarse respetando las normativas de transporte regional, nacional e internacional aplicables.*

Panther System

Los reactivos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx para su uso en el Panther System se proporcionan en el prospecto del *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Material necesario que debe adquirirse por separado para muestras de DBS

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

Material	N.º de cat.
Tampón de extracción Aptima DBS (100 mL)	PRD-04772
Tubos de alícuotas de muestras (SAT) Aptima (paquete de 100)	503762
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100)	504415
<i>Tapón para SAT</i>	
Tarjetas de papel secante con muestras de DBS disponibles en el mercado:	—
<i>Tarjetas Ahlstrom/Munktel TFN o equivalentes (p. ej., Whatman 903)</i>	
Tijeras, pinzas u otras herramientas para liberar la gota de sangre seca de la tarjeta de papel secante con la muestra de DBS.	—
Puntas, conductoras de 1000 µL, para detección de líquido	10612513 (Tecan)
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 al 7 % (0,7 M a 1,0 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones de repuesto para reactivos	
<i>Frascos de reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor</i>	<i>CL0041 (100 tapones)</i>
<i>Frasco de TCR</i>	<i>CL0040 (100 tapones)</i>
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Opciones para el tubo de recogida primario (ACD, EDTA, PPT):	
<i>13 mm × 100 mm</i>	—
<i>13 mm × 75 mm</i>	—
<i>16 mm × 100 mm</i>	—
Centrífuga	—
Balancín para tubos	—

Procedimiento de la prueba del Panther System

A. Extracción de muestras de DBS

1. Deje que las muestras alcancen una temperatura entre 15 °C y 30 °C antes de procesarlas.
2. Añada 1 mL del tampón de extracción de muestras de DBS al tubo de alícuotas de muestras (SAT).
3. Con una herramienta descontaminada (p. ej., punta de pipeta, pinza o tijera), transfiera la muestra de DBS al tubo de alícuotas de muestras que contiene el tampón de extracción de muestras de DBS. Cada muestra de DBS debe tener aproximadamente 12 mm de diámetro.

Nota: *En el caso de tarjetas de papel secante con muestras de DBS no perforadas, asegúrese de que la muestra de DBS se adhiere al lateral del tubo de alícuotas de muestras.*

4. Cierre los tubos de alícuotas de muestras (SAT) que contienen el tampón de extracción de DBS y la muestra de DBS por completo con las tapas de los tubos de transporte.
5. Balancee suavemente a temperatura ambiente durante 30 minutos. Asegúrese de que el tampón de extracción de DBS lave por completo la muestra de DBS durante el balanceo. Evite que se forme demasiada espuma.

Nota: *Las muestras de DBS extraídas en el tubo de alícuotas de muestras (SAT) pueden almacenarse durante un máximo de 24 horas a una temperatura entre 15 °C y 30 °C antes del análisis.*

6. Antes de la carga en el Panther System, centrifugue el tubo de alícuotas de muestras que contiene las muestras de DBS extraídas durante 2 minutos a 3000 g.
7. Cargue el tubo de alícuotas de muestras que contiene la muestra de DBS en el Panther System (las muestras de DBS extraídas pueden conservarse en el Panther System durante un máximo de 8 horas).

Nota: *Para evitar la contaminación por arrastre, asegúrese de que las herramientas utilizadas para la preparación y la manipulación de muestras se descontaminen entre varias muestras.*

Nota: *Las 8 horas de tiempo en el instrumento no se agregan al periodo de almacenamiento de 24 horas tras la extracción.*

B. Preparación del sistema para muestras de DBS

1. Prepare el sistema siguiendo las instrucciones del *Manual del usuario del Panther System*.
2. Cargue la gradilla de muestras.
3. **Aplique el factor de conversión de gota de sangre seca** a los pedidos de pruebas de ensayo para muestras de DBS.

Para aplicar el factor de conversión de gota de sangre seca a una gradilla completa de muestras de DBS:

- a. En la pantalla *Carga de gradillas de muestras*, seleccione **Aplicar dilución a todo**.

Se abrirá la ventana *Factor de dilución*.

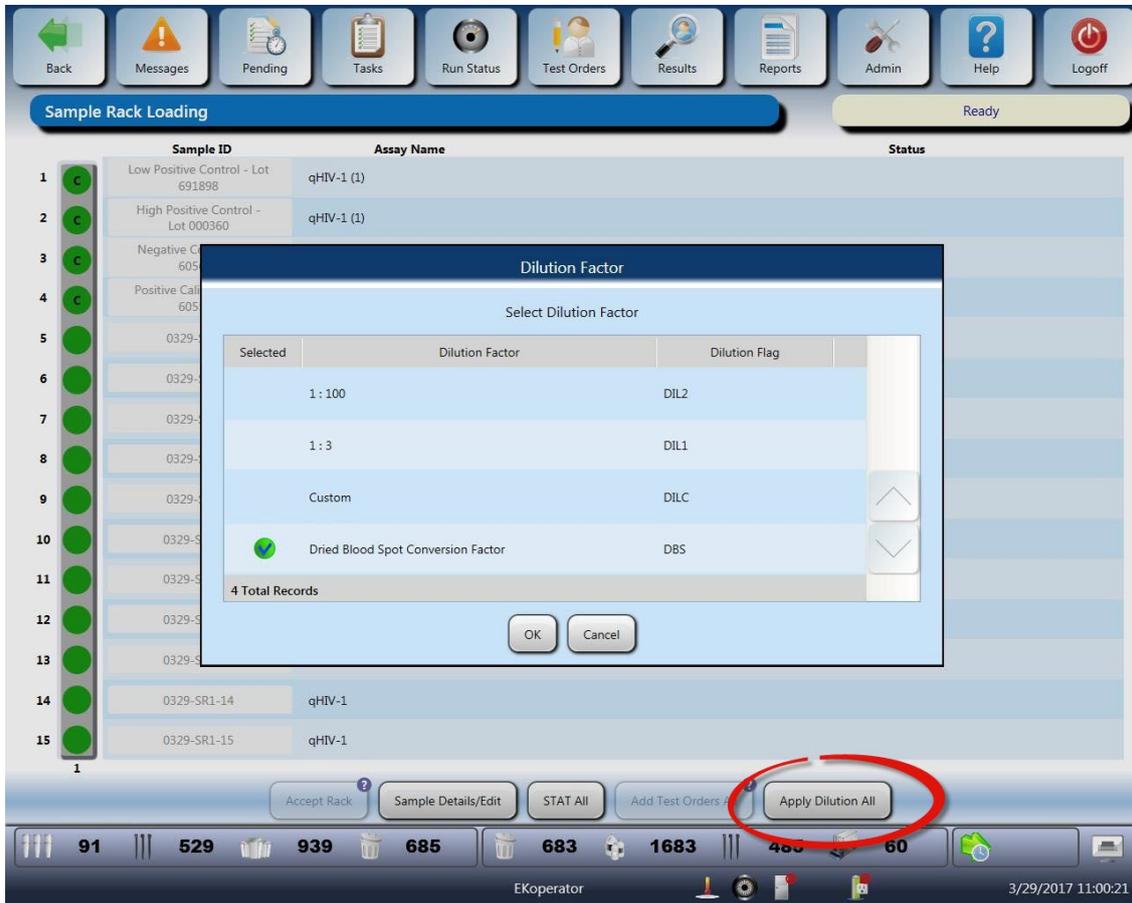


Figura 2. Ventana Factor de dilución en la pantalla Carga de gradillas de muestras

- b. Seleccione **Factor de conversión de gota de sangre seca**.
- c. Seleccione **Aceptar**.
Se abre una ventana *Establecer factor de dilución para gradilla*.
- d. Seleccione **Sí** para aplicar el indicador de Factor de conversión de gota de sangre seca a la gradilla completa de muestras de DBS.

Para aplicar el Factor de conversión de gota de sangre seca a un único pedido de pruebas (por ejemplo, la tercera muestra de la gradilla, consulte la ilustración siguiente):

- a. En la pantalla *Detalles de la muestra*, seleccione el pedido de pruebas que se va a procesar y seleccione **Aplicar dilución**.

Se abre la ventana *Factor de dilución*.

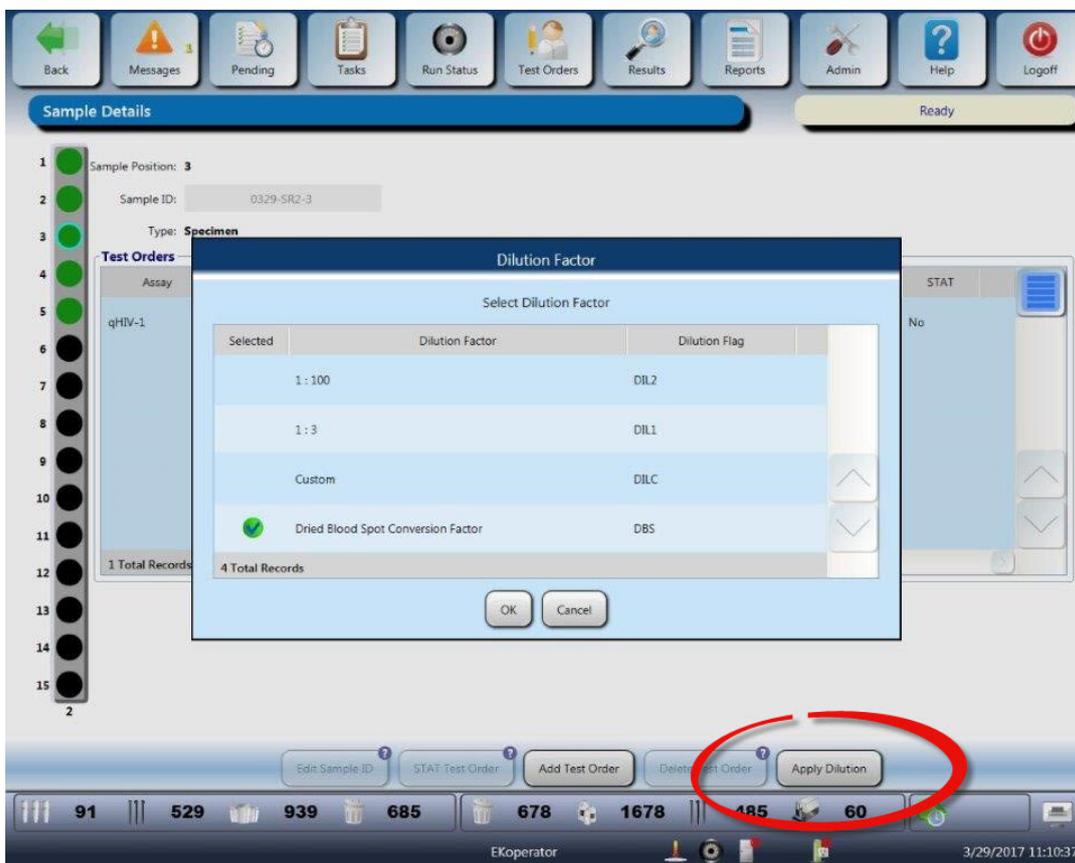


Figura 3. Ventana Factor de dilución en la pantalla Detalles de la muestra

- b. Seleccione **Factor de conversión de gota de sangre seca**.
- c. Seleccione **Aceptar** para aplicar el indicador de Factor de conversión de gota de sangre seca a todos los pedidos de pruebas seleccionados.

Si es necesario, es posible eliminar el factor de conversión de gota de sangre seca de los pedidos de pruebas antes de que comience el procesamiento.

Para eliminar el factor de conversión de gota de sangre seca de una gradilla completa:

1. En la pantalla *Compartimiento de gradillas de muestras*, haga doble clic en la gradilla de interés.
Se abrirá la pantalla *Carga de gradillas de muestras* para la gradilla seleccionada.
2. Seleccione **Aplicar dilución a todo**.
3. En la ventana *Factor de dilución*, anule la selección de **Factor de conversión de gota de sangre seca**.

4. Seleccione **Aceptar**.

Se abre una ventana *Establecer factor de dilución para gradilla*.

5. Seleccione **Sí** para eliminar el factor de conversión de gota de sangre seca de una gradilla completa.

Para eliminar los pedidos de pruebas de ensayo de factor de conversión de gota de sangre seca:

1. En la pantalla *Compartimento de gradillas de muestras*, haga doble clic en la gradilla cargada que incluye las muestras de interés.

Se abrirá la pantalla *Carga de gradillas de muestras* para la gradilla de muestras seleccionada.

2. En la pantalla *Carga de gradillas de muestras*, haga doble clic en la muestra de interés.

Se abrirá la pantalla *Detalles de la muestra* con los pedidos de pruebas actuales para la muestra seleccionada.

3. Seleccione el pedido de pruebas de interés en el panel *Pedidos de pruebas*.

4. Seleccione **Aplicar dilución**.

5. En la ventana *Factor de dilución*, anule la selección de **Factor de conversión de gota de sangre seca**.

6. Seleccione **Aceptar** para eliminar el factor de conversión de gota de sangre seca para el pedido de pruebas.

Notas de procedimiento para calibradores y controles

Para las muestras de DBS, no se proporcionan controles positivos y negativos de DBS. Las muestras de DBS requieren los mismos calibradores y controles utilizados para las muestras de suero y plasma. Consulte AW-11853.

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

Las muestras de DBS requieren los mismos calibradores utilizados para las muestras de suero y plasma. Consulte AW-11853.

Controles negativo y positivo

Las muestras de DBS requieren los mismos controles utilizados para las muestras de suero y plasma. Consulte AW-11853.

Calibrador interno/control interno

Cada muestra contiene un calibrador interno/control interno (Internal Control, IC). Consulte AW-11853.

Interpretación de los resultados para DBS

El Panther System determina automáticamente la concentración de ARN del VIH-1 en muestras y controles comparando los resultados con una curva de calibración. Para muestras de DBS analizadas, el Panther System informa automáticamente las copias/mL y el valor \log_{10} copias/mL de ARN del VIH-1 en función del factor de conversión de DBS. La conversión logarítmica para el límite de detección (LdD) de DBS de 883 copias/mL es 2,95 \log copias/mL. La interpretación de la carga viral de los resultados se indica en la Tabla 1.

El Panther System no ofrece un resultado cualitativo (es decir, «reactivo» o «no reactivo») para uso diagnóstico (diagnóstico precoz en la infancia). El usuario debe interpretar la concentración de ARN del VIH-1 notificada para generar un resultado cualitativo (consulte la Tabla 2). Las muestras con resultados indicados de «no detectado» son arreactivas para ARN del VIH-1. Las muestras con resultados de «<883 detectados» o muestras con resultados dentro del rango lineal indican que se detectó ARN del VIH-1 y, por lo tanto, que las muestras son reactivas para ARN del VIH-1. Las muestras con resultados de <1900 copias/mL se deben volver a analizar para confirmar la reactividad para el diagnóstico de VIH.

Tabla 1: Interpretación de los resultados para muestras de DBS con carga viral

Resultado notificado del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay		Interpretación de la concentración de ARN del VIH-1
Copias/mL	Valor \log_{10} ^a	
No detectado	No detectado	ARN del VIH-1 no detectado.
<883 detectados	<2,95	Se detecta ARN del VIH-1, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación para DBS (LIdC de DBS 883 copias/mL)
De 883 a 10 000 000	De 2,95 a 7,00	La concentración de ARN del VIH-1 está dentro del rango lineal del ensayo para DBS (de 883 copias/mL a 10 000 000).
>10 000 000	>7,00	La concentración de ARN del VIH-1 está por encima del límite superior de cuantificación (LSdC).
No válido ^c	No válido ^c	Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

^aEl valor se muestra con dos dígitos decimales.

^b Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Tabla 2: Interpretación de los resultados para muestras de DBS de diagnóstico

Resultado notificado del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay		Interpretación cualitativa diagnóstica del usuario
Copias/ml	Valor Log ₁₀ ^a	
No detectado	No detectado	ARN del VIH-1 no detectado.
<883 detectados o De 883 a 1900	<2,95 o de 2,95 a 3,28	Volver a analizar para confirmar los resultados de diagnóstico reactivo. Solo los positivos confirmados se consideran reactivos. ^b
De 1901 a 10 000 000	De 3,28 a 7,00	Reactivo para ARN del VIH-1
>10 000 000	>7,00	Reactivo para ARN del VIH-1
No válido ^c	No válido ^c	Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.

^aEl valor se muestra con dos dígitos decimales.

^b **Organización Mundial de la Salud, Documento normativo.** Julio de 2018. Actualización de los tratamientos antirretrovirales para el tratamiento y la prevención de la infección por VIH y actualización del diagnóstico precoz en la infancia. Tratamiento del VIH: directrices provisionales. Ginebra, Suiza.

^c Los resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Limitaciones

- A. El uso de este ensayo está limitado al personal con la debida formación para realizar el procedimiento. El incumplimiento de las instrucciones indicadas en este prospecto puede producir resultados equívocos.
- B. Asegúrese de que este ensayo se utilice con Panther System Software versión 6.2 o posterior.
- C. Las distintas metodologías de prueba pueden ofrecer distintos valores registrados. Para disminuir el riesgo de malinterpretar los resultados al pasar a un nuevo ensayo, se recomienda la validación de las nuevas metodologías para establecer diferencias en los resultados notificados y que dichas diferencias se tengan en cuenta.
- D. La recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras inadecuadas puede dar lugar a resultados imprecisos.
- E. Este ensayo se ha validado para su utilización con tarjetas Ahlstrom/Munktel TFN y Whatman 903 DBS. Asegúrese de que las tarjetas DBS se validen para satisfacer los requisitos específicos del laboratorio.
- F. Asegúrese de que las tarjetas DBS se manipulen y se almacenen siguiendo las instrucciones del fabricante.

Rendimiento de DBS**Límite de detección (LdD) utilizando el Tercer Patrón Internacional para VIH-1 de la OMS**

El límite de detección (LdD) se define como la concentración de RNA del VIH-1 que se detecta con una probabilidad del 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI (7). El LdD se determinó analizando paneles que consistían en disoluciones del Tercer Patrón Internacional para VIH-1 de la OMS (subtipo B, código NIBSC: 10/152) en sangre completa negativa para VIH-1. Se ejecutaron treinta réplicas de cada dilución en tres sistemas Panther con tres lotes de reactivo para un total de 90 réplicas por dilución. Según CLSI EP17-A2, los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previsto se definen como LdD y se muestran en la Tabla 3. A través del análisis Probit, el LdD para el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay es 873,88 copias/mL (intervalo de confianza del 95 % 653,98–1311 copias/mL) o 2496,8 UI/mL (intervalo de confianza del 95 % 1868,5–3745,72 UI/mL, 0,35 copias = 1 UI).

Tabla 3: LdD del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con DBS utilizando el Tercer Patrón Internacional para VIH-1 de la OMS

Límite de detección previsto	Concentración (copias/mL)	Concentración (UI/mL)
10 %	49,21	140,60
20 %	75,61	216,01
30 %	103,05	294,42
40 %	134,26	383,60
50 %	171,93	491,22
60 %	220,17	629,04
70 %	286,86	819,58
80 %	390,97	1117,05
90 %	600,69	1716,24
95 %	873,88	2496,80

Rango lineal

El rango lineal del Aptima HIV-1 Quant Dx assay se estableció analizando paneles que consistían en el virus VIH-1 cultivado subtipo B diluido en sangre completa negativa para VIH-1 según el documento EP06-A del CLSI (8). Las concentraciones de los paneles fueron de 2,70 a 7,60 log copias/mL. Las pruebas se realizaron en cuatro sistemas Panther con dos lotes de reactivo de ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Como se muestra en Figura 4, el Aptima HCV Quant Dx Assay demostró linealidad en todo el rango analizado.

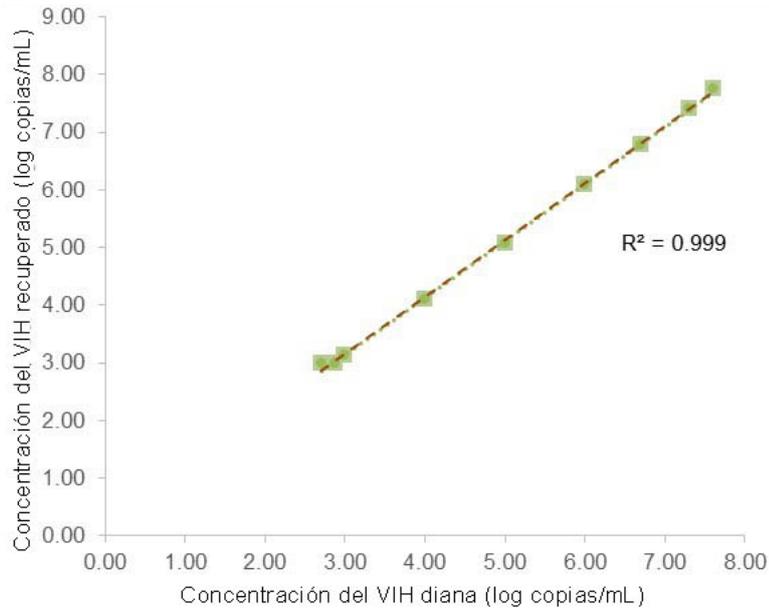


Figura 4. Linealidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con DBS

Límite inferior de cuantificación utilizando el Tercer Patrón Internacional para VIH-1 de la OMS

El límite inferior de cuantificación (LIdC) es 883 copias/mL. El LIdC se estableció tal y como se describe en el documento EP-17-A2 del CLSI para satisfacer los requisitos del LIdC de reactividad >95 % y un error total de ≤ 1 log copias/mL.

Tabla 4: Determinación del límite inferior de cuantificación (LIdC) con tipo de muestra DBS utilizando el Tercer Patrón Internacional para VIH-1 de la OMS con tres lotes de reactivos

Lote de reactivo	% positivo	Concentración diana (log copias/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log copias/mL)	DE (log copias/mL)	Sesgo (log copias/mL)	TE Westgard calculado (log copias/mL)
1	90 %	2,78	2,61	0,60	0,17	1,37
	93 %	2,85	2,66	0,54	0,18	1,26
	93 %	2,90	2,83	0,40	0,07	0,87
	97 %	2,95	2,90	0,18	0,06	0,43
	100 %	3,00	2,98	0,22	0,02	0,46
	100 %	3,08	3,03	0,22	0,05	0,48
2	93 %	2,78	2,57	0,59	0,20	1,38
	97 %	2,85	2,76	0,44	0,09	0,97
	93 %	2,90	2,66	0,54	0,24	1,32
	97 %	2,95	2,79	0,47	0,17	1,10
	97 %	3,00	2,78	0,46	0,22	1,15
	97 %	3,08	2,91	0,37	0,17	0,91
3	100 %	2,78	2,80	0,52	0,02	1,05
	100 %	2,85	2,83	0,36	0,01	0,74
	100 %	2,90	2,89	0,36	0,02	0,74
	100 %	2,95	2,94	0,50	0,02	1,01
	100 %	3,00	2,95	0,23	0,05	0,51
	97 %	3,08	3,07	0,16	0,01	0,33

Tabla 5: Resumen del LIdC

Lote de reactivo	LIdC (log copias/mL)	LIdC (copias/mL)
1	2,90	787
2	2,91	817
3	2,95	883

Precisión

Para evaluar la precisión del Aptima HIV-1 Quant Dx assay, se creó un panel enriqueciendo el virus VIH-1 cultivado subtipo B en sangre completa negativa para VIH-1. Tres usuarios probaron los paneles con tres lotes de reactivos en tres Panther Systems durante 20 días (consulte la Tabla 6). El panel consistía en una muestra negativa del panel de VIH-1 y cinco muestras positivas del panel de VIH-1. La asignación de la concentración de muestras clínicas o reserva de virus cultivados se determinó probando el tipo de muestra DBS en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabla 6: Precisión del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con DBS

Número de réplicas válidas	Concentración media (log copias/mL)	Entre instrumentos	Entre usuarios	Entre lotes	Entre ciclos	Intraciclo	Total
		DE	DE	DE	DE	DE	DE
79	3,45	0,00	0,00	0,07	0,00	0,20	0,21
81	3,94	0,00	0,00	0,07	0,08	0,13	0,13
81	4,81	0,01	0,01	0,01	0,07	0,07	0,07
81	5,89	0,00	0,03	0,01	0,07	0,05	0,05
81	6,72	0,00	0,02	0,02	0,06	0,05	0,05

DE=desviación estándar

Nota: La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede ser el caso si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto sucede, DE = 0. Las réplicas totales probadas para cada número de panel fueron 81; solo se usaron réplicas con resultados cuantificables para evaluar la precisión.

Sustancias potencialmente interferentes

La susceptibilidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a las interferencias causadas por altos niveles de hemoglobina y ADN humano se evaluó analizando muestras de DBS preparadas con sangre completa en ausencia del VIH-1 y en presencia de 3,42 y 4,7 log copias/mL del VIH-1. No se observó ninguna interferencia en el rendimiento en presencia de hemoglobina (5 mg/mL) y ADN humano genómico (2 µg/mL).

La sensibilidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a interferencias también fue evaluada para muestras de plasma y no se observó ninguna interferencia en el rendimiento en presencia de sustancias endógenas y exógenas. Para ver la lista completa de las sustancias potencialmente interferentes que fueron evaluadas para muestras de plasma, consulte el prospecto del *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Especificidad

La especificidad del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay se determinó mediante el análisis de muestras de DBS preparadas con sangre de 500 donantes no infectados por el VIH-1 en tres lotes de reactivos. La especificidad del ensayo para las muestras de DBS fue del 99,6 % (intervalo de confianza del 95 %, del 98,6 % al 99,9 %).

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con patógenos presentes en sangre completa fue evaluada mediante el análisis de muestras de DBS preparadas con sangre completa a las que se añadieron 1e6 células/mL de cada organismo en ausencia del VIH-1 y en presencia de 3,42 y 4,7 log copias/mL del VIH-1. No se observó interferencia en el rendimiento en análisis de muestras de DBS que contenían *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti* Gray, *Plasmodium falciparum* y *Toxoplasma gondii* en presencia y ausencia del VIH-1.

La reactividad cruzada del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay también fue evaluada para muestras de plasma y no se observó ninguna interferencia en el rendimiento en presencia de patógenos. Para ver la lista completa de los patógenos que fueron evaluados para muestras de plasma, consulte el prospecto del *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853).

Rendimiento clínico

Acuerdo diagnóstico para el diagnóstico precoz en la infancia

Para evaluar el acuerdo diagnóstico, se prepararon muestras de DBS con sangre obtenida por punción digital o punción del talón de bebés de edades ≤ 18 meses nacidos de madres infectadas por el VIH-1 en Kenia, África. Se analizó una sola muestra de DBS de cada bebé con el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay y con otro ensayo cualitativo comparativo para el VIH-1 aprobado por la CE. Como se muestra en la Tabla 7, 1975 muestras tuvieron resultados válidos en ambos ensayos. Para el ensayo cualitativo comparativo aprobado por la CE, todas las muestras que presentaron resultados reactivos fueron analizadas nuevamente y solo los resultados reactivos confirmados se clasificaron en la categoría de “Detectado”. Los resultados de todas las muestras arreactivas se categorizaron como “Diana no detectada”. Para el ensayo Aptima, los resultados del ensayo interpretados como equívocos (consultar la Tabla 2) fueron analizados nuevamente. El acuerdo diagnóstico para el diagnóstico precoz en la infancia entre los dos ensayos fue del 99,6 %.

Tabla 7: Acuerdo diagnóstico entre el Aptima VIH-1 Quant Dx Assay y el ensayo comparativo

		Ensayo comparativo aprobado por la CE	
		Diana no detectada	Detectado
Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	Diana no detectada	1888	4
	Detectado	3	80

Correlación de métodos

El rendimiento del Aptima HIV-1 Quant Dx Assay para las muestras de DBS se evaluó mediante comparación de los resultados obtenidos de las muestras de DBS y los resultados obtenidos de las muestras de plasma con el ensayo Aptima. En este estudio participaron 258 pacientes infectados por el VIH-1 provenientes de cinco centros de recolección en Kenia, África. Para cada paciente se prepararon muestras de DBS con sangre capilar (punción dactilar) y sangre venosa. También se obtuvo plasma del mismo paciente. Todos los ensayos Aptima realizados en las muestras de DBS y de plasma se llevaron a cabo con un lote de reactivos. Los resultados cuantitativos de las muestras de cada tipo fueron analizados con regresión lineal mediante el método de mínimos cuadrados como se muestra en las Figuras 5, 6 y 7.

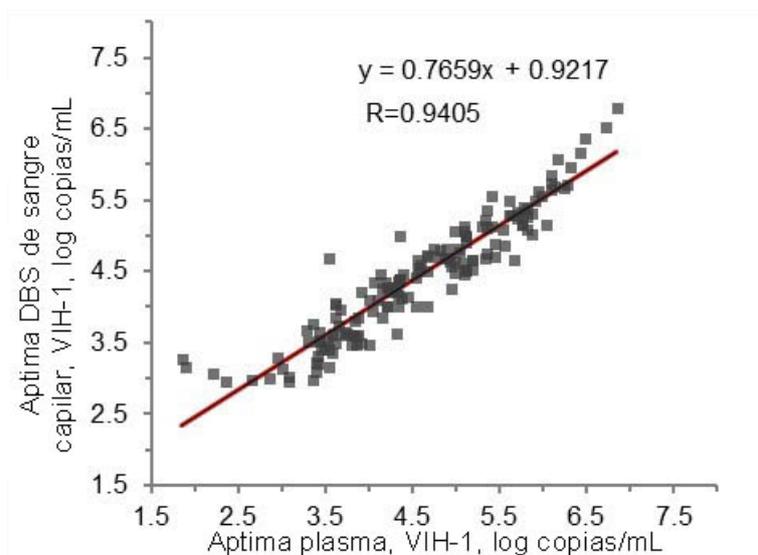


Figura 5. Correlación entre las muestras de DBS de sangre capilar (punción digital) y las muestras de plasma

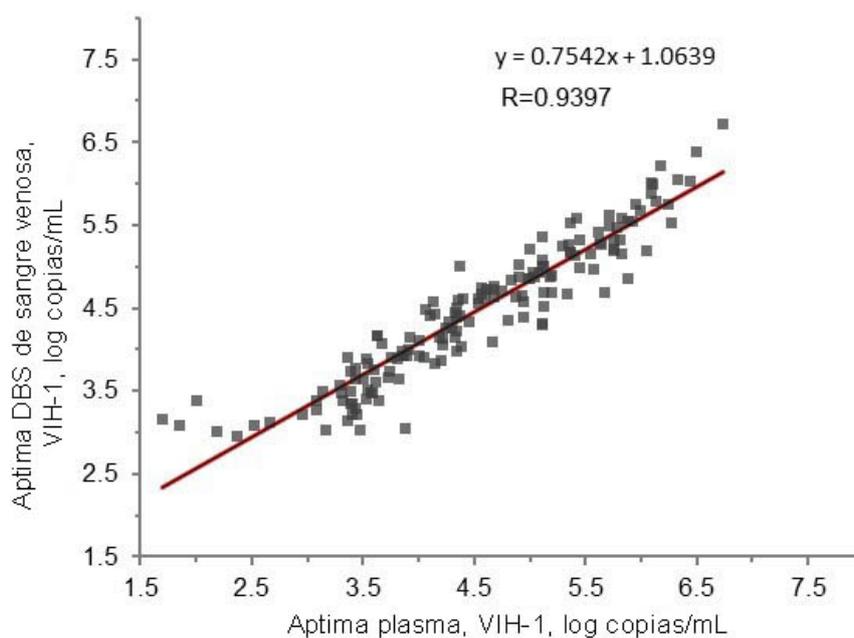


Figura 6. Correlación entre las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de plasma

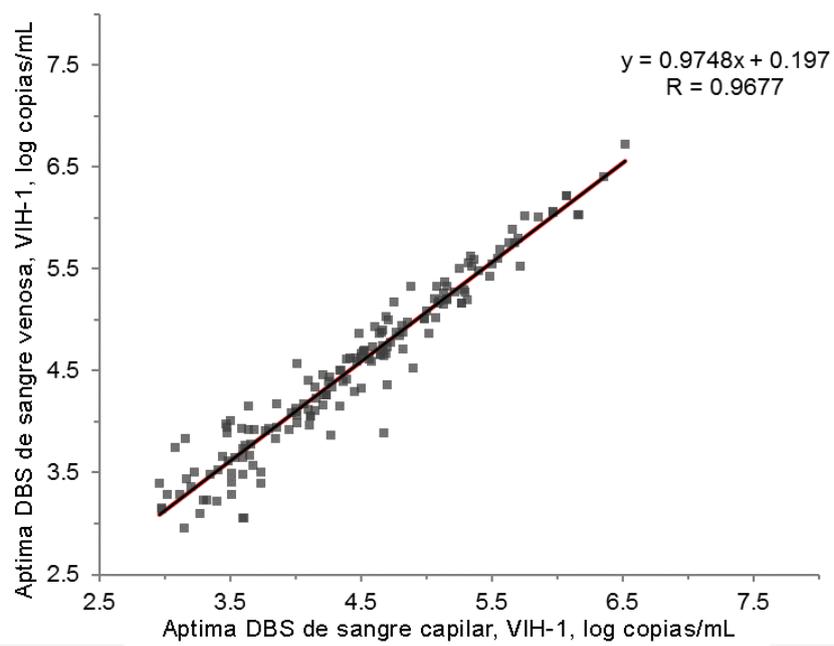


Figura 7. Correlación entre las muestras de DBS de sangre capilar (punción digital) y las muestras de DBS de sangre venosa

La concordancia entre los resultados obtenidos con las muestras de DBS y las muestras de plasma también fue evaluada con un umbral de 1000 copias/mL. (Tablas 8 y 9). Las concordancias positiva y negativa entre los resultados de las muestras de DBS de sangre capilar (punción dactilar) y las muestras de plasma fueron del 92,95 % y el 93,14 % respectivamente. Las concordancias positiva y negativa entre los resultados de las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de plasma fueron del 96,15 % y el 90,20 % respectivamente. Las concordancias positiva y negativa entre los resultados de las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de sangre capilar (punción dactilar) fueron del 91,25 % y el 93,88 % respectivamente. La concordancia total entre los resultados para el VIH-1 obtenidos con plasma y los resultados para el VIH-1 obtenidos con la DBS de sangre capilar (punción digital) y DBS de sangre venosa fue del 93,02 % y el 93,80 % respectivamente.

Tabla 8: Concordancia entre las muestras de DBS de sangre capilar (punción digital) y las muestras de plasma en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima, plasma	
		<1000	>1000
Aptima DBS de sangre capilar (punción digital)	<1000	95	11
	>1000	7	145

Tabla 9: Concordancia entre las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de plasma en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima, plasma	
		<1000	>1000
Aptima DBS de sangre venosa	<1000	92	6
	>1000	10	150

Tabla 10: Concordancia entre las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de sangre capilar (punción digital) en el Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima, DBS de sangre venosa	
		<1000	>1000
Aptima DBS de sangre capilar (punción digital)	<1000	92	14
	>1000	6	146

Bibliografía

1. **World Health Organization, Access to HIV Diagnostics.** July 2014. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing: Interim Technical Update. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/HIV>.
2. **World Health Organization and Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS).** 2010. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/HIV>.
3. **Marston M et al.** Net Survival of Perinatally and Postnatally HIV-infected Children: a Pooled Analysis of Individual Data from Sub-Saharan Africa. *International Journal of Epidemiology* 2011; 40:385-396.
4. **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. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
5. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
6. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP05-A3. Wayne, PA.
7. **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.
8. **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.

Asistencia 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.

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 patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

© 2018-2020 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-18108-301 Rev. 002

2020-07