

## Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

### Instrucciones de uso

Para uso diagnóstico *in vitro*

Para exportación de EE. UU. solamente

<b>Información general</b>	<b>3</b>
Uso previsto	3
Resumen y explicación de la prueba	3
Principios del procedimiento	4
Resumen de seguridad y rendimiento	5
Advertencias y precauciones	5
Requisitos de manipulación y almacenamiento de reactivos	9
Recogida y almacenamiento de muestras	10
Muestras almacenadas en el sistema Panther	13
Transporte de las muestras	13
<b>Sistema Panther</b>	<b>14</b>
Reactivos y materiales suministrados	14
Material necesario que debe adquirirse por separado	16
Materiales opcionales	17
Procedimiento de prueba del sistema Panther	17
Notas de procedimiento	22
<b>Control de calidad</b>	<b>23</b>
Calibración del ensayo	23
Controles negativo y positivo	23
Calibrador interno/control interno	23
<b>Interpretación de resultados</b>	<b>24</b>
<b>Limitaciones</b>	<b>26</b>
<b>Rendimiento analítico</b>	<b>27</b>
Límite de detección (LDD) utilizando la 3 <sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1	27
Límite de detección en subtipos y grupos de HIV-1	28
Rango lineal	29
Linealidad en subtipos y grupos del HIV-1	30
Determinación del límite inferior de cuantificación utilizando la 3 <sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1	31
Verificación del LIDC en subtipos y grupos de HIV-1	32
Precisión	33
Sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes	34
Rendimiento con muestras negativas para HIV-1	36
Contaminantes microbianos potencialmente interferentes	36
Repetibilidad de las muestras clínicas	38
Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras	39
Contaminación por arrastre	39
Panel de seroconversión	40
Estudio de equivalencia en suero y plasma	41
Estudios de reproducibilidad	41

---

<b>Rendimiento clínico .....</b>	<b>44</b>
Validación de la cuantificación de la carga viral .....	44
Estudios de especificidad clínica .....	45
Estudios de sensibilidad clínica .....	45
Positividad en muestras serodiscordantes .....	46
<b>Bibliografía .....</b>	<b>47</b>
<b>Información de contacto e historial de revisiones .....</b>	<b>49</b>

## Información general

### Uso previsto

El ensayo Aptima® HIV-1 Quant Dx 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 (HIV-1) en el sistema Panther™ totalmente automatizado. Está destinado a ser utilizado como ayuda en el diagnóstico de la infección por HIV-1, como confirmación de la infección por HIV-1 y como ayuda en el tratamiento clínico de pacientes infectados con HIV-1.

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

El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx también se puede utilizar junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio para el pronóstico de la enfermedad en personas infectadas por HIV-1. El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se puede utilizar como ayuda para controlar el efecto del tratamiento antirretroviral mediante la medición de los cambios en la concentración de ARN de HIV-1 en plasma.

Cuando el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se utiliza como ayuda en el diagnóstico de la infección por HIV-1, el rendimiento de los resultados cualitativos se establece con muestras de plasma y suero.\* Cuando se utiliza como ayuda para controlar el efecto del tratamiento antirretroviral, el rendimiento de los resultados cuantitativos se establece únicamente con muestras de plasma. Las muestras de suero no se deben utilizar para la obtención de resultados cuantitativos.

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

*\*También se pueden utilizar muestras de gotas de sangre seca (DBS) con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Para obtener una descripción completa del uso previsto y la información sobre las muestras de DBS, consulte el Anexo de gotas de sangre seca del prospecto del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.*

### Resumen y explicación de la prueba

Los estudios epidemiológicos identificaron el virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) como el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (1-7). El HIV se puede transmitir por contacto sexual, exposición a sangre o hemoderivados infectados, o transmisión vertical (8). Dentro de las 3 a 6 semanas posteriores a la exposición al HIV, las personas infectadas normalmente desarrollan un síndrome breve y agudo caracterizado por síntomas similares a los de la gripe, asociado con altos niveles de viremia en la sangre periférica (9-12). En la mayoría de las personas infectadas, esta fase temprana viene seguida de una respuesta inmune específica del HIV y una disminución de la viremia plasmática, normalmente dentro de las 4 a 6 semanas posteriores a la aparición de los síntomas (13-14). Despues de la seroconversión, las personas infectadas suelen entrar en una fase clínicamente estable y asintomática que puede durar años (15-17). El periodo asintomático se caracteriza por una viremia plasmática persistente y de bajo nivel (18) y una reducción gradual del número de linfocitos T CD4+ que conduce a una inmunodeficiencia grave, múltiples infecciones oportunistas, neoplasias malignas y la muerte (19). Aunque los niveles de virus en la sangre periférica son relativamente bajos durante la fase asintomática de la infección, la replicación y eliminación del

virus parecen ser procesos dinámicos en los que las elevadas tasas de producción de virus e infección de las células CD4+ se equilibran con tasas igualmente elevadas de eliminación del virus, muerte de las células infectadas y reposición de células CD4+, lo que resulta en niveles relativamente estables tanto de viremia plasmática como de células CD4+ (20-22).

Las mediciones cuantitativas del HIV en la sangre periférica han demostrado que los niveles más altos del virus pueden guardar relación con un mayor riesgo de progresión clínica de la enfermedad asociada al HIV, y que la reducción de los niveles plasmáticos del virus puede estar asociada con un menor riesgo de progresión clínica (23-25). Los niveles de virus en la sangre periférica se pueden cuantificar mediante la medición del antígeno p24 del HIV en suero, el cultivo cuantitativo de HIV a partir de plasma o la medición directa del ARN viral en plasma utilizando tecnologías de amplificación de ácidos nucleicos o de amplificación de señales (26-30).

Las técnicas moleculares como la amplificación mediada por transcripción (TMA) se han utilizado ampliamente para amplificar ácidos nucleicos (31). La TMA utiliza una captura específica y una amplificación isotérmica específicas para detectar ácidos nucleicos en múltiples enfermedades infecciosas, incluidas CT, NG, HPV, TV y HIV/HCV/HBV para pruebas de donantes de sangre (32).

El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, a través de TMA, utiliza varios primers largos que se dirigen a varias regiones del genoma del HIV-1 para compensar la elevada tasa de mutación del HIV-1. El ensayo incluye sistemas de detección y amplificación de doble diana, dirigidos a dos regiones del genoma del HIV-1 (pol y LTR) de forma independiente. El software del ensayo no promedia las señales de los dos sistemas.

El sistema Aptima de doble diana está diseñado para aumentar las posibilidades de detectar y cuantificar muestras con exactitud.

## Principios del procedimiento

El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx implica tres pasos principales, que tienen lugar en un único tubo en el sistema Panther: captura específica, amplificación de diana por la técnica de amplificación mediada por transcripción (TMA) y detección de los productos de amplificación (amplicón) a través de sondas marcadas con fluorocromos.

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 ARN 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 eliminan los componentes extraños del tubo de reacción.

La amplificación de la diana se produce por TMA, que es un método de amplificación de ácidos nucleicos basada en transcripción que utiliza dos enzimas, la transcriptasa inversa de MMLV (virus de la leucemia murina de Moloney) y la ARN polimerasa T7. La transcriptasa inversa se utiliza para generar una copia de ADN (que contiene una secuencia promotora para la ARN polimerasa T7) de la secuencia diana. La RNA polimerasa T7 genera varias copias del amplicón de ARN a partir del molde de copia de ADN. El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx utiliza el método de TMA para amplificar dos regiones del ARN de HIV-1 (pol y LTR). Se genera una señal independiente a partir de la amplificación de cada región mediante el uso de primers específicos, que están diseñados para amplificar los grupos M, N y O del HIV-1.

La detección se lleva a cabo utilizando unas sondas fluorescentes de ácidos nucleicos monocatenarios que están presentes durante la amplificación de cada diana y se hibridan específicamente con los amplicones en tiempo real. Cada sonda fluorescente tiene un fluoróforo y un inhibidor de fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente no se hibrida con el amplicón, el inhibidor de fluorescencia se encuentra en estrecha proximidad con el fluoróforo y suprime la fluorescencia. Cuando la sonda fluorescente se une al amplicón, el inhibidor de fluorescencia se aleja aún más del fluoróforo y emite una señal con 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 de cada diana en alcanzar un umbral específico ("tTime") es proporcional a la concentración inicial de HIV-1. Cada reacción tiene un calibrador interno/control interno (CI) que controla las posibles variaciones en el procesamiento, la amplificación y la detección de las muestras. A continuación, el software del sistema Panther calcula la concentración de una muestra utilizando tTimes para la amplificación de pol y LTR. A través de su algoritmo y la comparación con la información de calibración almacenada, el software del sistema Panther devuelve un único resultado clínicamente validado para cada muestra.

## Resumen de seguridad y rendimiento

El SSP (resumen de seguridad y rendimiento) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de productos (Basic UDI-DI). Para localizar el SSP del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, consulte el identificador único del producto básico (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

## Advertencias y precauciones

- A. Para uso diagnóstico *in vitro*.
- B. Para uso profesional.
- C. El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx no está concebido para utilizarse como una prueba de cribado para la presencia de HIV-1 en la sangre donada.
- D. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion™* antes de realizar este ensayo.

## Información para los laboratorios

- E.  **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 FDA estadounidense. Además, el plasma es no reactivo para ARN de HCV y ARN del 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 debe manipularse de acuerdo con las precauciones universales (33-35).
- F. Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y en la manipulación de material potencialmente infeccioso. Si se produce algún vertido, desinfecte inmediatamente el lugar siguiendo los procedimientos adecuados del centro.
- G. Utilice únicamente el instrumental de laboratorio desechable suministrado o especificado.

- H. Respete las precauciones habituales del laboratorio. No pipetee con la boca. No coma, beba ni fume en las áreas de trabajo designadas. Utilice guantes desechables sin talco, gafas protectoras y batas de laboratorio al manipular las muestras y los reactivos del kit. Lávese bien las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- I. Las superficies de trabajo, pipetas y otros equipos se deben descontaminar regularmente con solución de hipoclorito de sodio del 2,5 % al 3,5 % (0,35 M a 0,5 M).
- J. Deseche todo el material que haya entrado en contacto con las muestras y los reactivos de acuerdo con la normativa regional (33-36). Limpie a fondo y desinfecte todas las superficies de trabajo.
- K. 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 abundante agua corriente. Se recomienda seguir estas precauciones para evitar la acumulación de depósitos en tuberías de metal, donde pueden darse las condiciones necesarias para una explosión.
- L. Las buenas prácticas estándar para laboratorios moleculares incluyen la vigilancia medioambiental. Para monitorizar el entorno de un laboratorio, se sugiere el siguiente procedimiento.
  1. Obtenga una torunda con punta de algodón y emparejelo con un tubo de alícuotas de muestras (SAT) Aptima®.
  2. Etiquete adecuadamente cada SAT.
  3. Llene cada SAT con 1 mL de diluyente de muestras Aptima®.
  4. Para recoger muestras de la 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 torunda en el tubo y agítela suavemente 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 restantes.
  8. Analice la torunda con un ensayo molecular.

### Información sobre las muestras

- M. Las muestras pueden ser infecciosas. Respete las precauciones universales (33-35) al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos de manipulación y eliminación adecuados según la normativa local (36). Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y en la manipulación de material infeccioso.
- N. 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.

O. 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. 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 pasarlo por encima de los recipientes abiertos. Cambie los guantes si entran en contacto con la muestra.

### Información sobre los ensayos

P. Los resultados cuantitativos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se han evaluado con plasma. No se debe utilizar suero para obtener resultados cuantitativos. Se han evaluado resultados cualitativos tanto con plasma como con suero. El uso de este kit con muestras distintas de aquellas específicamente aprobadas para su uso con el mismo puede generar resultados de prueba inexactos.

Q. El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx fue validado clínicamente utilizando el algoritmo del software del sistema Panther. El resultado validado que se debe informar lo proporciona el software del sistema Panther en la pantalla Resultados y en el informe de Resultados.

R. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.

S. No intercambie, no mezcle ni combine reactivos de ensayo de kits con números de lotes maestros diferentes. Los fluidos del ensayo pueden ser de números de lote diferentes. Los controles y el calibrador pueden ser de números de lote diferentes.

T. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.

U. 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 manipulación y almacenamiento de reactivos y Materiales opcionales* para obtener más información.

V. 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 sistema Panther verifica los niveles de reactivo.

W. Algunos reactivos de este kit están etiquetados con información de peligros.

*Nota: La comunicación de peligros refleja las clasificaciones de las fichas de datos de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener información sobre la comunicación de peligros específica de su región, consulte la SDS específica de la región en la Biblioteca de fichas de datos de seguridad en [www.hologiccsds.com](http://www.hologiccsds.com). Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).*

Información sobre riesgos de la UE	
—	<b>Reactivos de amplificación</b> <i>Cloruro de magnesio 60-65 %</i>
—	H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

—	<b>Reactivos enzimáticos</b> <i>HEPES 1-5 %</i> <i>Triton X-100 1-5 %</i>
—	H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	<b>Solución de reconstitución enzimática</b> <i>Glicerol 20-25 %</i> <i>Triton X-100 5-10 %</i> <i>HEPES 1-5 %</i>
—	H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	<b>Reactivos promotores</b> <i>Cloruro de magnesio 60-65 %</i>
—	H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
—	<b>Reactivos de captura de la diana</b> <i>HEPES 15-20 %</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10 %</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5 %</i> <i>Ácido butanodióico 1-5 %</i>
—	H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.
<b>Kit de controles HIV VL</b> <i>Suero humano/plasma humano 95-100 %</i> <i>Azida de sodio &lt;1 %</i>	
 <b>PELIGRO</b> H300 - Mortal en caso de ingestión. H410 - Muy tóxico para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos. P264 - Lavarse la cara, las manos y las áreas de la piel expuestas concienzudamente tras la manipulación. P273 - Evitar su liberación al medio ambiente. P301 + P310 - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA o a un médico. P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver las instrucciones adicionales de primeros auxilios en esta etiqueta). P330 - Enjuagarse la boca. P391 - Recoger el vertido.	

— **Kit de calibradores HIV VL**  
**HEPES 15–20 %**  
**Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10 %**  
**Lithium Hydroxide Monohydrate 1-5 %**  
**Ácido butanodióico 1-5 %**

— H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P273 - Evitar su liberación al medio ambiente.

P501 - Eliminar el contenido/el recipiente en una planta de eliminación de residuos autorizada.

## Requisitos de manipulación y almacenamiento de reactivos

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

Reactivos	Almacenamiento sin abrir	Kit abierto (reconstituido)	
		Almacenamiento	Estabilidad
Reactivos de amplificación qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución de amplificación qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
Reactivos enzimáticos qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución enzimática qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
Reactivos promotores qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C		
Solución de reconstitución de promotor qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
Reactivos de captura de la diana qHIV-1	Entre 2 °C y 8 °C	2 °C a 8 °C	30 días <sup>a</sup>
CONTROL NC qHIV-1 – (control negativo)	Entre -15 °C y -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 20 horas
CONTROL LPC qHIV-1 + (control positivo bajo)	Entre -15 °C y -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 20 horas
CONTROL HPC qHIV-1 + (control positivo alto)	Entre -15 °C y -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 20 horas
PCAL qHIV-1 (calibrador positivo)	Entre -15 °C y -35 °C	15 °C a 30 °C	Vial de un solo uso Para uso en 20 horas

<sup>a</sup> Al retirarlos del sistema Panther, 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 almacenados en el sistema Panther tienen 72 horas de estabilidad cargados. Los reactivos pueden cargarse en el sistema Panther hasta 8 veces. El sistema Panther registra cada vez que se cargan los reactivos.

D. Tras descongelar el calibrador, la solución debe ser 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 su uso.

## Recogida y almacenamiento de muestras

**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.

**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 mediciones cuantitativas:

- Tubos que contienen anticoagulantes con EDTA o citrato dextrosa ácida (ACD)
- Tubos de preparación de plasma (PPT).

Para determinación cualitativa:

- Tubos con anticoagulantes con EDTA o ACD
- PPT
- Tubos de suero
- Tubos separadores de suero (SST)

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

### A. Recogida de muestras

La sangre total puede conservarse entre 2 °C y 30 °C y debe centrifugarse en las 24 horas posteriores a la recogida de la muestra. 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 sistema Panther en un tubo primario o transferirse a un tubo secundario. 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 el sistema 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

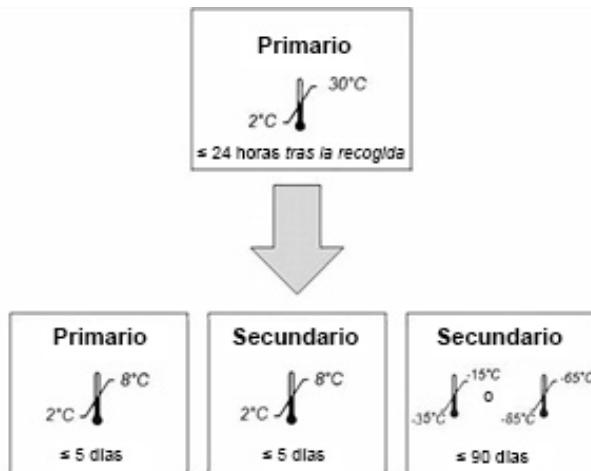
Si no se analiza inmediatamente, el plasma o el suero se puede conservar de acuerdo con las especificaciones definidas a continuación. Si se transfiere a un tubo secundario, el plasma se puede congelar a -20 °C o -70 °C y el suero se puede congelar a -20 °C. No supere los tres ciclos de congelación-descongelación para no 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

Hasta 24 horas después de la recogida de la muestra, los tubos primarios que contienen plasma centrifugado se pueden almacenar entre 2 °C y 30 °C (Figura 1, cuadro superior). Despues de 24 horas, el plasma se puede almacenar durante un periodo de tiempo más largo bajo una de las siguientes condiciones (Figura 1, cuadros 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.
- En el tubo secundario, a -20 °C o -70 °C durante un máximo de 90 días.



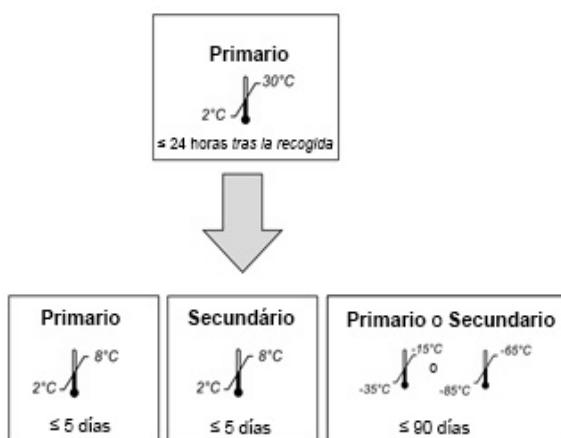
**Figura 1. Condiciones de almacenamiento para tubos con EDTA/ACD**

### 2. Muestras en PPT

Hasta 24 horas después de la recogida de la muestra, los PPT que contienen plasma centrifugado se pueden almacenar entre 2 °C y 30 °C (Figura 2, cuadro superior).

Despues de 24 horas, el plasma se puede almacenar durante un periodo de tiempo más largo bajo una de las siguientes condiciones (Figura 2, cuadros 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.
- En el PPT o en el tubo secundario, a -20 °C o -70 °C durante un máximo de 90 días.

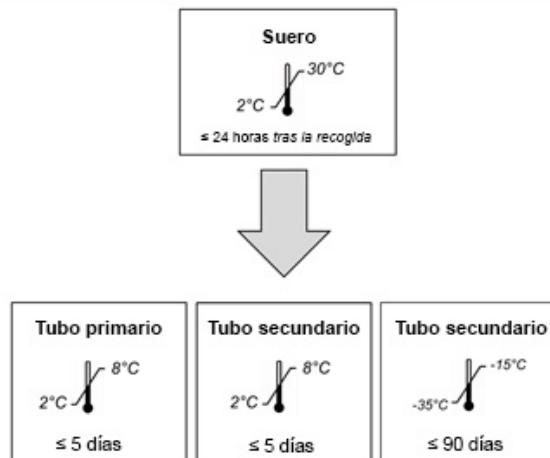


**Figura 2. Condiciones de almacenamiento para PPT**

### 3. Muestras en tubos de suero

Hasta 24 horas después de la recogida de la muestra, los tubos de suero que contienen suero centrifugado se pueden almacenar entre 2 °C y 30 °C (Figura 3, cuadro superior). Después de 24 horas, el suero se puede almacenar durante un periodo de tiempo más largo bajo una de las siguientes condiciones (Figura 3, cuadros 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.
- En el tubo secundario a -20 °C durante un máximo de 90 días.

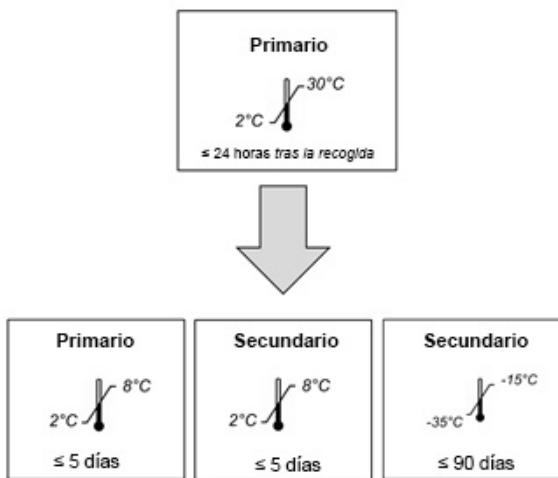


**Figura 3. Condiciones de almacenamiento para tubos de suero**

### 4. Muestras en SST

Hasta 24 horas después de la recogida de la muestra, los SST que contienen suero centrifugado se pueden almacenar entre 2 °C y 30 °C (Figura 4, cuadro superior). Después de 24 horas, el suero se puede almacenar durante un periodo de tiempo más largo bajo una de las siguientes condiciones (Figura 4, cuadros 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.
- En el tubo secundario a -20 °C durante un máximo de 90 días.



**Figura 4. Condiciones de almacenamiento para SST**

### C. Dilución de muestras de plasma

**Nota:** Una muestra de plasma puede diluirse en el SAT o en un tubo secundario para su análisis en el sistema Panther. Para obtener más información, consulte la sección *Procedimiento de prueba del sistema Panther, paso E.4.*

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



**Nota:** La dilución de muestras de plasma solo se puede utilizar para obtener resultados cuantitativos. No diluya las muestras de plasma para obtener resultados de diagnóstico.

### Muestras almacenadas en el sistema Panther

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

### Transporte de las muestras

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

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

## Sistema Panther

Los reactivos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx para su uso con el sistema Panther, se indican a continuación. Los símbolos de identificación de los reactivos también se indican junto al nombre del reactivo.

### Reactivos y materiales suministrados

#### Kit de ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx

100 pruebas (1 kit de ensayo, 1 kit de calibrador y 1 kit de controles) (n.º de cat. PRD-03000)

Se puede realizar el pedido de calibradores y controles adicionales por separado.  
Consulte los números de catálogo correspondientes a continuación.

#### Kit de ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx (conservar entre 2 °C y 8 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad
A	<b>Reactivo de amplificación qHIV-1</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
E	<b>Reactivo enzimático qHIV-1</b> <i>Transcriptasa inversa y ARN polimerasa desecadas en solución de tampón HEPES.</i>	1 vial
PRO	<b>Reactivo promotor qHIV-1</b> <i>Ácidos nucleicos no infecciosos desecados en solución de tampón.</i>	1 vial
AR	<b>Solución de reconstitución de amplificación qHIV-1</b> <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 7,2 mL
ER	<b>Solución de reconstitución enzimática qHIV-1</b> <i>Solución de tampón HEPES con un surfactante y glicerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	<b>Solución de reconstitución del promotor qHIV-1</b> <i>Solución acuosa con glicerol y conservantes.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	<b>Reactivo de captura de la diana 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>Anillos de reconstitución</b>	3
	<b>Hoja de códigos de barras del lote maestro</b>	1 hoja

**Kit de calibrador Aptima HIV-1 Quant Dx (n.º de cat. PRD-03001)**  
 (conservar entre -15 °C y -35 °C tras la recepción)

Símbolo	Componente	Cantidad
PCAL	<b>Calibrador positivo qHIV-1</b> <i>Tránsrito 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 (n.º de cat. PRD-03002)**  
 (conservar entre -15 °C y -35 °C tras la recepción)

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>ARN protegido 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>ARN protegido 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>	—

## Material necesario que debe adquirirse por separado

*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.
Sistema Panther	303095
Sistema Panther Fusion	PRD-04172
Desechos y fluidos continuos del sistema Panther (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de Calibrador Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Kit de controles Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Kit del sistema Panther™ para ensayos en tiempo real (solo para ensayos en tiempo real)	PRD-03455 (5000 pruebas)
Kit de fluidos del ensayo Aptima® (también denominado Kit de fluidos universales) 303014 (1000 pruebas) <i>Contiene solución de lavado Aptima®, tampón para fluido de desactivación Aptima® y reactivo de aceite Aptima®</i>	
Unidades multitungo (MTU)	104772-02
Juego de bolsas de desechos Panther™	902731
Tapa del recipiente de desechos Panther™	504405
O bien, kit del sistema Panther™ <i>(cuando se procesan ensayos TMA que no son en tiempo real junto a ensayos TMA en tiempo real) contiene MTU, bolsas para desechos, tapas del recipiente de desechos y fluidos del ensayo</i>	303096 (5000 pruebas)
Puntas, 1000 µL con filtro, conductoras, detectoras de líquido y desechables <i>No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Para obtener información específica sobre la región, póngase en contacto con su representante</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Lejía, solución de hipoclorito de sodio del 5 % al 8,25 % (de 0,7 M a 1,16 M)	—
Guantes desechables sin talco	—
Tapones de repuesto para reactivos <i>Frascos de reconstitución de reactivos de amplificación, enzimático y promotor</i> <i>Frasco de TCR</i>	CL0041 (100 tapones) CL0040 (100 tapones)
Cubiertas de encimeras de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Opciones de tubo de recogida primario (con EDTA, ACD, PPT, SST, suero):	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrífuga	—
Mezclador vórtex	—

## Materiales opcionales

Material	N.º de cat.
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)	FAB-18184
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100)	504415
Tapón para SAT	
Diluyente de muestras Aptima	PRD-03003
Kit de diluyente de muestras Aptima	PRD-03478
Contiene diluyente de muestras, 100 SAT y 100 tapones	
Pipetas de transferencia	—
Paneles comerciales, por ejemplo:	—
HIV-1 de Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) o Panel de control de carga viral del HIV del Colegio Estadounidense de Patólogos (CAP) o Paneles SeraCare ACCURUN HIV	
Torundas con puntas de algodón	—
Balancín para tubos	PRD-03488

## Procedimiento de prueba del sistema Panther

*Nota: Consulte el Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion para obtener más información sobre los procedimientos.*

### A. Preparación del área 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 a 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 permita 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 cubiertas absorbentes limpias con forro de plástico para mesas de laboratorio.
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 descongela 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 descongela 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 sistema Panther.

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 y preparación de reactivos de un nuevo kit

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

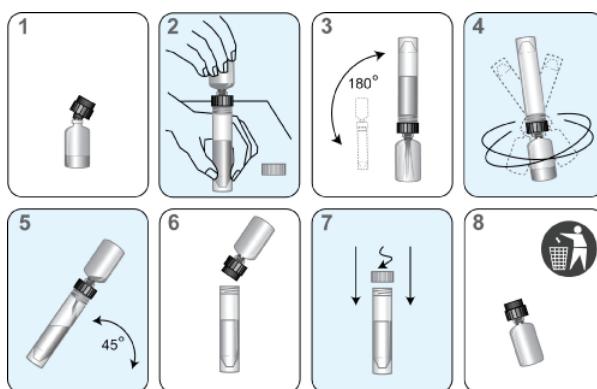
1. Para preparar reactivo de captura (Target Capture Reagent, TCR), haga lo siguiente:
  - a. Retire el TCR de su almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Asegúrese de que el número de lote del frasco de TCR coincida con el número de lote de la hoja de códigos de barras del lote maestro.
  - b. Agite de inmediato y enérgicamente el frasco de TCR 10 veces. Deje que el frasco de TCR permanezca entre 15 °C y 30 °C para que se atempere 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 de su almacenamiento (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 atempere durante un mínimo de 45 minutos

2. Asegúrese de que todo el precipitado esté en la solución y que las partículas magnéticas estén suspendidas antes de su 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 de su almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Empareje cada solución de reconstitución con su reactivo liofilizado.
  - 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 se han emparejado los reactivos adecuados.
    - i. Abra el vial de reactivo liofilizado retirando el precinto metálico y el tapón de goma.
    - ii. Inserte firmemente el extremo ranurado del anillo de reconstitución (negro) en el vial (Figura 5, paso 1).

- iii. Abra la botella de la solución de reconstitución correspondiente y ponga el tapón sobre una superficie de trabajo cubierta y limpia.
- iv. Ponga el frasco de solución de reconstitución sobre una superficie estable (p. ej., una encimera). A continuación, invierta el vial de reactivo liofilizado sobre el frasco de solución de reconstitución y acople firmemente el anillo 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 en el interior del vial de cristal hacia delante y hacia atrás para mezclarla bien.
- c. Incline 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 anillo de reconstitución y el vial de vidrio (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 sistema Panther.



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

D. Preparación de los reactivos previamente reconstituidos

1. Saque los reactivos previamente preparados de su almacenamiento (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.  
**Opción:** Los reactivos previamente preparados puede prepararse en un balancín para tubos siguiendo estas instrucciones: Saque los reactivos de su almacenamiento (entre 2 °C y 8 °C). Ponga los reactivos en un balancín para tubos y déjelos entre 15 °C y 30 °C para que se atemperen durante un mínimo de 30 minutos.
5. No rellene los frascos de reactivo. El sistema Panther reconocerá y rechazará las botellas que se hayan llenado.

#### E. Manipulación de las 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 almacenamiento de muestras*.
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 procesarlas. Consulte *Muestras almacenadas en el sistema Panther* 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 y almacenamiento de muestras* 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.5 descrito más abajo para obtener más información.
5. 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.



**Nota:** La dilución de muestras de plasma solo se puede utilizar para obtener resultados cuantitativos. No diluya las muestras de plasma para obtener resultados de diagnóstico.

**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 un 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 sistema Panther (consulte el *Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion* 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 el SAT o en el 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 sistema Panther (consulte el *Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion* 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.

6. Justo antes de cargar las muestras en una gradilla de muestras, centrifugue cada muestra entre 1000 y 3000g durante 10 minutos. No retire los tapones. La presencia de burbujas en el tubo puede afectar a la detección del nivel por parte del sistema Panther.

Consulte la *Preparación del sistema*, paso F.2 más abajo, para obtener información sobre la carga de la gradilla y la retirada de los tapones.

F. Preparación del sistema

1. Prepare el sistema de acuerdo con las instrucciones del *Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion* y las *Notas de procedimiento*. Asegúrese de utilizar las gradillas para reactivos y los adaptadores de TCR del tamaño adecuado.

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

a. Afloje el tapón del tubo de muestras, pero no lo retire aún.

**Nota:** Tenga especial cuidado para evitar la contaminación por la difusión de aerosoles. Afloje ligeramente los tapones de los tubos de muestras.

b. Cargue el tubo de muestras en la gradilla de muestras.

c. Repita los pasos a y b para cada muestra restante.

d. Una vez cargadas las muestras en la gradilla de muestras, retire y deseche los tapones de todos los tubos de muestras. Para evitar la contaminación, no pase ningún tapón sobre otras gradillas o tubos de muestras.

e. Si es necesario, utilice una pipeta de transferencia desechable nueva para eliminar las burbujas o la espuma.

f. Cuando haya retirado el último tapón, cargue la gradilla en un compartimento de muestras.

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

g. Repita los pasos del a al f para la siguiente gradilla de muestras.

## Notas de 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 y en cualquier carril del compartimento de muestras del sistema Panther. El pipeteo de las muestras comenzará cuando se cumpla una de las dos siguientes condiciones:
  - a. El sistema esté 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 se estén procesando para el kit de reactivos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, 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 de ensayo asociado.
  - c. El kit de reactivos de ensayo asociado haya excedido los límites de estabilidad.
3. Los calibradores y controles solo se puede utilizar una vez. Los intentos de pipetear más de una vez del tubo pueden dar lugar a errores de procesamiento.

### B. Polvo de guantes

Como sucede en cualquier sistema de reactivos, el exceso de polvo en algunos guantes puede ser causa de contaminación de los tubos abiertos. Se recomienda utilizar guantes sin polvo.

## Control de calidad

Los usuarios pueden invalidar resultados de ciclos o muestras si observan y documentan dificultades técnicas, relacionadas con el usuario o con 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 sistema Panther. Una vez establecida la calibración, será válida durante un máximo de 24 horas. El software del sistema Panther 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 sistema Panther verifica automáticamente los criterios de validación 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 calibradores 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 sistema Panther. Una vez establecidos los controles, serán válidos durante un máximo de 24 horas. El software del sistema Panther avisa al usuario cuando se requieren controles.

Durante el procesamiento, el software del sistema Panther verifica automáticamente los criterios de validación 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 (LPC de la diana:  $\sim 3 \text{ Log}_{10}$  copias/mL, HPC de la diana:  $\sim 5 \text{ Log}_{10}$  copias/mL). 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 calibradores 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 sistema Panther verifica automáticamente los criterios de validación 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 sistema Panther se ha diseñado para verificar con exactitud los procesos cuando los procedimientos se realizan según las instrucciones indicadas en este prospecto y el *Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion*.

## Interpretación de resultados

**Nota:** Los resultados cuantitativos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se han evaluado con plasma. No se debe utilizar suero para obtener resultados cuantitativos. Se han evaluado resultados cualitativos tanto con plasma como con suero.

El sistema Panther determina automáticamente la concentración de ARN de HIV-1 en muestras y controles comparando los resultados con una curva de calibración. Las concentraciones de ARN del HIV-1 se informan en copias/mL y  $\log_{10}$  copias/mL. La interpretación de los resultados se indica en la Tabla 1. El ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx tiene sistemas de detección y amplificación de doble diana, dirigidos a pol y LTR de forma independiente. El resultado notificado por el sistema se basará en el sistema primario (pol), a menos que pol no esté amplificado. En estos casos, el sistema notificará el resultado del sistema secundario (LTR).

Si se utiliza la dilución 1:3 o 1:100 para las muestras diluidas, el sistema Panther 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 "Detectado <30" se pueden generar diluyendo una muestra con una concentración superior, pero cercana, al LDD (límite de detección) o LIDC (límite inferior de cuantificación). Si no se obtiene un resultado cuantitativo, se recomienda recoger y analizar otra muestra sin diluir.

El sistema Panther no ofrece un resultado cualitativo (esto es, "reactivo" o "no reactivo") para uso diagnóstico. El usuario debe interpretar la concentración de ARN de HIV-1 notificada para generar un resultado cualitativo (Tabla 1). Las muestras con resultados indicados como «no detectado» son no reactivas para ARN de HIV-1. Las muestras con resultados indicados como "Detectado <30" o las muestras con resultados dentro y por encima del rango lineal indican que se detectó ARN de HIV-1 y estas muestras son reactivas para ARN de HIV-1.

Tabla 1: Interpretación de resultados

Resultado notificado del ensayo		Interpretación de la concentración de ARN de HIV-1	Interpretación cualitativa diagnóstica del usuario <sup>c</sup>
Aptima HIV-1 Quant Dx	Copias/mL <sup>a</sup>		
Valor Log <sub>10</sub> <sup>b</sup>			
No detectado	No detectado	RNA de HIV-1 no detectado.	No reactivo para ARN de HIV-1
Detectado <30	<1,47	Se detecta ARN de HIV-1, pero a un nivel inferior al límite inferior de cuantificación (LIDC)	Reactivo para ARN de HIV-1
30 a 10 000 000	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 ARN de HIV-1
>10 000 000	>7,00	La concentración de ARN de HIV-1 está por encima del límite superior de cuantificación (LSDC).	Reactivo para ARN de HIV-1
No válido <sup>d</sup>	No válido <sup>d</sup>	Hubo un error en la generación del resultado. Es necesario volver a analizar la muestra.	No válido <sup>d</sup>

<sup>a</sup> El factor de conversión de copias a unidades internacionales (IU) para la tercera norma internacional para ARN de HIV-1 (10/152) es de 0,35 copias/IU.

<sup>b</sup> El valor se trunca a dos decimales.

<sup>c</sup> No se debe hacer una interpretación diagnóstica a partir de un resultado "No reactivo" para muestras que se han diluido. Obtenga una nueva muestra sin diluir y vuelva a realizar la prueba.

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

Una vez que los resultados estén disponibles en la pantalla Resultados, se puede acceder al valor de cuantificación de cada diana mediante la función Informe de curva de muestra en el software del sistema Panther. Para ver los valores y las curvas de amplificación, seleccione ID de muestra para la muestra en la pantalla Resultados del software del sistema Panther.

A continuación, seleccione el botón “Datos de curvas”. Se abre una ventana que contiene el Informe de curvas de las muestras, que incluye los perfiles de fluorescencia y los valores de cuantificación de la muestra.

**Nota:** Los datos obtenidos del Informe de curvas de las muestras se proporcionan únicamente con fines informativos (p. ej., resolución de problemas y verificación de curvas). El resultado validado que se informará para la muestra lo proporciona el software del sistema Panther en la pantalla Resultados y en el informe de Resultados.

**Nota:** Consulte el Manual del usuario del sistema Panther/Panther Fusion para obtener más información sobre el funcionamiento del sistema Panther.

Los criterios de validación para cada uno de los controles del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se describen en la Tabla 2.

**Nota:** El rango de recuperación que se indica a continuación cambia según el valor asignado a cada lote específico. Consulte la concentración asignada que aparece en la hoja de códigos de barras de control incluida con cada caja de control.

Tabla 2: Criterios de validación para el rango de recuperación del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx

Componente	Rango de recuperación para ciclos válidos
Control negativo	ND
Control positivo bajo	+/- 0,5 $\log_{10}$ copias/mL
Control positivo alto	+/- 0,5 $\log_{10}$ copias/mL

## 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. La obtención de resultados fiables depende de la adecuación de la recogida, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras.
- C. Este ensayo se ha validado para su uso como ensayo cuantitativo solo con plasma humano con EDTA y ACD.
- D. Este ensayo se ha validado para su uso como ensayo cualitativo con suero y plasma humanos con EDTA y ACD.
- E. Aunque es raro, las mutaciones en las regiones muy conservadas del genoma viral de los cebadores y/o sondas en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx pueden dar como resultado una menor cuantificación o la imposibilidad de detectar el virus.
- F. Este ensayo no ha sido validado para su uso en pacientes sometidos a terapias basadas en vectores lentivirales, como la terapia con células CAR-T. Las regiones potencialmente superpuestas del genoma viral cubiertas por los cebadores y/o sondas en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx pueden dar lugar a la amplificación de los vectores lentivirales utilizados en terapias basadas en vectores lentivirales.

## Rendimiento analítico

### Límite de detección (LDD) utilizando la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1

El límite de detección (LDD) se define como la concentración de ARN del HIV-1 que se detecta con una probabilidad del 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI (37).

El LDD se determinó mediante el análisis de paneles formados por diluciones de la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1 (subtipo B, código NIBSC: 10/152) en plasma y suero con EDTA negativo para HIV-1. Se analizaron treinta réplicas de cada dilución en tres sistemas Panther con tres lotes de reactivos para un total de 90 réplicas por dilución. Según el documento EP17-A2 del CLSI, los LDD se definieron utilizando los resultados del lote de reactivos con la concentración más alta para el LDD previsto y se muestran en la Tabla 3.

Mediante el análisis Probit, el límite de detección previsto del 95 % para el LDD en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx es de 12 copias/mL (35 IU/mL) en plasma y 8,9 copias/mL (25 IU/mL) en suero (0,35 copias = 1 IU).

Tabla 3: Límite de detección del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx utilizando la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1

Previsto Límite de detección	Plasma		Suero	
	Concentración (copias/mL)	Concentración (IU/mL)	Concentración (copias/mL)	Concentración (IU/mL)
10 %	1,2	3,3	0,8	2,2
20 %	1,6	4,6	1,1	3,1
30 %	2,0	5,7	1,4	4,0
40 %	2,5	7,2	1,7	4,9
50 %	3,1	8,8	2,1	5,9
60 %	3,8	11	2,5	7,2
70 %	4,8	14	3,1	8,9
80 %	6,2	18	4,0	11
90 %	9,0	26	5,8	17
95 %	12,1	35	8,9	26

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

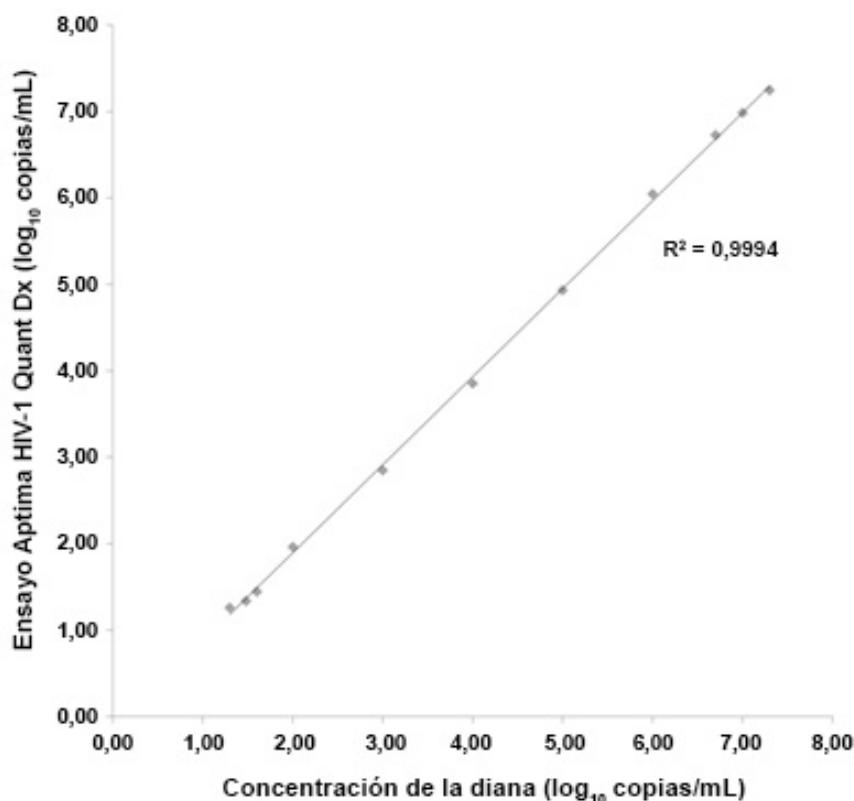
Para el grupo M de HIV-1 (subtipos A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) y los grupos N y O, se crearon seis paneles positivos y un panel negativo mediante el enriquecimiento de plasma y suero humanos con EDTA negativos para HIV-1 con virus de HIV-1 cultivado o muestras clínicas positivas (de 0 a 40 copias/mL). Cada muestra del panel se analizó en 30 réplicas con dos lotes de reactivos para un total de 60 réplicas por muestra del panel. La asignación de la concentración para muestras clínicas o reservas de virus cultivados se determinó mediante un ensayo de comparación. Se realizó un análisis probit para generar el 50 % y el 95 % de los límites de detección previstos. Según el documento EP17-A2 del CLSI (37), los LDD se definieron utilizando los resultados del lote de reactivos con la concentración más alta para el límite de detección previsto definido como LDD, como se muestra en la Tabla 4.

Tabla 4: Límite de detección en subtipos y grupos de HIV-1

Subtipo/Grupo	Límite de detección previsto	Plasma	Suero
		Concentración (copias/mL)	Concentración (copias/mL)
A	50 %	3,0	4,0
	95 %	11,5	14,5
CRF01_AE	50 %	1,5	4,5
	95 %	4,5	15,7
CRF02_AG	50 %	3,8	4,3
	95 %	15,1	14,3
C	50 %	2,0	4,1
	95 %	9,8	16,7
D	50 %	4,2	3,7
	95 %	13,8	15,2
F	50 %	2,4	4,9
	95 %	8,9	15,0
G	50 %	3,5	2,5
	95 %	15,7	6,5
N	50 %	1,4	2,1
	95 %	6,1	5,9
O	50 %	1,9	6,5
	95 %	6,5	27,2

## Rango lineal

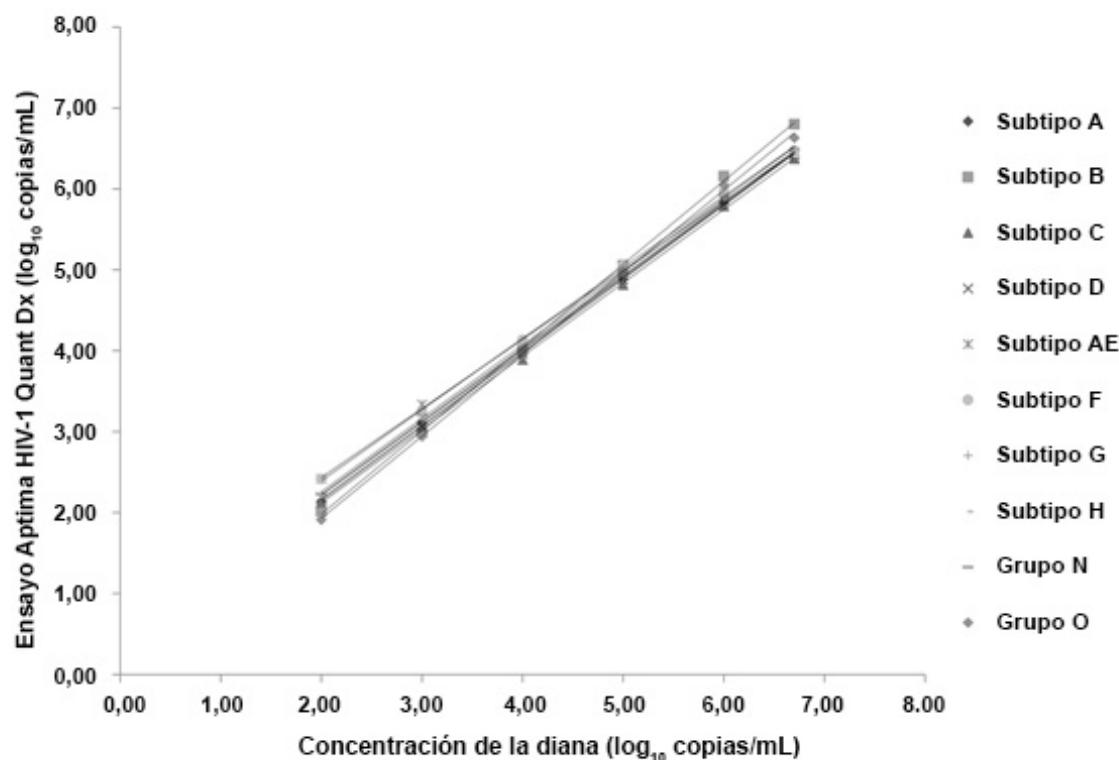
El rango lineal del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se estableció mediante el análisis de paneles formados por diluciones de virus HIV-1 subtipo B cultivado en plasma humano con EDTA negativo para HIV-1, según el documento EP06-A del CLSI (38). Las concentraciones de los paneles oscilaron entre 1,30 y 7,30  $\log_{10}$  copias/mL. Los análisis se realizaron en siete sistemas Panther con dos lotes de reactivos. Como se muestra en la Figura 6, el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx mostró linealidad en todo el rango analizado.



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

## Linealidad en subtipos y grupos del HIV-1

La respuesta lineal del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en el grupo M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) y los grupos N y O se confirmó mediante el análisis de paneles formados por diluciones de tránscritos de HIV-1 en tampón a concentraciones entre 2,00 y 6,70  $\log_{10}$  copias/mL. Los análisis se realizaron en cuatro sistemas Panther y en seis ciclos. Se demostró linealidad en todo el rango analizado (Figura 7).



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

## Determinación del límite inferior de cuantificación utilizando la 3a norma internacional de la OMS para HIV-1

El límite inferior de cuantificación (LIDC) se define como la concentración más baja en la que se puede cuantificar el ARN de HIV-1 de forma fiable dentro de un error total (TE), según el documento EP17-A2 del CLSI (37). El TE se calculó a través del modelo Westgard ( $TE = |Sesgo| + 2DE$ ). Para garantizar la exactitud y precisión de las mediciones, el TE del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se estableció en 1  $\log_{10}$  copias/mL (es decir, en el LIDC, la diferencia entre dos mediciones de más de 1  $\log_{10}$  copias/mL es estadísticamente significativa).

El LIDC se determinó mediante el análisis de paneles formados por diluciones de la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1 (subtipo B, código NIBSC: 10/152) en plasma humano con EDTA 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 de 23 ciclos. Los resultados se muestran en la Tabla 5. El LIDC más alto en los tres lotes analizados en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx utilizando la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1 es 15 copias/mL (1,17  $\log_{10}$  copias/mL) (Tabla 6).

Tabla 5: Determinación del LIDC del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx utilizando la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1

Lote de reactivo	Concentración de la diana ( $\log_{10}$ copias/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx ( $\log_{10}$ copias/mL)	DE ( $\log_{10}$ copias/mL)	$ Sesgo $ ( $\log_{10}$ copias/mL)	TE calculado ( $\log_{10}$ 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; TE=error total.

Tabla 6: Resumen del LIDC utilizando la 3<sup>a</sup> norma internacional de la OMS para HIV-1 (3 lotes de reactivos)

Lote de reactivo	LIDC ( $\log_{10}$ copias/mL)	LIDC (copias/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

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

El LIDC en todos los subtipos y grupos de HIV-1 se verificó siguiendo el documento EP17-A2 del CLSI (37). Se elaboraron paneles para cada grupo M de HIV-1 (subtipos A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) y para los grupos N y O mediante el enriquecimiento de plasma humano con EDTA negativo para HIV-1 con muestras clínicas infectadas de forma natural o aislados clínicos. Los análisis estaban formados por un total de 30 réplicas por muestra del panel. Los datos en la Tabla 7 indican la concentración más baja para cada subtipo o grupo en la que el TE fue inferior a 1  $\log_{10}$  copias/mL. El LIDC más alto para todos los subtipos y grupos analizados fue de 30 copias/mL. Por lo tanto, este valor más alto se seleccionó como LIDC del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx (Tabla 7).

Tabla 7: 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 ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, tres usuarios analizaron un panel que se creó mediante el enriquecimiento de plasma con EDTA negativo para HIV-1 con virus HIV-1 subtipo B cultivado utilizando tres lotes de reactivos en tres sistemas Panther durante 20 días (Tabla 8). El panel estaba formado por una muestra del panel negativa para HIV-1 y ocho muestras del panel positivas para HIV-1. La asignación de la concentración para muestras clínicas o reservas de virus cultivados se determinó mediante un ensayo de comparación.

Tabla 8: Precisión del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx

Número de réplicas válidas	Concentración media ( $\log_{10}$ copias/mL)	Entre instrumentos		Entre usuarios		Entre lotes		Entre ciclos		Intracírculo		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.

a 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, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña. Cuando esto ocurre, DE = 0 y CV = 0 %. El número total de réplicas analizadas fue 162 para cada panel; solo se analizaron réplicas con un valor numérico.

## Sustancias endógenas y exógenas potencialmente interferentes

Se evaluó la susceptibilidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx a la interferencia causada por niveles elevados de sustancias endógenas y de medicamentos comúnmente recetados a personas infectadas por el HIV-1. Se analizaron muestras de plasma humano con EDTA negativas para HIV-1 y muestras enriquecidas con HIV-1 a una concentración de  $3 \log_{10}$  copias/mL de RNA de HIV-1.

No se observaron interferencias en el rendimiento del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx 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 observó ninguna interferencia en el rendimiento del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en presencia de las sustancias exógenas indicadas en la Tabla 9 a concentraciones de al menos tres veces la  $C_{max}$  (plasma humano).

Tabla 9: Sustancias exógenas

Grupo de sustancias exógenas	Sustancias exógenas analizadas
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, mesilato de nelfinavir, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapina, efavirenz, rilpivirina, claritromicina, anfotericina B
3	Tenofovir disoproxil fumarato, adefovir dipivoxil, ribavirina, enfuvirtida, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Sulfato de abacavir, didanosina, zidovudina, lamivudina, estavudina, entecavir, telbivudina, emtricitabina
5	Paroxetina HCl, fluoxetina, sertralina
6	Ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, rifampicina, etambutol
7	Ciprofloxacina, azitromicina, amoxicilina, cefalexina, ampicilina, trimetoprima
8	Clorhidrato de valganciclovir, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Interferón pegilado alfa-2b, interferón alfa-2a, interferón alfa-2b
10	Heparina, EDTA, citrato de sodio
11	Tipranavir
12	Isoniazida

En la Tabla 10, se indican las muestras clínicas de plasma con EDTA (procedentes de pacientes con niveles elevados de las sustancias definidas o de pacientes con las enfermedades indicadas) que se analizaron con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, con y sin la presencia de 3 log<sub>10</sub> copias de ARN de HIV-1. No se observó ninguna interferencia en el rendimiento.

Tabla 10: Tipos de muestras clínicas analizadas

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

## Rendimiento con muestras negativas para HIV-1

La especificidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se determinó utilizando 120 muestras de plasma con EDTA negativas para HIV-1 sin congelar y 510 congeladas. No se detectó ARN de HIV-1 en las 630 muestras (especificidad del 100 %; IC del 95 %: 99,4-100%) (Tabla 11).

Tabla 11: Especificidad en muestras de plasma

	Plasma reciente	Plasma congelado	Todas
<b>Réplicas válidas (n)</b>	120	510	630
<b>No reactivo</b>	120	510	630
<b>Especificidad (IC del 95 %)</b>	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)

IC=Intervalo de confianza

## Contaminantes microbianos potencialmente interferentes

Se evaluó la posible reactividad cruzada a patógenos (Tabla 12) en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en presencia o ausencia de 3 log<sub>10</sub> copias/mL de ARN de HIV-1 en plasma humano con EDTA negativo para HIV-1. No se observó ninguna interferencia en el rendimiento del ensayo en presencia de los patógenos.

Tabla 12: Patógenos analizados para detectar reactividad cruzada

Patógeno	Concentración
<b>Virus de la hepatitis A</b>	100 000 PFU/mL <sup>a</sup>
<b>Virus de la hepatitis B</b>	100 000 IU/mL <sup>b</sup>
<b>Virus de la hepatitis C</b>	100 000 IU/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>	5500 UFP/mL
<b>Virus linfotrópico de células T humanas (HTLV)</b>	100 000 vp/mL <sup>c</sup>
<b>Virus del Nilo occidental</b>	100 000 copias/mL
<b>Parvovirus B19</b>	100 000 IU/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 CFU/mL <sup>d</sup>
<b><i>Propionibacterium acnes</i></b>	1 000 000 CFU/mL
<b><i>Staphylococcus epidermidis</i></b>	1 000 000 CFU/mL
<b><i>Neisseria gonorrhoeae</i></b>	1 000 000 CFU/mL
<b><i>Chlamydia trachomatis</i></b>	300 000 IFU/mL <sup>e</sup>
<b><i>Candida albicans</i></b>	1 000 000 CFU/mL

<sup>a</sup> PFU/mL = unidades formadoras de placas por mL.<sup>b</sup> IU/mL = Unidades internacionales por mL.<sup>c</sup> vp/mL= partículas virales por mL.<sup>d</sup> CFU/mL = unidades formadoras de colonias por mL.<sup>e</sup> IFU/mL = unidades formadoras de inclusión por mL.

## Repetibilidad de las muestras clínicas

Se analizaron diez muestras clínicas de plasma con EDTA y diez muestras de suero en tres réplicas utilizando el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. La concentración promedio y la desviación estándar (DE) se muestran en la Tabla 13 y en la Tabla 14.

Tabla 13: Repetibilidad de las muestras clínicas de plasma

Muestra	Plasma	
	Concentración media ( $\log_{10}$ 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

DE = desviación estándar

Tabla 14: Repetibilidad de las muestras clínicas de suero

Muestra	Suero	
	Concentración media ( $\log_{10}$ copias/mL)	DE
1	1,68	0,10
2	2,44	0,19
3	3,08	0,03
4	3,37	0,06
5	4,05	0,04
6	4,55	0,06
7	5,06	0,04
8	5,49	0,05
9	6,28	0,02
10	6,79	0,04

DE = desviación estándar

## Dilución de muestras utilizando diluyente de muestras

Para evaluar la dilución de las muestras, se analizó por triplicado un panel formado por 11 muestras con concentraciones que abarcaban el rango lineal del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y dos muestras por encima del LSDC del ensayo, puras y diluidas (con diluyente de muestras a 1:3 o 1:100) (Tabla 15).

Tabla 15: Dilución de la muestra

Dilución	Concentración media sin diluir ( $\log_{10}$ copias/mL)	Concentración media notificada <sup>a</sup> ( $\log_{10}$ 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
1:100	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 sistema Panther después de aplicar el factor de dilución.

<sup>b</sup> Muestra enriquecida.

<sup>c</sup> Todos los resultados >7,00  $\log_{10}$  copias/mL se calcularon mediante análisis adicionales.

## Contaminación por arrastre

Para establecer que el sistema Panther reduce al mínimo el riesgo de resultados falsos positivos provocados por contaminación de arrastre, se realizó un estudio analítico de varios ciclos utilizando paneles enriquecidos en dos sistemas Panther. La contaminación por arrastre se evaluó utilizando muestras enriquecidas con HIV-1 de título alto ( $7 \log_{10}$  copias/mL) entremezcladas con muestras negativas para HIV-1 en un patrón de tablero de ajedrez. Los análisis se realizaron en cinco ciclos. La proporción de arrastre total fue del 0 % (n=469).

## Panel de seroconversión

Se analizaron cincuenta y nueve conjuntos de paneles de seroconversión de HIV-1, que constaban de 204 muestras, con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Se comparó la detección de ARN de HIV-1 con la detección con pruebas de antígeno p24 y con pruebas de anticuerpos del HIV-1/2. El número de días hasta el primer resultado reactivo utilizando las pruebas del antígeno p24, las pruebas del anticuerpo anti-HIV 1/2 y el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se indican en la Tabla 16. El Aptima HIV-1 Quant Dx Assay detectó ARN 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, respectivamente.

Tabla 16: 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	Antígeno p24 del HIV	Anticuerpo anti-HIV 1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antígeno p24 del HIV	Anticuerpo anti-HIV 1/2	Número de días de detección antes que el antígeno p24 del HIV	Número de días de detección antes que el anticuerpo 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 Mediana</b>	<b>5,58 7</b>	<b>11,16 12</b>

<sup>a</sup> Todas las muestras en este panel fueron no reactivas para el anticuerpo anti-HIV 1/2. El día de la última obtención de muestra se utilizó como "Días hasta el primer resultado reactivo".

El análisis de anticuerpos anti-HIV-1/2 se realizó con la prueba Anti-HIV 1/2 de Abbott, con las siguientes excepciones:

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

El análisis del antígeno p24 del HIV-1 se realizó con la prueba HIV-1 p24 Ag de Coulter, con las siguientes excepciones:

<sup>b</sup> Los paneles PRB974, PRB975 y PRB978 se analizaron con la prueba p24 Ag de BioMerieux.

## Estudio de equivalencia en suero y plasma

Para evaluar la equivalencia, se analizaron conjuntos coincidentes de suero y plasma (25 positivos para HIV-1 y 25 negativos para HIV-1) y 40 muestras enriquecidas con HIV-1 cultivado (50-1 000 000 copias/mL en plasma y suero negativos para HIV-1) con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. La concordancia negativa fue del 100,0 % (IC del 95 %: 97,0%–100,0%). La concordancia positiva fue del 98,4 % (IC del 95 %: 95,4%–99,5 %).

## Estudios de reproducibilidad

### Reproducibilidad en muestras de plasma

La reproducibilidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en muestras de plasma se evaluó en 3 centros externos. Dos usuarios completaron los análisis en cada centro. Cada usuario ejecutó 2 ciclos al día durante 3 días mediante el uso de 3 lotes de reactivos en el transcurso de la prueba. Cada ciclo constó de 3 réplicas de cada muestra del panel.

La reproducibilidad se analizó utilizando muestras del panel formadas por plasma con EDTA negativo para HIV-1. Las muestras del panel positivas se crearon mediante el enriquecimiento de plasma negativo con virus cultivado (HIV-1 subtipo B) en concentraciones que abarcaban el rango lineal del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

En la Tabla 17, se muestra la reproducibilidad y la precisión de los resultados del ensayo para cada muestra del panel positiva entre centros, entre usuarios, entre lotes, entre días, entre ciclos, dentro de cada ciclo y en total. Cuando solo se incluyeron muestras con resultados por encima del límite inferior de cuantificación (LIDC) (es decir, se excluyeron las muestras con resultados por debajo del LIDC), la DE total fue  $\leq 0,2 \log_{10}$  copias/mL para todas las muestras del panel. Cuando se incluyeron todas las muestras con ARN de HIV-1 detectable, los valores de DE total se mantuvieron sin cambios, excepto para la muestra del panel 1, que tuvo una DE total de  $0,3 \log_{10}$  copias/mL.

Para todas las muestras del panel positivas para HIV-1, los valores de concordancia fueron del 100 %. Para la muestra del panel negativa para HIV-1, se analizaron 108 réplicas y no se detectó ARN de HIV-1 en ellas (concordancia negativa = 100 %, puntuación de IC del 95 %: 96,6 % al 100 %).

Tabla 17: Reproducibilidad y precisión del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en el sistema Panther en muestras del panel de plasma positivas

Panel	N <sup>a</sup>	Media Log <sub>10</sub> Copias/mL	Entre centros		Entre operarios		Entre lotes		Entre días		Entre análisis		Dentro de ciclos		Total	
			DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
1	107	1,71 <sup>b</sup>	0,05	2,66	0,07	4,10	0,07	4,09	0,00	0,00	0,17	9,90	0,25	14,62	0,32	18,77
	85 <sup>c</sup>	1,84	0,07	3,51	0,00	0,00	0,02	0,97	0,00	0,00	0,06	3,07	0,17	8,98	0,19	10,17
2	108	2,94	0,08	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	1,49	0,00	0,00	0,11	3,69	0,14	4,83
3	108	3,84	0,07	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,95	0,04	0,98	0,06	1,62	0,11	2,75
4	108	4,94	0,08	1,52	0,00	0,00	0,03	0,57	0,03	0,50	0,05	1,01	0,06	1,18	0,11	2,30
5	108	5,71	0,07	1,26	0,00	0,00	0,01	0,22	0,05	0,85	0,04	0,77	0,07	1,23	0,12	2,11
6	108 <sup>d</sup>	6,71	0,05	0,80	0,00	0,00	0,02	0,32	0,03	0,43	0,07	1,03	0,06	0,85	0,11	1,65

CV=coeficiente de variación, DE=desviación estándar

<sup>a</sup>Número de resultados de pruebas válidos con ARN de HIV-1 detectable.<sup>b</sup>Incluye 22 réplicas notificadas como <1,47 log<sub>10</sub> copias/mL. A esta muestra se le asignó un valor de 1,176 log<sub>10</sub> copias/mL.<sup>c</sup>Número de resultados válidos dentro del rango lineal del ensayo.<sup>d</sup>Incluye una réplica notificada como >7 log<sub>10</sub> copias/mL. A esta muestra se le asignó un valor de 7,18 log<sub>10</sub> copias/mL.**Nota:** La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña (inferior a 0,01). En estos casos, la DE y el CV se muestran como 0.

### Reproducibilidad en muestras de suero

La reproducibilidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en muestras de suero se evaluó en 3 centros externos. Dos usuarios completaron los análisis en cada centro. Cada usuario completó 1 ciclo al día durante 5 días, usando 1 lote de reactivos en el transcurso de la prueba. Cada ciclo constó de 3 réplicas de cada muestra del panel.

La reproducibilidad se analizó utilizando muestras del panel preparadas con suero negativo para HIV-1. Se crearon dos muestras del panel positivas mediante el enriquecimiento de la matriz de suero negativo con virus cultivado (HIV-1 subtipo B) a concentraciones de 3X-5X LDD y 10X LDD.

En la Tabla 18, se muestra la reproducibilidad y la precisión de los resultados del ensayo para cada muestra del panel positiva entre centros, entre usuarios, entre días, entre ciclos, dentro de cada ciclo y en total.

Para todas las muestras del panel positivas para HIV-1, los valores de concordancia fueron del 100 %. Para la muestra del panel negativa para HIV-1, se analizaron 90 réplicas y no se detectó ARN de HIV-1 en 89/90 réplicas (concordancia negativa = 98,9 %, puntuación de IC del 95 %: 94,0 % a 99,8 %).

*Tabla 18: Reproducibilidad y precisión del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en el sistema Panther en muestras del panel de suero positivas*

Panel	N	Valor medio de Log <sub>10</sub> copias/mL	Entre centros		Entre operarios		Entre días		Entre análisis		Dentro de ciclos		Total	
			DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV	DE	%CV
1	90	1,34	0,07	5,41	0,00	0,00	0,04	2,63	0,00	0,00	0,22	16,26	0,23	17,34
2	89	1,95	0,05	2,41	0,02	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	9,67	0,20	10,01

CV = coeficiente de variación log-normal; DE = desviación estándar ( $\log_{10}$  copias/mL).

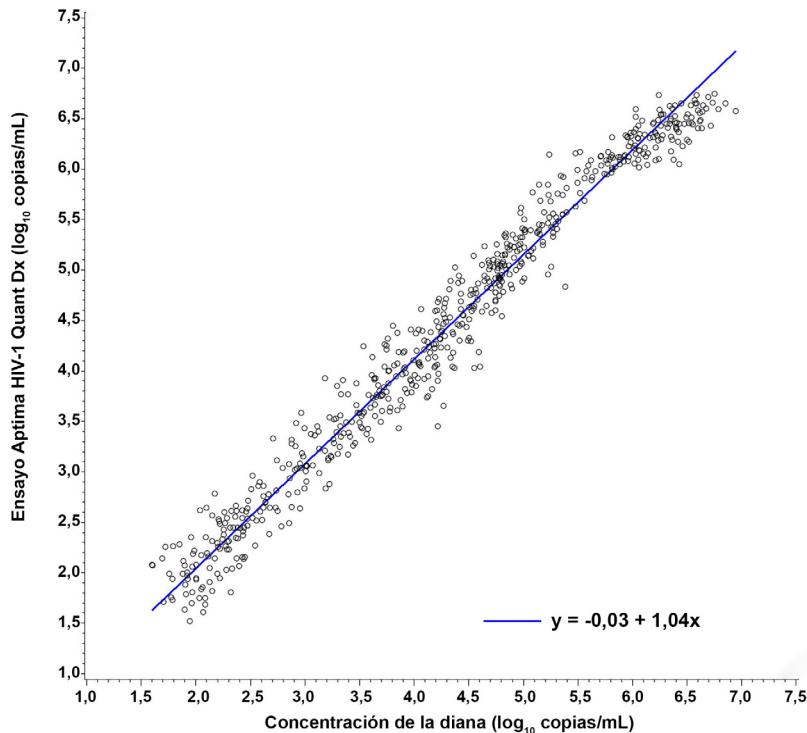
**Nota:** La variabilidad de algunos factores puede ser numéricamente negativa. Esto puede ocurrir si la variabilidad debida a esos factores es muy pequeña. En estos casos, la DE y el CV se muestran como 0,00.

## Rendimiento clínico

### Validación de la cuantificación de la carga viral

La cuantificación del ARN de HIV-1 se comparó entre el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y un ensayo de comparación. El estudio incluyó el análisis de muestras clínicas de plasma con EDTA (almacenadas sin congelar o congeladas) y muestras artificiales (muestras clínicas de plasma negativas enriquecidas con virus cultivado). Cada muestra se analizó por duplicado con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y el ensayo de comparación. Los análisis del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se realizaron en 3 centros externos, y cada centro utilizó 3 lotes de kits de reactivos. Las pruebas de ensayo de comparación se realizaron en 1 laboratorio externo.

Se analizaron 628 conjuntos de muestras coincidentes (dentro del rango lineal de ambos ensayos) creados a partir de 484 sujetos inscritos y 144 muestras artificiales con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y el ensayo de comparación. En la Figura 8, se muestran los resultados del análisis de regresión de Deming ( $y = -0,03 + 1,04x$ ).



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

## Estudios de especificidad clínica

### Especificidad clínica en muestras negativas para HIV-1

Se analizaron muestras de plasma con EDTA negativas para HIV-1 previamente congeladas obtenidas de donantes voluntarios de sangre total con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Los análisis se realizaron con 3 lotes de kits de reactivos en 3 centros externos.

La especificidad clínica se calculó como el porcentaje de muestras negativas para HIV-1 con resultados de "No detectado". Se analizaron 600 muestras de plasma negativas para HIV-1 y no se detectó RNA de HIV-1 en ellas. La especificidad en muestras de plasma negativas fue del 100 % (600/600, puntuación de IC del 95 %: 99,4 % a 100 %).

### Especificidad clínica en población de bajo riesgo

Se analizaron muestras previamente congeladas obtenidas de donantes de sangre por primera vez y de donantes no sanguíneos con bajo riesgo de infección por HIV-1 con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Los análisis se realizaron con 1 lote de kit de reactivos en 1 centro externo. La especificidad clínica se calculó comparando los resultados del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx con los resultados del ensayo NAT.

En la Tabla 19, se muestra la especificidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en una población de bajo riesgo por tipo de muestra.

Tabla 19: Especificidad clínica del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en una población de bajo riesgo por tipo de muestra

Tipo de muestra	n	PV	PF	NV	NF	% de especificidad (IC del 95 %) <sup>a</sup>
Todo	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Suero	304	1	2 <sup>b</sup>	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plasma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

IC = intervalo de confianza; NF = negativo falso; PF = positivo falso; NV = negativo verdadero; PV = positivo verdadero.

<sup>a</sup> IC de Clopper-Pearson.

<sup>b</sup> 1 de 2 muestras de suero con resultados positivos falsos fue positiva cuando se analizaron mediante un inmunoensayo de combinación de antígeno/anticuerpo HIV-1/HIV-2 de 4.a generación.

## Estudios de sensibilidad clínica

### Sensibilidad clínica en muestras positivas para HIV-1

Se analizaron muestras positivas para HIV-1 previamente congeladas con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Los análisis se realizaron con 2 lotes de kit de reactivos en 3 centros, incluidos 2 centros externos.

En la Tabla 20 se muestra la sensibilidad del ensayo Aptima HIV 1 Quant Dx en muestras positivas según el tipo de muestra.

Tabla 20: Sensibilidad clínica del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en muestras positivas para HIV-1 por tipo de muestra

Tipo de muestra	n	PV	NF	% de sensibilidad (IC del 95 %) <sup>a</sup>
Todo	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Suero	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plasma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

IC=intervalo de confianza, NF=negativo falso, PV=positivo verdadero.

<sup>a</sup> IC de Clopper-Pearson.

### Sensibilidad clínica en población de alto riesgo

Se analizaron muestras recogidas prospectivamente de personas con alto riesgo de infección por HIV-1 con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Los análisis se realizaron con 1 lote de kit de reactivos en 3 centros, incluidos 2 centros externos. La sensibilidad clínica se calculó comparando los resultados del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx con los resultados del ensayo NAT.

De las 498 muestras evaluables, 332 eran muestras de plasma y 166 eran muestras de suero. La sensibilidad clínica fue del 100 % (1/1, IC del 95 %: 20,7-100 %) en las muestras de suero. No se pudo evaluar la sensibilidad en muestras de plasma, ya que no se observaron muestras con resultados de ensayo positivos verdaderos o negativos falsos.

### Positividad en muestras serodiscordantes

Se obtuvieron muestras serodiscordantes previamente congeladas (es decir, repetidamente reactivas en un inmunoensayo inicial de HIV e indeterminado o negativo en un inmunoensayo complementario) de donantes de sangre y donantes no sanguíneos, y se analizaron con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. De 473 muestras evaluables, 76 se seleccionaron de paneles de seroconversión. Los análisis se realizaron con 2 lotes de kits de reactivos en 1 centro interno. Se calculó la positividad para las muestras serodiscordantes analizadas con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

En la Tabla 21, se indica la positividad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en muestras serodiscordantes por grupo de muestra, tipo de prueba complementaria de HIV y resultado de la prueba complementaria de HIV.

Tabla 21: Positividad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx en muestras serodiscordantes

Tipo de prueba complementaria	Resultado de la prueba complementaria	% de positividad (n/N), IC del 95 % <sup>a</sup>		
		Grupo del panel que no es de seroconversión		Grupo del panel de seroconversión
		3. <sup>a</sup> gen.	4. <sup>a</sup> gen.	4. <sup>a</sup> gen.
Inmunoquímico HIV-1/2	Negativo	ND	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
Inmunoquímico HIV-1/2	Indeterminado	ND	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
Rápido HIV-1/2	Negativo	ND	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
Rápido HIV-1/2	Indeterminado	ND	0,0 (0/2) 0,0-65,8	ND
WB o IFA HIV-1	Negativo	0,4 (1/239) 0,1-2,3	100 (4/4) 51,0-100	100 (35/35) 90,1-100
WB o IFA HIV-1	Indeterminado	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

3.<sup>a</sup> gen. = inmunoensayo de tercera generación; 4.<sup>a</sup> gen. = inmunoensayo de cuarta generación; IC = intervalo de confianza; IFA = ensayo de inmunofluorescencia indirecta; N/D = no disponible, WB = Western blot.

<sup>a</sup> Puntuación de IC.

## 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 y 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 y 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. Strearer, M. Kaplan, D. F. Haynes, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster y 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 y J. M. Mann.** 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. **Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach y 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 y 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 y L. Montagnier.** 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. **DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W.** The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
9. **Gaines, H., M. A. von Sydow y L.V. von Stedingk.** 1990, Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. **Tindall, B. y 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 y 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 y 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 y 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 y 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. Fe de erratas en: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. **Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S Fauci y 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 y 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 y 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 y 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 y 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 y 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 y 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 y 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 y 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. y 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 y 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 y 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. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman y P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **Gill, P. y Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224-43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445-455.
33. **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.
34. **29 CFR Parte 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **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.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. Documento EP06-A del CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

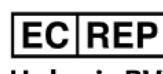
## Información de contacto e historial de revisiones



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



CE 2797



**Hologic BV**  
Da Vinci laan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

**Patrocinador australiano**  
Hologic (Australia y  
Nueva Zelanda) Pty Ltd.  
Macquarie Park NSW 2113

Para obtener la dirección de correo y el número de teléfono del soporte técnico y la atención al cliente específicos de cada país, visite [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Los incidentes graves que se produzcan en relación con el dispositivo en la Unión Europea deberán notificarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que esté establecido el usuario o el paciente.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion 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](http://www.hologic.com/patents).

© 2020–2025 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-28214-2451 Rev. 002

2025-10

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-28214-2451 Rev. 001	Abril de 2025	<ul style="list-style-type: none"><li>• Versión inicial para cumplir con los requisitos del IVDR.</li></ul>
AW-28214-2451 Rev. 002	Octubre de 2025	<ul style="list-style-type: none"><li>• Esta versión se ajusta a AW-28214-001 Rev. 002 y Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 &amp; Rev. 003).</li></ul>