

Complemento de gotas de sangre seca (DBS) para el ensayo Aptima® HIV-1 Quant Dx

Instrucciones de uso
Para uso diagnóstico *in vitro*
Solo para exportación de EE. UU.

Información general	2
Introducción	2
Uso previsto	2
Resumen y explicación de la prueba para las muestras de DBS	2
Resumen de seguridad y rendimiento	3
Advertencias y precauciones	3
Recogida y almacenamiento de muestras de DBS	5
Muestras almacenadas en el Panther System	6
Transporte de muestras	6
Panther System	7
Material necesario que debe adquirirse por separado para muestras de DBS	7
Procedimiento de la prueba del Panther System	8
Notas de procedimiento para calibradores y controles	11
Control de calidad	12
Calibración del ensayo	12
Controles negativo y positivo	12
Calibrador interno/Control interno	12
Interpretación de los resultados para muestras de DBS	13
Limitaciones	15
Rendimiento de DBS	16
Límite de detección (LDD) utilizando la 3. ^a norma internacional para el VIH-1 de la OMS	16
Rango lineal	17
Precisión	19
Sustancias potencialmente interferentes	19
Especificidad	19
Especificidad analítica	20
Rendimiento clínico	21
Concordancia diagnóstica para el diagnóstico precoz en la infancia	21
Correlación de métodos	21
Bibliografía	25
Información de contacto e historial de revisión	26

Información general

Introducción

Este prospecto es un complemento del prospecto del ensayo Aptima® HIV-1 Quant Dx. Este documento proporciona explicaciones, advertencias y precauciones, e instrucciones para la preparación y el análisis de muestras de gota de sangre seca (DBS) en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx para la monitorización de la carga viral (VL) del VIH-1 y el diagnóstico precoz en la infancia. Para obtener información sobre las advertencias y precauciones generales, así como sobre la preparación de reactivos en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, consulte el prospecto del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

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 (VIH-1) en el sistema Panther® totalmente automatizado. Está indicado para utilizarse como ayuda en el diagnóstico de infecciones por VIH-1, para confirmar la infección por VIH-1 y como ayuda en el control clínico de pacientes infectados por el VIH-1.

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

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

Cuando el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se utiliza como ayuda en el diagnóstico de infección por VIH-1, el rendimiento de los resultados cualitativos se establece tanto con muestras de plasma y de suero como con muestras de DBS en bebés menores de 18 meses. Cuando se utiliza como ayuda en la supervisión del efecto del tratamiento antirretroviral, el rendimiento de los resultados cuantitativos se establece solo con muestras de plasma y de DBS. Las muestras de suero no deben utilizarse para la obtención de resultados cuantitativos.

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

Resumen y explicación de la prueba para las muestras de DBS

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

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

Resumen de seguridad y rendimiento

El resumen de seguridad y rendimiento (SSP) está disponible en la base de datos europea sobre productos sanitarios (Eudamed), donde está vinculado a los identificadores de dispositivos (UDI-DI básico). 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. Para reducir el riesgo de obtener resultados no válidos, lea atentamente el prospecto completo y el *Manual del usuario del Panther/Panther Fusion® System* antes de realizar este ensayo.

Información sobre las muestras de DBS

- D. Las muestras pueden ser infecciosas. Respete las precauciones universales (4, 5, 6) al realizar este ensayo. Deben establecerse métodos correctos de manipulación y eliminación de material según la normativa local(6). Este procedimiento solamente debe realizarlo personal formado adecuadamente en el uso del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y en la manipulación de material infeccioso.
- E. 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.
- F. 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 retirar el tapón de los tubos de muestras y al procesar las muestras de DBS. Las muestras pueden contener concentraciones extremadamente altas de organismos. Asegúrese de que los recipientes de muestras no entren en contacto unos con otros y deseche los materiales usados sin pasarlos por encima de los recipientes abiertos. Cámbiese los guantes si entran en contacto con la muestra.
- G. La recolección y manipulación de sangre venosa (EDTA) y sangre obtenida por punción digital o punción del talón para la preparación de muestras de DBS y DBS en tarjetas de papel secante debe hacerse de acuerdo con las directrices locales relativas a la prevención de infecciones por patógenos de transmisión hemática.

- H. Se recomienda preparar al menos tres gotas de sangre seca en cada tarjeta de papel secante.
- I. La preparación, el secado, el almacenamiento y la manipulación inapropiados de las muestras de DBS pueden dar lugar a resultados erróneos en las pruebas.
- J. Asegúrese de que las tarjetas de papel secante con muestras de DBS estén completamente secas antes de almacenarlas en bolsas con cierre hermético (tipo zip lock) con secante. Si las muestras de DBS no están totalmente secas, su estabilidad puede reducirse y producir resultados erróneos.
- K. Asegúrese de que las tarjetas de papel secante para muestras de DBS sin utilizar se almacenen y se manipulen conforme a las instrucciones del fabricante de dicha tarjeta.
- L. Para obtener información adicional sobre la preparación y la manipulación de muestras de DBS, consulte las instrucciones del fabricante de las tarjetas de papel secante para muestras de DBS.
- M. Para evitar la contaminación por arrastre, asegúrese de que las herramientas utilizadas para cortar y manipular los círculos que contienen la sangre seca se descontaminen antes y después de entrar en contacto con la muestra.
- N. Utilice únicamente el tampón de extracción Aptima DBS para la extracción de muestras de DBS. No utilice el diluyente de muestras Aptima ni otros tampones para extraer muestras de DBS.
- O. Para obtener información sobre las advertencias y precauciones adicionales para laboratorios, consulte el prospecto del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Información sobre los ensayos

- P. Los resultados cuantitativos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se han evaluado con muestras de DBS y plasma. No debe utilizarse suero para obtener resultados cuantitativos. Los resultados cualitativos se han evaluado con muestras de plasma, suero y DBS. No utilice el kit de reactivos, el calibrador ni los controles después de la fecha de caducidad.
- Q. No utilice las tarjetas de papel secante para muestras de DBS después de la fecha de caducidad especificada por el fabricante. No intercambie, 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.
- R. Evite la contaminación microbiana y por nucleasas de los reactivos.
- S. Tape y almacene todos los reactivos de ensayo a las temperaturas especificadas. El uso de reactivos de ensayo almacenados incorrectamente puede afectar al rendimiento del ensayo. Consulte *Procedimiento de la prueba del Panther System* para obtener más información.
- T. No combine ningún reactivo ni fluido del ensayo sin instrucciones específicas. No llene los frascos de reactivos o de fluidos. El sistema Panther verifica los niveles de reactivo.
- U. Para obtener información sobre la comunicación de peligros, consulte el prospecto del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Nota: La comunicación de peligros refleja las clasificaciones de las fichas de seguridad (SDS) de la UE. Para obtener la 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.hologicds.com. Para obtener más información sobre los símbolos, consulte la leyenda de los símbolos en <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Recogida y almacenamiento de muestras de DBS

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

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

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

A. Recolección y preparación de muestras de DBS

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

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

B. Muestras de DBS

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

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

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

- tarjeta de papel secante con muestra de DBS a una temperatura de entre $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 12 semanas, o
- Tarjeta de papel secante con muestra de DBS a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 2 semanas a 85 % de humedad.

Antes del análisis, las muestras de DBS extraídas en tubos de alícuotas de muestras (SAT) pueden almacenarse entre $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante un máximo de 24 horas.

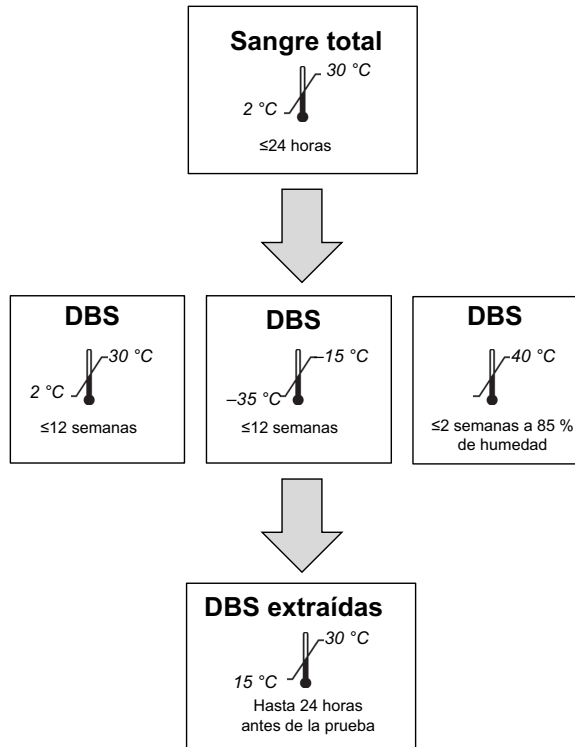


Figura 1. Condiciones de almacenamiento de las muestras de DBS

Muestras almacenadas en el Panther System

Las muestras de DBS extraídas pueden dejarse sin tapar en el sistema Panther durante un total de 8 horas. 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 muestras

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

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

Panther System

Los reactivos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx para su uso en el sistema Panther se proporcionan en el prospecto del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Material necesario que debe adquirirse por separado para muestras de DBS

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

Material	N.º de referencia
Tampón de extracción Aptima® DBS (100 mL)	PRD-04772
Tubos de alícuotas de muestras (SAT) Aptima® (paquete de 100)	FAB-18184
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, desechos y fluidos continuos (Panther Plus)	PRD-06067
Tapón de tubo de transporte (paquete de 100)	504415
<i>Tapón para SAT</i>	
Tarjetas de papel secante para muestras de DBS disponibles en el mercado: <i>Tarjetas Ahlstrom/Munktel TFN o equivalentes (p. ej., Whatman 903)</i>	—
Tijeras, pinzas u otras herramientas para liberar la gota de sangre seca de la tarjeta de papel secante para muestras de DBS.	—
Puntas, 1000 µL filtradas, conductoras, detectoras de líquido y desechables	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>No todos los productos están disponibles en todas las regiones. Póngase en contacto con su representante para obtener información específica sobre su región.</i>	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>	CL0041 (100 tapones)
<i>Frasco de TCR</i>	CL0040 (100 tapones)
Cubiertas de bancos de laboratorio con revestimiento de plástico	—
Paños sin pelusa	—
Pipeteador	—
Puntas	—
Opciones para el tubo de recolección primario (ACD, EDTA, PPT):	
<i>13 mm × 100 mm</i>	—
<i>13 mm × 75 mm</i>	—
<i>16 mm × 100 mm</i>	—
Centrifugadora	—
Agitador para tubos	—

Procedimiento de la prueba del Panther System

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

A. Extracción de muestras de DBS

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

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

4. Cierre por completo los tubos de alícuotas de muestras que contienen el tampón de extracción de DBS y la muestra de DBS con tapones de tubos de transporte.
5. Agite suavemente a temperatura ambiente durante 30 minutos. Asegúrese de que el tampón de extracción de DBS moje por completo la muestra de DBS durante el agitado. Evite que se forme demasiada espuma.

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

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

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

Nota: Las 8 horas de tiempo en el instrumento no se suman al periodo de almacenamiento de 24 horas después de la extracción.

B. Preparación del sistema para muestras de DBS

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

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

- a. En la pantalla *Sample Rack Loading (Carga de gradillas de muestras)*, seleccione **Dilute All (Diluir todo)**.

Se abre la ventana *Dilution Factor (Factor de dilución)*.

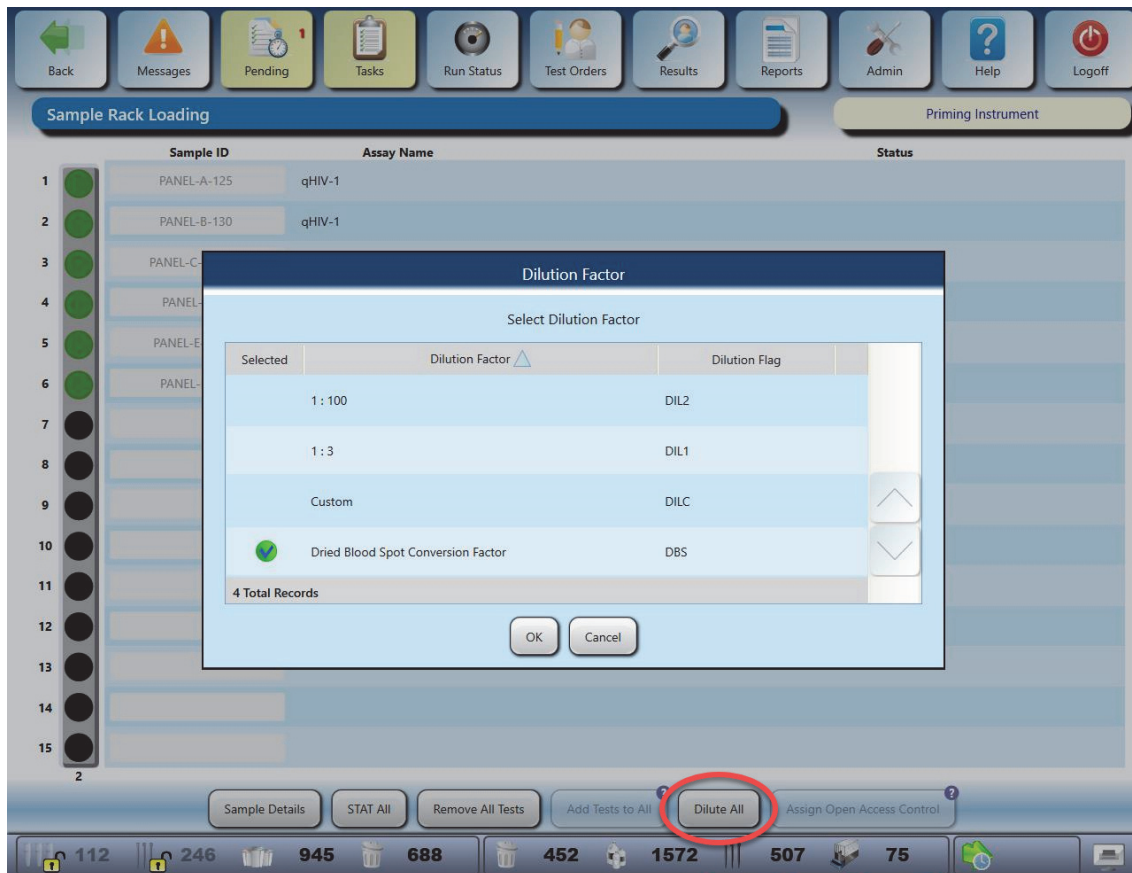


Figura 2. Ventana Dilution Factor (Factor de dilución) de la pantalla Sample Rack Loading (Carga de gradillas de muestras)

- b. Seleccionar **Dried Blood Spot Conversion Factor (Factor de conversión de gota de sangre seca)**.
- c. Seleccionar **OK (Aceptar)**.

Se abre la ventana *Set Dilution Factor for Rack (Establecer factor de dilución para la gradilla)*.

- d. Seleccionar **Yes (Sí)** para aplicar el indicador de Factor de conversión de gota de sangre seca a la gradilla completa de muestras de DBS.

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

- a. En la pantalla *Sample Details* (Detalles de la muestra), seleccione el pedido de pruebas que se va a procesar y seleccione **Apply Dilution** (**Aplicar dilución**).

Se abre la ventana *Dilution Factor* (*Factor de dilución*).

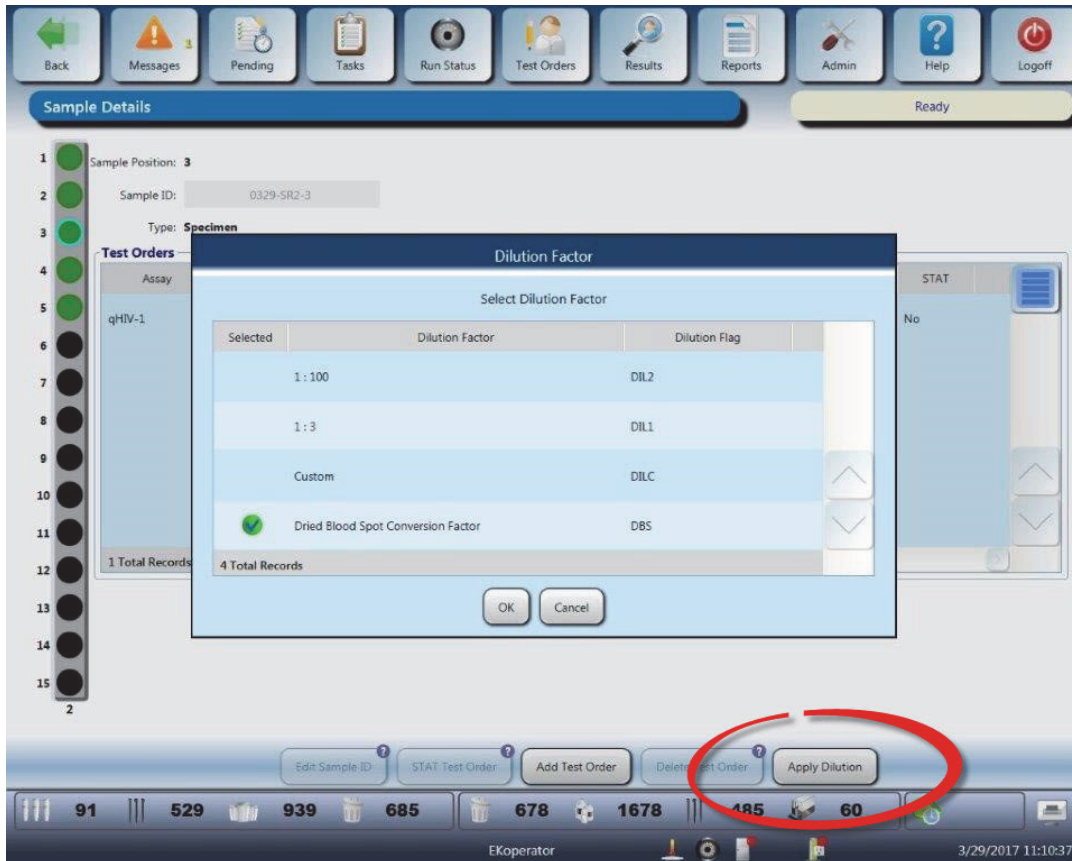


Figura 3. Ventana Dilution Factor (Factor de dilución) de la pantalla Sample Details (Detalles de la muestra)

- b. Seleccionar **Dried Blood Spot Conversion Factor** (**Factor de conversión de gota de sangre seca**).
- c. Seleccionar **OK** (**Aceptar**) para aplicar el indicador de Factor de conversión de gota de sangre seca a todos los pedidos de pruebas seleccionados.

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

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

1. En la pantalla *Sample Rack Bay* (*Compartimento de gradillas de muestras*), haga doble clic en la gradilla de interés.

Se abrirá la pantalla *Sample Rack Loading* (*Carga de gradillas de muestras*) para la gradilla seleccionada.

2. Seleccionar **Dillute All (Diluir todo)**.
3. En la ventana *Dilution Factor (Factor de dilución)*, anule la selección de **Dried Blood Spot Conversion Factor (Factor de conversión de gota de sangre seca)**.
4. Seleccionar **OK (Aceptar)**.

Se abre la ventana *Set Dilution Factor for Rack (Establecer factor de dilución para la gradilla)*.

5. Seleccionar **Yes (Si)** para eliminar el factor de conversión de gota de sangre seca de una gradilla completa.

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

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

Se abrirá la pantalla *Sample Rack Loading (Carga de gradillas de muestras)* para la gradilla de muestras seleccionada.

2. En la pantalla *Sample Rack Loading (Carga de gradillas de muestras)*, haga doble clic en la muestra de interés.

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

3. Seleccione el pedido de pruebas de interés en el panel *Test Orders (Pedidos de pruebas)*.

4. Seleccione **Apply Dilution (Aplicar dilución)**.

5. En la ventana *Dilution Factor (Factor de dilución)*, anule la selección de *Dried Blood Spot Conversion Factor (Factor de conversión de gota de sangre seca)*.

6. Seleccionar **OK (Aceptar)** para eliminar el factor de conversión de gota de sangre seca del pedido de pruebas.

Notas de procedimiento para calibradores y controles

Para las muestras de DBS, no se proporcionan controles positivos y negativos de DBS. Las muestras de DBS requieren los mismos calibradores y controles que se utilizan para las muestras de suero y plasma. Consulte el instructivo del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Control de calidad

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

Calibración del ensayo

Las muestras de DBS requieren los mismos calibradores que se utilizan para las muestras de suero y plasma. Consulte el instructivo del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Controles negativo y positivo

Las muestras de DBS requieren los mismos controles que se utilizan para las muestras de suero y plasma. Consulte el instructivo del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Calibrador interno/Control interno

Cada muestra contiene un calibrador interno/control interno (IC). Consulte el instructivo del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interpretación de los resultados para muestras de DBS

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

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

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

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

^aEl valor se trunca a dos dígitos decimales.

^bLos resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

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

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

^aEl valor se trunca a dos dígitos decimales.

^bOrganización Mundial de la Salud, Informe de políticas. Julio de 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Ginebra, Suiza (7).

^cLos resultados no válidos se muestran en caracteres azules.

Limitaciones

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

Rendimiento de DBS

Límite de detección (LDD) utilizando la 3.^a norma internacional para el VIH-1 de la OMS

El límite de detección (LDD) se define como la concentración de ARN del VIH-1 que se detecta con una probabilidad del 95 % o superior según el documento EP17-A2 del CLSI (8). El LDD se determinó mediante el análisis de paneles formados por diluciones de la 3.^a norma internacional para el VIH-1 de la OMS (subtipo B, código NIBSC: 10/152) en sangre total negativa para VIH-1. Se analizaron 30 réplicas de cada dilución en tres sistemas Panther con 3 lotes de reactivos para un total de 90 réplicas por dilución. Según el documento EP17-A2 del CLSI, los resultados del lote de reactivos con la mayor concentración para el límite de detección previsto se definen como LDD y se muestran en la Tabla 3. A través del análisis Probit, el LDD para el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx es 848,4 copias/mL (intervalo de confianza del 95 %, 660,7-1208,8 copias/mL) o 2424,0 UI/mL (intervalo de confianza del 95 %, 1887,8-3453,8 UI/mL, 0,35 copias = 1 UI).

Tabla 3: LDD del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx con DBS utilizando la 3.^a norma internacional para el VIH-1 de la OMS

Límite de detección previsto	Concentración (copias/mL)	Concentración (UI/mL)
10 %	34,4	98,3
20 %	68,7	196,3
30 %	105,7	302,0
40 %	147,2	420,6
50 %	194,9	556,9
60 %	251,9	719,8
70 %	323,9	925,5
80 %	423,1	1208,9
90 %	625,4	1786,9
95 %	848,4	2424,0

Rango lineal

El rango lineal del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se descubrió mediante el análisis de paneles formados por diluciones de virus VIH-1 cultivado subtipo B en sangre total negativa para VIH-1 según el documento EP06-A del CLSI (9). Las concentraciones de los paneles fueron de 2,70 a 7,60 log copias/mL. Las pruebas se realizaron en cuatro sistemas Panther con dos lotes de reactivos del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx. Como se muestra en la Figura 4, el ensayo Aptima Quant Dx demostró linealidad en todo el rango analizado.

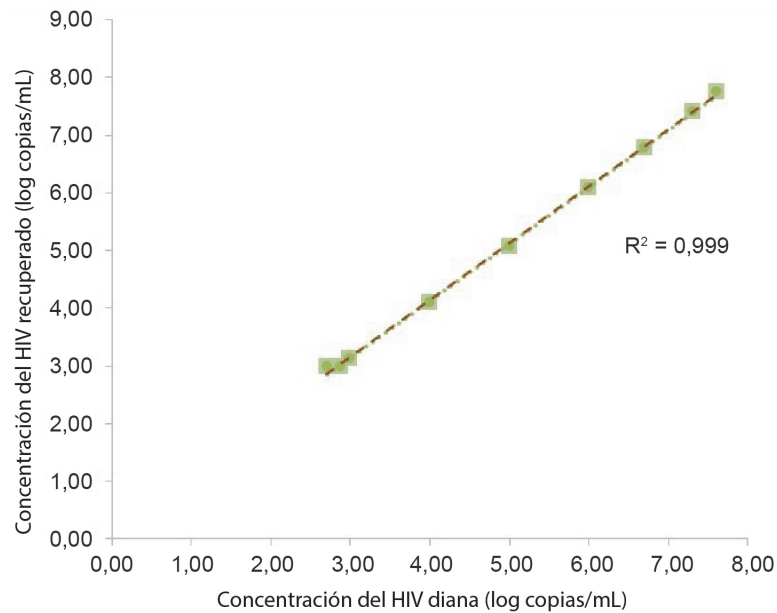


Figura 4. Linealidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx con DBS

Límite inferior de cuantificación utilizando la 3.^a norma internacional para el VIH-1 de la OMS

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

Tabla 4: Determinación del límite inferior de cuantificación con muestras de DBS utilizando la 3.^a norma internacional para el VIH-1 de la OMS con 3 lotes de reactivos

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

Tabla 5: Resumen del LIDC

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

Precisión

Para evaluar la precisión del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, se creó un panel mediante el enriquecimiento de sangre total negativa para VIH-1 con virus VIH-1 cultivado subtipo B. Tres usuarios analizaron los paneles con 3 lotes de reactivos en 3 sistemas Panther durante 20 días (consulte la Tabla 6). El panel estaba formado por 1 muestra del panel negativo para VIH-1 y 5 muestras del panel positivo para VIH-1. La asignación de la concentración de muestras clínicas o reserva de virus cultivados se procesa mediante el análisis de muestras de DBS en el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

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

Número de réplicas válidas	Concentración media (log copias/mL)	Entre instrumentos (DE)	Entre usuarios (DE)	Entre lotes (DE)	Entre ciclos (DE)	En el ciclo (DE)	Total (DE)
78	3,46	0,00	0,00	0,07	0,00	0,19	0,19
81	3,94	0,00	0,00	0,07	0,08	0,13	0,13
81	4,81	0,01	0,01	0,01	0,07	0,07	0,07
81	5,89	0,00	0,03	0,01	0,07	0,05	0,05
81	6,72	0,00	0,02	0,02	0,06	0,05	0,05

DE = Desviación estándar

Nota: La variabilidad de algunos factores podría ser numéricamente negativa, lo que puede ocurrir si la variabilidad debida a dichos factores es muy pequeña. Cuando esto sucede, DE = 0. Las réplicas totales analizadas para cada muestra del panel fueron 81; solo se utilizaron réplicas con resultados cuantificables para evaluar la precisión.

Sustancias potencialmente interferentes

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

La sensibilidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx a interferencias también se evaluó para muestras de plasma y no se observa ninguna interferencia en el rendimiento en presencia de sustancias endógenas y exógenas. Para ver la lista completa de las sustancias potencialmente interferentes que fueron evaluadas para muestras de plasma, consulte el instructivo del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx.

Especificidad

La especificidad del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx se asume mediante el análisis de muestras de DBS preparadas con sangre de 500 donantes no infectados por el VIH-1 en 3 lotes de reactivos. La especificidad del ensayo para las muestras de DBS fue del 99,6 % (intervalo de confianza del 95 %, del 98,6 % al 99,9 %).

Especificidad analítica

La posible reactividad cruzada del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx con patógenos presentes en sangre total se evaluó mediante el análisis de muestras de DBS preparadas con sangre total enriquecida con 1e6 células/mL de cada organismo en ausencia del VIH-1 y en presencia de 3,42 y 4,7 log copias/mL del VIH-1. No se observó ninguna interferencia en el rendimiento al analizar muestras de DBS que contienen *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti* Gris, *Plasmodium falciparum* y *Toxoplasma gondii* en presencia y ausencia del VIH-1.

La reactividad cruzada del ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx también se evaluó para muestras de plasma y no se observó ninguna interferencia en el rendimiento en presencia de patógenos. Para ver la lista completa de los patógenos que se evaluaron para muestras de plasma, consulte el instructivo del *Ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Rendimiento clínico

Concordancia diagnóstica para el diagnóstico precoz en la infancia

Para evaluar la concordancia diagnóstica, se prepararon muestras de DBS con sangre obtenida por punción digital o punción del talón de bebés ≤ 18 meses nacidos de madres infectadas por el VIH-1 en Kenia (África). Se analizó una sola muestra de DBS de cada bebé con el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y con otro ensayo cualitativo para el VIH-1 de comparación aprobado por la CE. Como se muestra en la Tabla 7, 1975 muestras tuvieron resultados válidos en ambos ensayos. Para el ensayo cualitativo de comparación aprobado por la CE, se volvieron a analizar todas las muestras con resultados reactivos y solo los resultados reactivos confirmados se clasificaron en la categoría de “Detectado”. Los resultados de todas las muestras no reactivas se categorizaron como “Objetivo no detectado”. Para el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx, se repitió el análisis de los resultados del ensayo interpretados como equívocos (consulte la Tabla 2). La concordancia diagnóstica para el diagnóstico precoz en la infancia entre los dos ensayos fue del 99,6 %.

Tabla 7: Concordancia diagnóstica entre el ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx y el ensayo de comparación

		Ensayo de comparación aprobado por la CE	
		Objetivo no detectado	Detectada
Ensayo Aptima HIV-1 Quant Dx	Objetivo no detectado	1888	4
	Detectada	3	80

Correlación de métodos

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

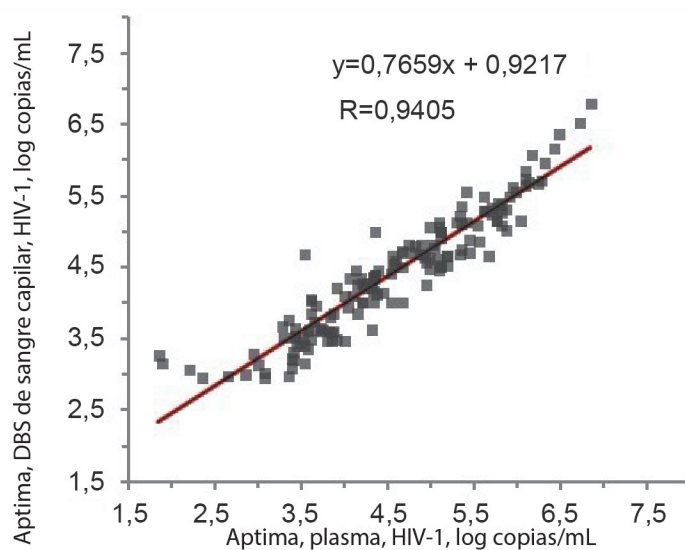


Figura 5. Correlación entre las muestras de DBS de sangre capilar (punción digital) y las muestras de plasma

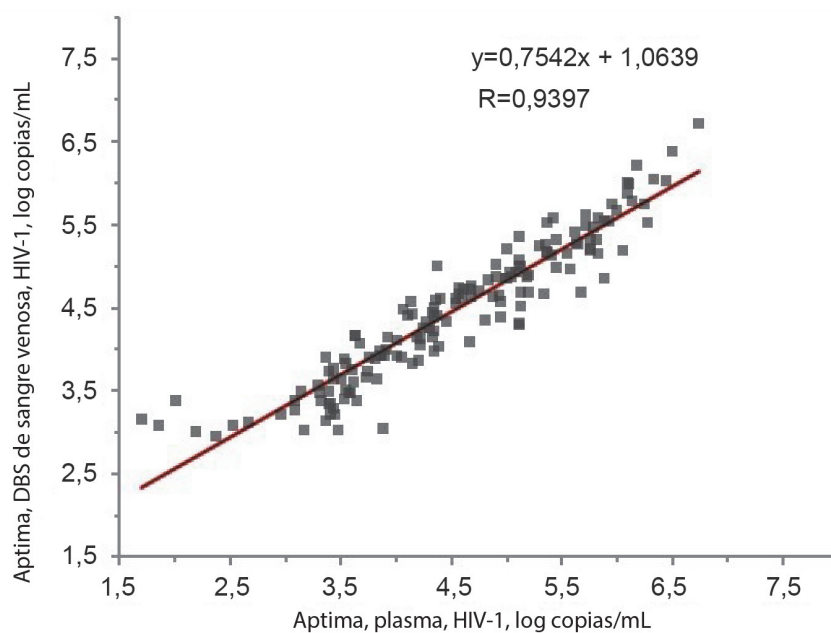


Figura 6. Correlación entre las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de plasma

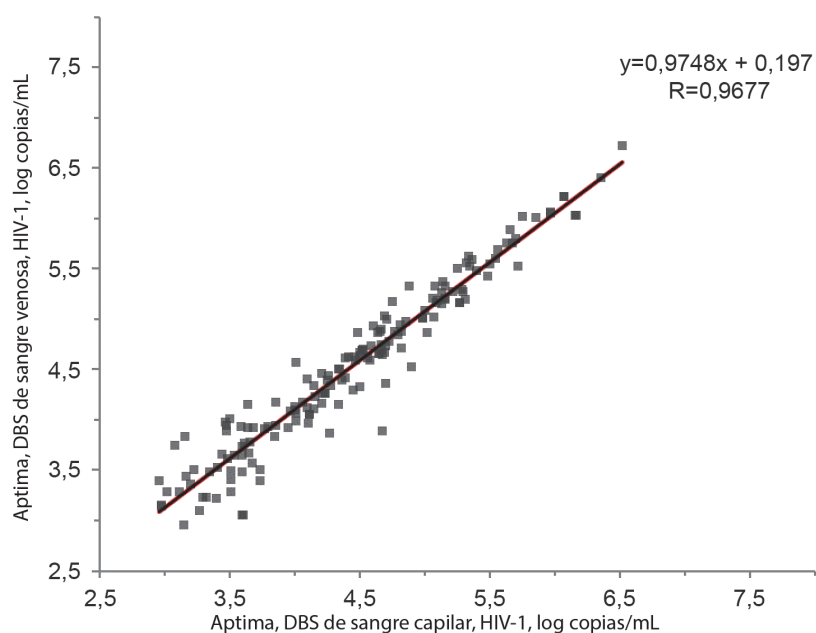


Figura 7. Correlación entre las muestras de DBS de sangre capilar (punción digital) y las muestras de DBS de sangre venosa

La concordancia entre los resultados obtenidos con las muestras de DBS y las muestras de plasma también se evaluó con un umbral de 1000 copias/mL. (Tablas 8 y 9). La concordancia positiva y la concordancia negativa entre los resultados de las muestras de DBS de sangre capilar (punción dactilar) y las muestras de plasma fueron del 92,95 % y el 93,14 % respectivamente. La concordancia positiva y la concordancia negativa entre los resultados de las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de plasma fueron del 96,15 % y el 90,20 % respectivamente. La concordancia positiva y la concordancia negativa entre los resultados de las muestras de DBS de sangre venosa y las muestras de DBS de sangre capilar (punción dactilar) fueron del 91,25 % y el 93,88 % respectivamente Tabla 10. La concordancia total entre los resultados para el VIH-1 obtenidos con plasma y los resultados para el VIH-1 obtenidos con DBS de sangre capilar (punción digital) y DBS de sangre venosa fue del 93,02 % y el 93,80 % respectivamente.

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

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

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

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

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

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

Bibliografía

1. **Organización Mundial de la Salud,, Access to HIV Diagnostics.** Julio de 2014. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing: Interim Technical Update. Ginebra, Suiza. <http://www.who.int/HIV>.
2. **Organización Mundial de la Salud y Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/Sida (ONUSIDA).** 2010. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Ginebra, Suiza. <http://www.who.int/HIV>.
3. **Marston M et al.** Net Survival of Perinatally and Postnatally HIV-infected Children: a Pooled Analysis of Individual Data from Sub-Saharan Africa. *International Journal of Epidemiology* 2011; 40:385-396.
4. **Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI).** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. CLSI Document MM13-A. Wayne, PA. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; versión actual.
5. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades/Institutos Nacionales de Salud. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
6. **Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI).** 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP05-A3. Wayne, Pensilvania.
7. **Organización Mundial de la Salud, Informe de políticas.** Julio de 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Ginebra, Suiza.
8. **Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2. Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio, Wayne, Pensilvania.
9. **Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. CLSI Document EP06-A. Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio, Wayne, Pensilvania.

Información de contacto e historial de revisión



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Patrocinador australiano
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Para obtener la dirección de correo y el número de teléfono de la asistencia técnica y la atención al cliente específico de cada país, visite www.hologic.com/support.

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

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

Todas las demás marcas comerciales que puedan aparecer en este instructivo pertenecen a sus respectivos propietarios. Este producto puede estar cubierto por una o varias patentes estadounidenses identificadas en www.hologic.com/patents.

© 2018-2025 Hologic, Inc. Todos los derechos reservados.

AW-29377-2451 Rev. 001

2025-08

Historial de revisiones	Fecha	Descripción
AW-29377-2451 Rev. 001	Agosto de 2025	• Lanzamiento inicial