



Abbott

m-PIMA™ HIV-1/2 DETECT

GUÍA DEL CARTUCHO

ES

CE₀₁₂₃ **IVD**

ÍNDICE

4 INTRODUCCIÓN

- 4 Uso previsto
- 4 Indicaciones de uso
- 4 Usuario previsto
- 5 Información para pedidos y volumen de suministro
- 5 Materiales necesarios no suministrados
- 5 Ítems opcionales

5 PRINCIPIO DE PRUEBA

- 5 Manipulación y procesamiento de muestras
- 6 Aislamiento de ARN
- 6 Transcripción inversa y amplificación
- 7 Detección

8 CARACTERÍSTICAS DEL CARTUCHO m-PIMA™ HIV-1/2 DETECT

- 8 Componentes del cartucho
- 9 Características de control de calidad (QC)
- 10 Reactivos

11 ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

14 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA m-PIMA™ HIV-1/2 DETECT

- 14 Flujo de trabajo básico
- 15 Cómo desechar los cartuchos usados
- 16 Recogida de muestra con punción digital
- 17 Recogida de muestra con punción en el talón
- 20 Recogida de muestra de sangre completa venosa
- 20 Aplicación de la muestra mediante capilares de transferencia
- 21 Informe de prueba

23 LIMITACIONES

- 23 Interpretación de los resultados
- 23 Variantes genéticas/ mutaciones
- 24 Efecto de la matriz
- 24 Estabilidad de la muestra
- 24 Pruebas múltiplex

25 CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

- 26 Sensibilidad diagnóstica en muestras de VIH-1 frescas y congeladas de sangre completa y plasma
- 27 Sensibilidad diagnóstica en muestras con VIH-2
- 27 Sensibilidad y especificidad diagnóstica en muestras neonatales
- 27 Sensibilidad diagnóstica en paneles de seroconversión
- 28 Especificidad diagnóstica en muestras congeladas de sangre completa y plasma
- 29 Sensibilidad analítica/Límite de detección
- 31 Especificidad analítica
- 35 Prueba de genotipos / subtipos
- 37 Efectos de la matriz
- 38 Ensayo múltiplex
- 38 Transferencia de remanente
- 39 Precisión

39 ASISTENCIA TÉCNICA

39 REFERENCIAS

42 SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS

INTRODUCCIÓN

Las pruebas virológicas mediante ensayos que detectan ADN y ARN de VIH de forma específica ya juegan un papel importante en el diagnóstico de infecciones por VIH en recién nacidos.⁽¹⁾ La identificación temprana de infecciones por VIH en bebés expuestos y la derivación a tratamiento antirretroviral llevan a mejores resultados. Las pruebas virológicas también desempeñan un papel importante en la confirmación de infección por VIH en adultos que han dado positivo en métodos alternativos (p. ej. pruebas de antígenos/anticuerpos anti-VIH). Actualmente, las pruebas virológicas de VIH son prohibitivamente caras y complejas, ya que requieren el empleo de personal técnico cualificado y un mantenimiento regular de los equipos. m-PIMA™ HIV-1/2 Detect permite por primera vez realizar pruebas virológicas en el sitio de atención efectuadas por personal no perteneciente al área de laboratorio en un entorno de salud primaria.⁽²⁾ Además del tipo de muestra convencional, el plasma, m-PIMA™ HIV-1/2 Detect puede procesar sangre completa y solo necesita pequeños volúmenes (25 µL), que pueden obtenerse fácilmente mediante técnicas de obtención de muestras de punción digital o en el talón (para neonatos). La utilización de sangre completa en lugar de plasma también tiene la ventaja demostrada de que las partículas de VIH se adhieren a los distintos tipos de células sanguíneas como las plaquetas⁽³⁻⁶⁾ y los monocitos,⁽⁷⁾ pero también a las células CD4-/CD8- T, originadas probablemente de células de CD4+ T infectadas.⁽⁸⁾ También se ha encontrado que el ARN y el antígeno de VIH están asociados a eritrocitos.⁽⁹⁻¹¹⁾ Asimismo, el ARN de VIH intracelular se produce dentro de linfocitos infectados que circulan en la sangre periférica.⁽¹²⁻²⁰⁾ El uso de sangre completa permite incluir partículas virales asociadas a las células en el análisis, proporcionando una mayor probabilidad de detectar una infección por VIH.⁽²¹⁾

Uso previsto

m-PIMA™ HIV-1/2 Detect es un test cualitativo de amplificación de ácidos nucleicos para la detección de ARN del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) tipo 1 grupos M/N y O, y tipo 2 en muestras de sangre completa y plasma humanos. El test puede usarse tanto en laboratorios como en otros entornos. El test m-PIMA™ HIV-1/2 Detect está indicado para el uso diagnóstico in vitro. El test m-PIMA™ HIV-1/2 Detect no está indicado para ser usado como prueba de exploración de donantes para VIH.

Indicaciones de uso

El test m-PIMA™ HIV-1/2 Detect puede usarse como ayuda en el diagnóstico de infección por VIH en poblaciones pediátricas y adultas, o como ensayo complementario para muestras que ya se han analizado usando métodos alternativos (p. ej., ensayos serológicos de tamizaje por evidencia de infección por VIH).

Usuario previsto

El test m-PIMA™ HIV-1/2 Detect está indicado para ser usado por profesionales sanitarios o de laboratorio capacitados, así como otros empleados sanitarios que hayan recibido la capacitación apropiada. El test está indicado tanto para el uso en laboratorios como para realizar análisis a la cabecera del paciente.

Información para pedidos y volumen de suministro

m-PIMA™ HIV-1/2 Detect, kit de 50 cartuchos (N° de catálogo 27011R050):

- 50 cartuchos de test en bolsas individuales
- 1 Guía del cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect

m-PIMA™ HIV-1/2 Detect, kit de 10 cartuchos (N° de catálogo 27011R010):

- 10 cartuchos de test en bolsas individuales
- 1 Guía del cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect

Guarde los cartuchos m-PIMA™ HIV-1/2 Detect a 4 - 30 °C. Consulte la página 13 para obtener más detalles.

Materiales necesarios no suministrados

m-PIMA™ Analyser (N° de catálogo 27030R001) con versión del software 0.38.0 o posteriores.

Ítems opcionales

Finger Stick Sample Collection Kit (100) (N° de catálogo 260400199)

Neonatal Sample Collection Kit (100) (N° de catálogo 270400200)

Capilares de plástico lisos (N° de catálogo 270400005)

- ❗ Antes de realizar una prueba con un cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect, consulte estas instrucciones para obtener información detallada sobre el procedimiento.

PRINCIPIO DE PRUEBA

Manipulación y procesamiento de muestras

La sangre periférica puede recogerse del paciente usando técnicas de obtención de muestras estándar como la punción digital o en el talón, o bien extrayendo una muestra de sangre venosa (extraída según se describe en las páginas 16-20).

El volumen de la muestra necesario para realizar una prueba es 25 µL. La sangre obtenida mediante la punción digital o el talón puede aplicarse directa e inmediatamente en el cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Si se utiliza plasma o sangre venosa anticoagulada EDTA, el volumen adecuado se transfiere al cartucho usando una pipeta volumétrica o un capilar de transferencia (consulte la página 12 acerca de los anticoagulantes permitidos).

Deben seguirse las prácticas de recogida de muestras de flebotomía estándar para obtener muestras de sangre venosa y capilar.

Después de aplicar la muestra, el tapón del cartucho se encaja en su sitio, eliminando la posibilidad de derrame de la muestra o contaminación del instrumento. Después de cerrar el tapón, el cartucho se introduce en el m-PIMA™ Analyser y la prueba se inicia automáticamente. Los pasos descritos en las subsecciones siguientes son realizados automáticamente por el m-PIMA™ Analyser dentro del cartucho.

Aislamiento de ARN

El aislamiento de ARN consiste de los siguientes pasos:

- a Lisis completa de la muestra basada en sales caotrópicas para poder liberar todos los ácidos nucleicos, incluido el ARN de VIH asociado a células y el ARN de VIH de partículas de plasma.
- b Hibridación de oligonucleótidos complementarios a secuencias específicas del genoma de VIH-1 y VIH-2. Estos oligonucleótidos de captura de secuencia específica llevan un residuo de biotina terminal 3'.
- c Todos los oligonucleótidos de captura biotinizados se anclan en la superficie de partículas de estreptavidina-sefarosa, por lo que cualquier ARN de VIH asociado a un oligonucleótido también se captura en la sefarosa.
- d Lavado de las partículas de estreptavidina-sefarosa para eliminar todos los contaminantes ligados a las partículas de forma no específica, p. ej. ácidos nucleicos humanos, proteínas celulares y extracelulares, fragmentos de membranas celulares y moléculas de bajo peso molecular.

Después de los pasos de lavado, las moléculas de ARN de VIH restantes están disponibles para la reacción de transcripción inversa (TI) que es seguida de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Transcripción inversa y amplificación

El ARN capturado en la superficie de las partículas de estreptavidina-sefarosa no puede detectarse directamente. Por lo tanto, tiene que realizarse una amplificación de las secuencias de ácidos nucleicos específicos de VIH. Esto se realiza empleando la técnica de PCR, que permite realizar una amplificación in vitro de las secuencias de ADN.

Dado que la mayoría de polimerasas de ADN no sintetizan el ADN directamente del ARN, es necesario realizar una transcripción inversa del ARN en ADNc. La transcripción inversa es una reacción isotérmica que se realiza a una temperatura definida.

Para la TI se emplean los mismos partidores inversos que se usan para la amplificación posterior de PCR.

Los partidores de ADN se hibridizan con su secuencia complementaria en el ARN y forman un híbrido de ADN-ARN. A continuación, la enzima transcriptasa inversa transcribe el ARN en su ADNc complementario extendiendo el partidor de oligonucleótido. Después de la transcripción inversa se realiza un paso de desnaturalización a una temperatura definida para

- desactivar la transcriptasa inversa,
- activar la polimerasa de ADN y
- separar el híbrido de ARN-ADN para que el partidor se pueda ligar al ADNc recién formado y permitir la extensión cíclica del partidor mediante PCR.

Los partidores son oligonucleótidos cortos y específicos, que hibridizan con secuencias complementarias a una temperatura de apareamiento específica (annealing) y forman el punto de inicio para la extensión de una polimerasa de ADN termoestable.

El apareamiento del partidador y la amplificación del ADN (elongación) por la polimerasa de ADN se realizan a temperaturas definidas. Los tres pasos (desnaturalización, apareamiento y elongación) describen un ciclo de PCR y se repiten 45 veces. Para facilitar la detección simultánea de más de una secuencia específica de ácido nucleico, se realiza una PCR múltiple (múltiplex). La amplificación del target de VIH-1 de los grupos M/N y O y de VIH-2 está facilitada por pares de partidores específicos. Para el grupo M del VIH-1, dos reacciones de amplificación independientes se dirigen a la región aguas arriba de *gag* o a la región *pol* del genoma viral (objetivo doble). Además, los pares de partidores permiten la amplificación de los controles internos del proceso.

DetECCIÓN

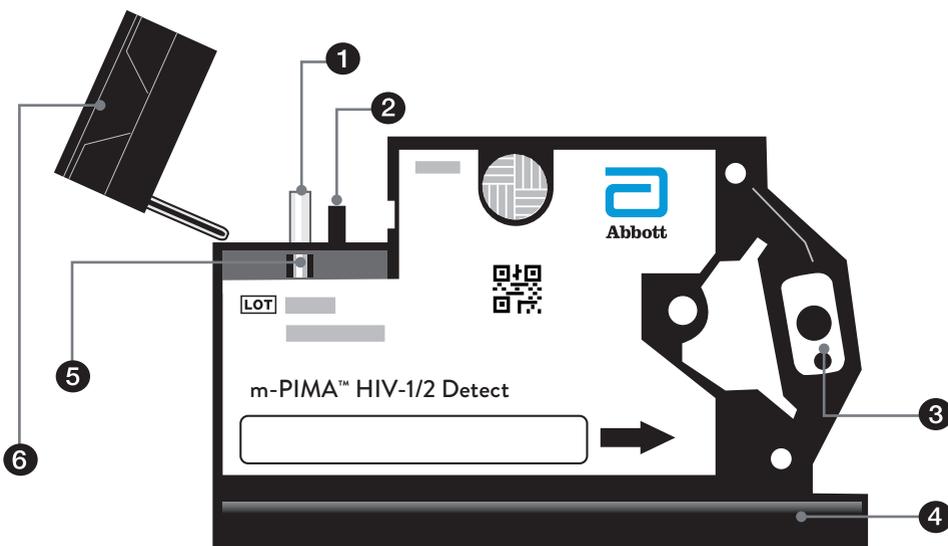
La detección del producto de PCR se basa en la tecnología de monitoreo de amplificación competitiva de indicadores (*Competitive Reporter Monitored Amplification*), utilizando una matriz de sondas inmovilizadas de oligonucleótidos y oligonucleótidos indicadores complementarios marcados con fluorescentes en solución.⁽²²⁾ Para maximizar la intensidad de la señal inicial, los indicadores usados en esta reacción tienen marcadores fluorescentes en los extremos de 5' y 3'. En las condiciones adecuadas, el indicador hibridizará específicamente con las sondas inmovilizadas. Los oligonucleótidos indicadores también son complementarios a una secuencia específica del producto de la PCR y que compite con las sondas inmovilizadas para aparearse con los oligonucleótidos indicadores. Al principio de la reacción de amplificación, ninguna o pocas moléculas de la secuencia blanco están presentes y, por ello, el indicador puede ligarse a su sonda complementaria en la matriz. En presencia de un sustrato blanco, se sintetizan más amplicones del blanco con un sitio específico de ligarse al indicador a medida que transcurre la reacción de amplificación. A medida que los amplicones se acumulan, la cinética de hibridación es más dependiente de la concentración de amplicones. Cuantos más amplicones se sintetizan, más indicadores se ligarán a ellos. Además, el soporte sólido al cual se adhiere la sonda de oligonucleótido introduce una barrera de difusión que reduce considerablemente la tasa de hibridación. Por ello, generalmente las reacciones en la fase de solución se favorecen cinéticamente a las reacciones en fase sólida.⁽²³⁾ Por lo tanto, la cantidad de indicador hibridizado a la sonda complementaria se reduce proporcionalmente a la formación de nuevos amplicones. Esta reducción se observa hasta que se alcanza un equilibrio en la reacción de amplificación. El cambio en la intensidad de señal de cada sonda se puede medir mediante las imágenes del patrón fluorescente en la matriz durante el proceso de amplificación. Las imágenes fluorescentes se toman durante la fase de apareamiento de cada ciclo de amplificación. Después de adquirir el patrón de hibridación, se aplica un algoritmo que puede identificar y eliminar las distintas señales de ruido de los datos obtenidos por medio de la PCR en tiempo real de la matriz. Posteriormente, el algoritmo calcula los valores límite del ciclo de la cinética de amplificación resultante, determinando la presencia del analito.

CARACTERÍSTICAS DEL CARTUCHO

m-PIMA™ HIV-1/2 DETECT

Componentes del cartucho

El cartucho de test m-PIMA™ HIV-1/2 Detect consiste en una base sólida de color negro, con una tapa unida que queda encajado en su posición final después de aplicar la muestra. El operador puede controlar la carga de la muestra a través de una ventana de control. El cartucho también tiene compartimentos internos que contienen reactivos secos y un depósito de solución tampón integrado. Los compartimentos del cartucho están conectados a través de una red microfluídica y el movimiento de aire/líquido dentro del cartucho se regula por el m-PIMA™ Analyser por medio de las válvulas situadas dentro del cartucho. La reacción PCR-TI se realiza dentro de la cámara de reactor del cartucho. Todos los residuos líquidos producidos durante la prueba se sellan dentro del cartucho. El cartucho es un sistema completamente sellado una vez que se cierra el tapón. La presión de aire para mover los líquidos en los distintos compartimentos se aplica a través de un septo. El septo se punza con una aguja conectada al módulo neumático del m-PIMA™ Analyser. Diversas funciones de seguridad integradas impiden la contaminación de la muestra (filtro, depósito de agua sellado). Los riesgos relacionados con la contaminación de muestras, instrumentos, cartuchos o el medioambiente con secuencia blanco de PCR se minimizan, ya que el test está diseñado para capturar el ARN nativo (un-spliced), mientras que los amplicones generados en el proceso del test representan secuencias blanco cortas aguas abajo de los puntos de apareamiento de captura.



- | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 Capilar de muestra | 2 Canal de aire | 3 Cámara del reactor |
| 4 Depósito de solución tampón | 5 Ventana de control | 6 Tapa del cartucho |

Características de control de calidad (QC)

Código de Data Matrix (DMC)

El DMC impreso en la etiqueta del cartucho contiene información específica del cartucho, como el identificador del cartucho y del lote, la fecha de caducidad y el ID del ensayo. Después de introducir el cartucho de test, el m-PIMA™ Analyser lee el DMC automáticamente. Después de leer el DMC correctamente la prueba empezará. En caso de un cartucho caducado, un DMC ilegible o la falta del software apropiado para realizar el ensayo codificado, aparecerá un mensaje de error en el m-PIMA™ Analyser y la prueba no se iniciará.

Control de detección de la muestra

El volumen de la muestra procesado durante una prueba está definido por las dimensiones del capilar de la muestra. El volumen nominal alojado por el capilar es de 25 (\pm 2) μ L.

El cartucho también contiene una ventana de control de la muestra, que le permite al operador controlar la carga de la muestra. Al principio de cada ejecución de prueba, m-PIMA™ Analyser comprueba a través de la ventana de control de la muestra si la muestra se ha cargado en el cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Al no cargar suficiente muestra en el cartucho, el análisis no se iniciará y aparecerá un mensaje de error. Para poder detectar la presencia de muestras incoloras, como plasma, se aplica un colorante en la superficie interna del capilar de la muestra. El colorante se mezcla con la muestra tras entrar en contacto y permite detectar la muestra.

Controles del proceso de ensayo

Cada cartucho contiene controles de proceso integrados para asegurar el funcionamiento adecuado del ensayo.

- Los controles del proceso internos para VIH-1 y VIH-2 se encuentran en la cámara de lisis del cartucho. Estos controles recorren junto con la muestra del paciente el procesamiento completo del ensayo, y permiten detectar posibles fallos durante la lisis, aislamiento de ARN, captura, PCR y detección. Las secuencias de estos controles positivos están diseñadas para hibridizar con los mismos oligonucleótidos de captura y partidores que las secuencias blanco respectivas, y se distinguirán durante la detección por medio de indicadores específicos y sondas en la matriz.
- El control positivo de hibridación consiste en sondas en la matriz que son complementarias a los indicadores específicos en solución. El control positivo de hibridación no interfiere con los partidores de PCR en la mezcla TI-PCR y, por lo tanto, tiene que dar una señal válida por encima de un valor de límite definido mientras que no debe dar un valor de ct (detecta si las condiciones de hibridación están fuera del rango).
- El control de hibridación negativo consiste en sondas en la matriz no complementarias a ningún indicador. La señal de hibridación de este control tiene que ser debajo del límite definido (detecta hibridación no específica).

El cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect también contiene varios parámetros de QC para asegurar un funcionamiento adecuado del m-PIMA™ Analyser y la consistencia de los datos crudos para los análisis de datos.

Reactivos

| | % (w/w) |
|--|-----------------------------|
| Capilar de muestra (revestido con) K ₃ EDTA*2H ₂ O Brilliant Black | 65 % |
| Mezcla de lisis (pastilla, incluida en el cartucho) Guanidin-HCl N-Lauroylsarcosine Na ₂ EDTA*4H ₂ O Na ₂ EDTA*2H ₂ O Antifoam BC 2527 | 89,7 % 0,92 % 1,23 % |
| Pastilla de proteinasa K (pastilla, incluida en el cartucho) Proteinase K | |
| Oligonucleótidos de captura/ controles internos del proceso (en soporte sólido, incluido en el cartucho) Oligonucleótidos con residuo de biotina Tris-HCl Na ₂ EDTA*2H ₂ O Tris MgCl ₂ NaCl BSA, acetilado ARN artificial de virus | |
| PCR-TI mezcla 1 (comprimido, incluido en el cartucho) Anticuerpo anti-Taq Taq polimerasa Transcriptasa inversa Tris-HCl mezcla dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) | |
| PCR-TI mezcla 2 (comprimido, incluido en el cartucho) Oligonucleótidos Oligonucleótidos con residuos de Cy5 Tris-HCl Na ₂ EDTA*2H ₂ O | |
| Streptavidina-Sepharosa (partículas sólidas, incluidas en el cartucho) Streptavidina-Sepharosa | |
| Mezcla de lavado (pastilla, incluida en el cartucho) Guanidin-HCl Na ₄ EDTA*4H ₂ O Na ₂ EDTA*2H ₂ O | 93,3 % 1,2 % |
| Solución tampón A (líquido, sellado en el cartucho) NaN ₃ Guanidin-HCl Na ₄ EDTA * 4H ₂ O Na ₂ EDTA * 2H ₂ O Triton X-100 Tween 20 KCl Tris MgCl ₂ Agua ultrapurificada | 0,04 % 0,32 % 0,005 % |

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Uso diagnóstico in vitro

- ❗ Para uso diagnóstico *in vitro*.
- ❗ El test m-PIMA™ HIV-1/2 Detect no está indicado para ser usado como prueba de exploración de donantes para VIH.
- ❗ Los cartuchos m-PIMA™ HIV-1/2 Detect están previstos para ser utilizados solamente con el instrumento m-PIMA™ Analyser.
- ❗ La utilización del cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect está limitada a personal capacitado para realizar el ensayo.
- ❗ Los cartuchos m-PIMA™ HIV-1/2 Detect son desechables.

Precauciones de seguridad

- ❗ Siga las instrucciones de control de infecciones adecuadas para manipular muestras de sangre y artículos relacionados.
- ❗ Lleve siempre guantes sin polvo al manipular o recoger muestras o cartuchos de prueba, y cambie los guantes después de cada recogida de muestras y antes de manipular cartuchos nuevos (consulte las páginas 14 y 15 para obtener más detalles).
- ❗ NO pipetee con la boca.
- ❗ NO coma, beba, fume, aplique cosméticos o manipule lentes de contacto en zonas donde se manipulan muestras.
- ❗ Limpie y desinfecte cualquier muestra derramada mediante el uso de un desinfectante como hipoclorito de sodio al 1,0 % u otro desinfectante adecuado.
- ❗ Descontamine y deseche todos los materiales potencialmente infecciosos de conformidad con las regulaciones locales, estatales y federales.
- ❗ La Hoja de Datos de Seguridad del Material para este producto se encuentra disponible a pedido a través de Asistencia Técnica.

Precauciones de manipulación

- ❗ Solo use los cartuchos m-PIMA™ HIV-1/2 Detect a temperaturas ambiente de 10 - 40 °C y humedad relativa por debajo del 90 %.
- ❗ Utilice únicamente sangre venosa completa EDTA o plasma, y sangre capilar completa (del dedo o del talón) con la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. El uso de otros tipos de muestras no se ha evaluado y NO se recomienda, ya que puede provocar resultados imprecisos o inválidos. NO utilice muestras de sangre coagulada ya que podrían dar resultados inválidos o imprecisos.
- ❗ Cuando utilice muestras obtenidas mediante punción en el talón asegúrese de que el sitio de la punción esté limpio y no esté contaminado con sangre materna.
- ❗ Los cartuchos se entregan con el tapón colocado. NO cierre el tapón hasta que el cartucho esté completamente cargado con la muestra ya que esto puede arrojar un resultado inválido.
- ❗ NO intente volver a abrir un tapón cerrado. Los tapones dañados pueden provocar cierres incompletos del cartucho y errores en el instrumento.
- ❗ NO toque la lámina transparente que recubre la cámara del reactor. Las cubiertas dañadas o sucias pueden provocar errores en el instrumento.
- ❗ NO utilice cartuchos dañados, mojados o cartuchos con la bolsa de aluminio dañada ya que la integridad del reactivo puede verse comprometida.

Contaminación e inhibición

Se deben tener en cuenta las siguientes precauciones para minimizar los riesgos de contaminación, contaminación cruzada entre muestras e inhibición de la RNasa:

- ❗ Lleve siempre guantes sin polvo al manipular o recoger muestras o cartuchos de prueba, y cambie los guantes después de cada recogida de muestras y antes de manipular cartuchos nuevos (consulte las páginas 14 y 15 para obtener más detalles).
- ❗ Al utilizar una pipeta volumétrica, utilice siempre puntas de pipeta con filtro de aerosoles para impedir la contaminación entre muestras. Si no dispone de puntas de pipeta con filtro de aerosoles, utilice capilares de transferencia desechables. NUNCA reutilice las puntas de las pipetas ni los capilares de transferencia.
- ❗ Durante la recogida, manipulación y aplicación de muestras, el cumplimiento con las buenas prácticas de laboratorio es fundamental para minimizar el riesgo de contaminación cruzada entre muestras y la introducción accidental de ribonucleasas (RNasas) en las muestras.

- ❗ Siempre que se trabaje con ARN se debe utilizar una técnica aséptica adecuada.
- ❗ Las tecnologías de amplificación tales como PCR son sensibles a la introducción accidental de productos de reacciones de amplificación previas.
- ❗ Pueden producirse resultados incorrectos si la muestra clínica o capilar del cartucho se contaminan mediante la introducción accidental de apenas unas pocas moléculas del producto de amplificación.

Instrucciones de almacenamiento

- ❗ Almacene los cartuchos a temperatura ambiente (4 - 30 °C). La temperatura circundante puede estar fuera de este rango durante un período limitado (es decir, hasta 48 horas a 2 °C y hasta 72 horas a 40 °C). Una vez retirados de la bolsa protectora, los cartuchos se mantendrán estables durante 10 minutos a 40 °C y 90 % de humedad relativa.
NO congele los cartuchos.

Indicación de inestabilidad o deterioro

- ❗ Cuando un valor de control positivo o negativo se encuentra fuera del rango previsto, es posible que indique el deterioro de los reactivos del ensayo. Los resultados de pruebas relacionados son inválidos y las muestras deben reanalizarse.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA m-PIMA™ HIV-1/2 DETECT

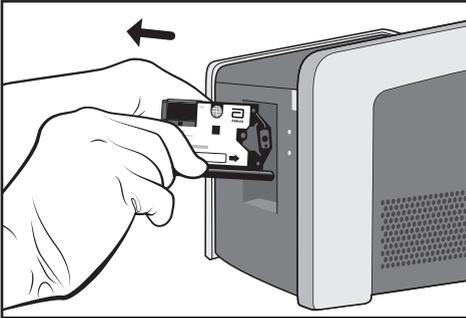
Flujo de trabajo básico

1. Encienda el m-PIMA™ Analyser y espere a que se complete la inicialización.
La presencia de la pantalla «INICIO» indica que el analizador está listo para su uso.
2. ¡Utilice siempre guantes nuevos para cada cartucho!
Saque el cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect de la bolsa y retire por completo el tapón del cartucho para que el capilar de la muestra quede completamente expuesto.
Abra la bolsa de aluminio solamente cuando esté listo para cargar la muestra en el cartucho.
3. Aplique la muestra en el cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. La cantidad de muestra es suficiente cuando la ventana de control de la muestra esté llena de sangre.
4. Después de completar la carga de la muestra, cierre el cartucho tapando el capilar con el tapón del cartucho, como se muestra en las imágenes 11-14/ página 19.
No introduzca el cartucho en el dispositivo antes de comprobar que el tapón haya quedado encajado en su sitio.
5. Los cartuchos cargados tienen que procesarse inmediatamente después de aplicar la muestra.
6. Pulse «EJECUTAR PRUEBA» en el m-PIMA™ Analyser e introduzca el cartucho de test en la dirección indicada por la flecha en la etiqueta del cartucho. Siga las instrucciones que aparecen en pantalla o consulte la Guía del usuario de m-PIMA™ Analyser para obtener información sobre cómo proceder con el análisis.
7. Saque el cartucho cuando lo indique el m-PIMA™ Analyser (paso 1).
¡Utilice siempre guantes cuando saque los cartuchos del instrumento!
El resultado de la prueba se mostrará en la pantalla del instrumento.
8. Para desechar los cartuchos de test usados, preferentemente envuélvalos dentro de los guantes (el siguiente ejemplo corresponde a usuarios diestros):
 - Sostenga el cartucho de test con la mano izquierda. Con la mano derecha, pellizque el guante de la mano izquierda a la altura de la muñeca y tire de él hacia abajo de manera que el guante cubra el cartucho y los dedos queden libres (pasos 2 y 3). Sostenga el guante con el cartucho sellado en el puño de la mano derecha.
 - Introduzca uno o dos dedos de la mano izquierda sin guante por debajo del borde del lado de la palma del guante derecho; empuje el guante de adentro hacia afuera haciéndolo pasar sobre los dedos y sobre el guante izquierdo y el cartucho (paso 4).
 - Tome los guantes que ahora se encuentran juntos y al revés sellando el cartucho con la mano izquierda y quítelos de la mano derecha (paso 5).
 - Deséchelos como residuo biológico peligroso (paso 6).

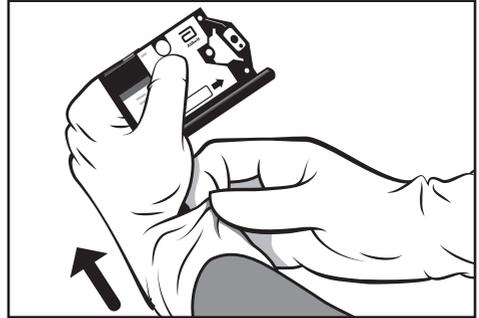
Cómo desechar los cartuchos usados

(En la página anterior se ofrece una descripción detallada.)

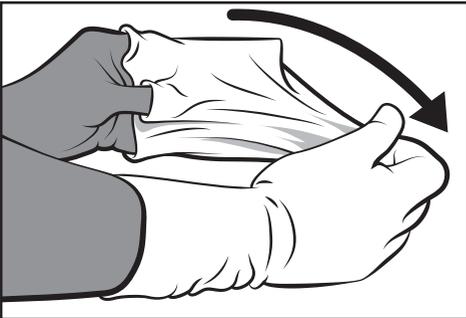
1



2



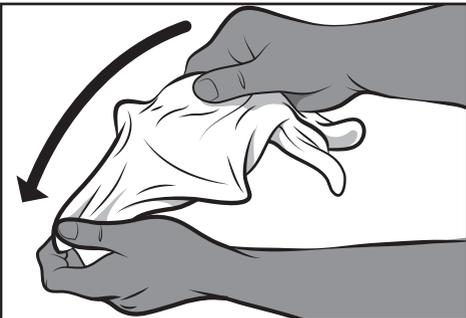
3



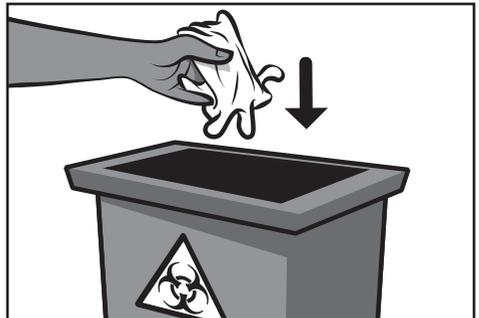
4



5



6



Recogida de muestra con punción digital ⁽²⁶⁾

1. ¡Utilice siempre guantes nuevos con cada paciente!
Prepare al paciente para recoger la muestra mediante punción digital. Los mejores puntos para la punción digital son los dedos tercero y cuarto. No utilice la punta del dedo ni el centro de la yema del dedo. Evite el lado del dedo donde hay menos tejido blando, donde están situados los vasos y los nervios, y donde el hueso está más cerca de la superficie. El segundo dedo (índice) tiende a tener una piel más gruesa y callosa. El quinto dedo tiende a tener menos tejido blando recubriendo al hueso. Evite pinchar un dedo que esté frío, cianótico, hinchado, cicatrizado o cubierto por un exantema. Evite usar dedos con anillos.
2. Caliente los dedos si es necesario. Haga al paciente tender las manos hacia abajo para aumentar el flujo sanguíneo hacia el dedo.
Nota: El paciente debería siempre estar sentado más alto que la persona efectuando la punción digital.
3. Limpie la punta del dedo seleccionado con una gasa de alcohol y deje que el alcohol se seque al aire.
4. Si el cartucho se llena directamente del dedo punzado, vaya al paso 5. Si se usa un capilar de transferencia, consulte la sección sobre la aplicación de muestra a través de un capilar de transferencia (página 20).
5. Saque el cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect de la bolsa y abra el tapón de plástico para que el capilar de la muestra quede completamente expuesto.
6. Utilice una lanceta estéril para realizar una punción dérmica justo fuera del centro de la yema del dedo. Para obtener una muestra de sangre representativa, es crucial tener un flujo sanguíneo constante. Cuando utilice una lanceta automática, es fundamental presionar firmemente la lanceta en el dedo y mantener el contacto mientras se expulsa la lanceta. No apriete ni aplique presión fuerte de forma repetida (ordeñar) en el punto, ya que de la muestra se podría contaminar con fluidos del tejido. Si fuera necesario, masajee suavemente el dedo para asegurar un flujo sanguíneo constante.
7. Limpie las primeras gotas de sangre con una gasa seca. Compruebe que el flujo sanguíneo sea estable y genere gotas de sangre con suficiente tamaño. Si es necesario, limpie otra gota hasta que la sangre fluya libremente.
8. Deje que la sangre fluya libremente del dedo punzado y directamente en el capilar de la muestra, sosteniendo el cartucho a un ángulo de 45 grados para la carga de la muestra. Espere hasta que el capilar de la muestra esté completamente lleno de sangre. La cantidad de muestra es suficiente cuando la ventana de control de la muestra se haya llenado de sangre. A continuación, saque el cartucho del dedo y haga aplicar al paciente presión directa en el lado de la herida con una gasa limpia y seca.
9. Continúe con el paso 5 de la descripción del Flujo de trabajo básico (página 14).
10. Aplique una tirita en el dedo del paciente.

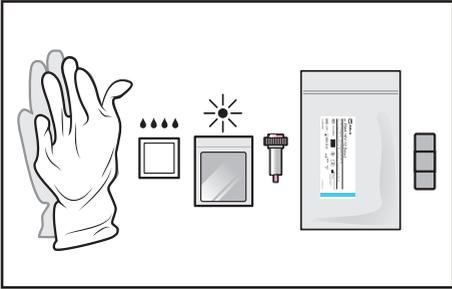
Recogida de muestra con punción en el talón ^(24, 25)

La selección del punto para la recogida de muestra capilar en un paciente pediátrico suele basarse en la edad y el peso del paciente. Si el niño camina, los pies pueden tener callosidades que dificultan el flujo sanguíneo adecuado. Para bebés mayores de 6 meses y con un peso corporal superior a 10 kg la recogida de muestra mediante la punción digital puede ser más apropiado.

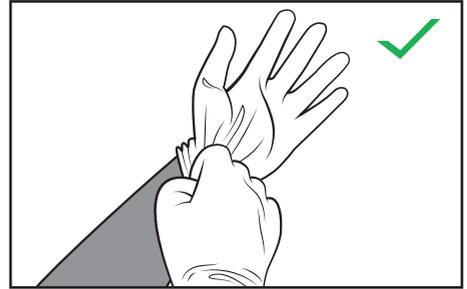
Consulte los procedimientos operativos estándar de su institución al respecto.

1. Se recomienda tranquilizar al bebé. Pida asistencia a los padres. Asegúrese de que el bebé esté en brazos y en una posición segura para recoger la muestra.
2. Compruebe que el bebé esté cálido y cómodo. No es necesario calentar el pie adicionalmente.
3. ¡Utilice siempre guantes nuevos con cada paciente! Limpie el punto de punción del talón. El talón debe estar completamente seco antes de tomar la muestra.
4. En caso de que el cartucho se llena directamente del talón punzado, siga con el paso 5. En caso de usar un capilar de transferencia, consulte la sección sobre la aplicación de la muestra a través de un capilar de transferencia (página 20).
5. Saque el cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect de la bolsa y abra el tapón de plástico para que el capilar de la muestra quede completamente expuesto.
6. Utilice una lanceta estéril apropiada para neonatos para realizar la punción en la piel. Los bordes externo e interno del calcáneo son los puntos de punción recomendados (áreas sombreadas en la imagen 3/ página 18).
Para obtener una muestra de sangre representativa, es crucial tener un flujo sanguíneo constante. Cuando utilice una lanceta automática, es fundamental presionar firmemente la lanceta en el talón y mantener el contacto mientras se expulsa la lanceta. No apriete ni aplique presión fuerte de forma repetida (ordeñar) en el punto, ya que la muestra se podría contaminar con fluidos del tejido. Si fuera necesario, masajee suavemente el talón para asegurar un flujo sanguíneo constante.
7. Limpie las primeras gotas de sangre con una gasa seca. Compruebe que el flujo sanguíneo sea estable y genere gotas de sangre con suficiente tamaño. Si es necesario, limpie otra gota hasta que la sangre fluya libremente.
8. Deje que la sangre fluya libremente del talón punzado y directamente en el capilar de la muestra, sosteniendo el cartucho con un ángulo de 45 grados para la carga de la muestra. Espere hasta que el capilar de la muestra esté completamente lleno de sangre. La cantidad de muestra es suficiente cuando la ventana de control de la muestra se haya llenado de sangre. A continuación, saque el cartucho del talón y haga aplicar a los padres presión directa en el lado de la herida con una gasa limpia y seca.
9. Continúe con el paso 4 de la descripción del Flujo de trabajo básico (página 14).
10. Aplique una tirita en el talón del bebé.

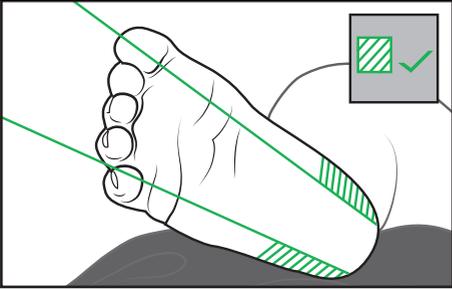
1



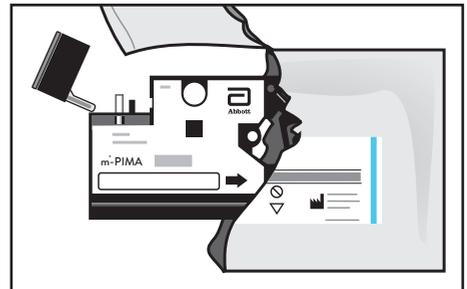
2



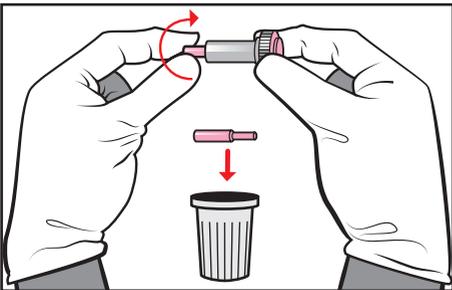
3



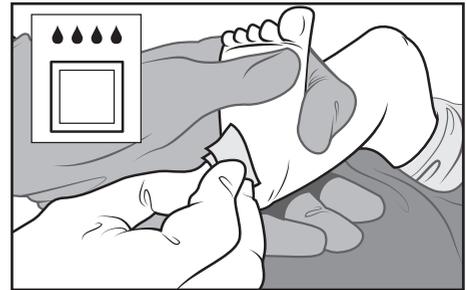
4



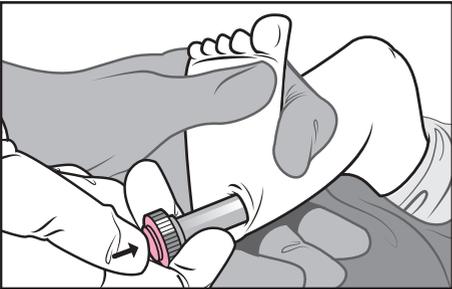
5



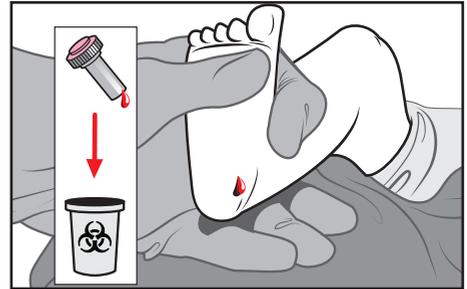
6



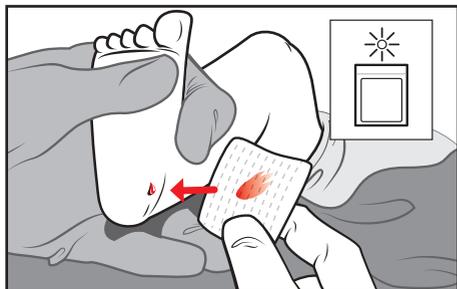
7



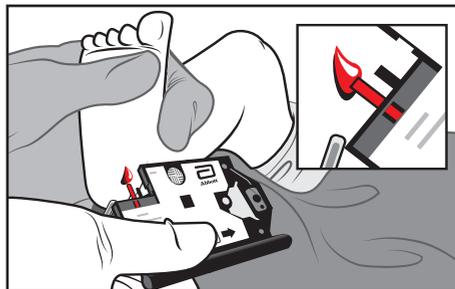
8



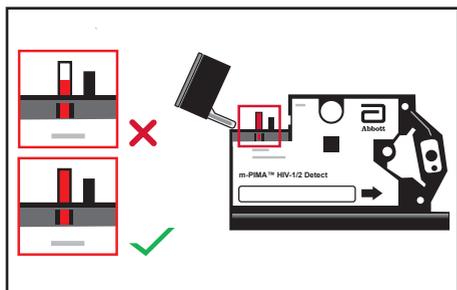
9



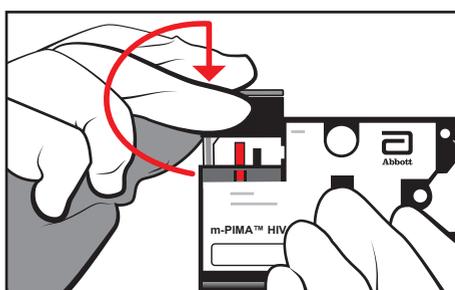
10



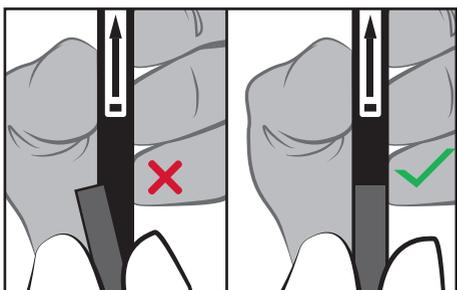
11



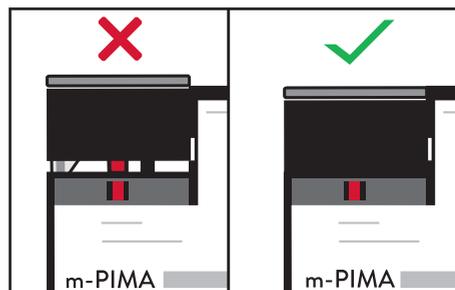
12



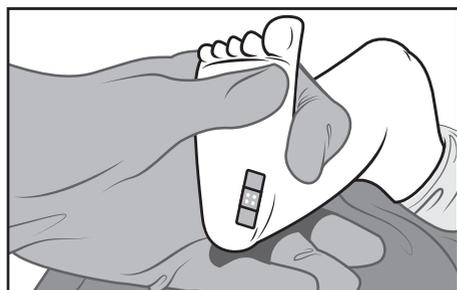
13



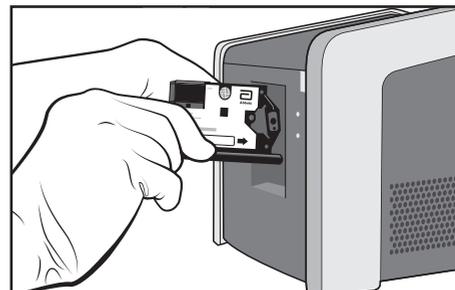
14



15



16



Recogida de muestra de sangre completa venosa ⁽²⁷⁾

1. ¡Utilice siempre guantes nuevos con cada paciente o con cada muestra que manipule! Recoja la sangre de manera aséptica mediante venopunción en un tubo estéril de recogida de sangre EDTA (ácido etilendiaminotetraacético).
2. Invierta el tubo de recogida 8 - 10 veces.
3. Almacene a temperatura ambiente (18 - 28 °C). La muestra debe analizarse dentro de 24 horas posteriores a la recogida. Si las muestras se necesitaran almacenar por períodos prolongados, consulte la sección sobre Estabilidad de la muestra (página 24) para obtener más información.
4. Antes de analizar la muestra, invierta el tubo de recogida 10 - 15 veces para asegurar una mezcla adecuada de la muestra.
5. En caso de analizar plasma, los tubos de recogida deben centrifugarse a 800 - 1600 x g durante 20 minutos a temperatura ambiente.
6. Si el cartucho se llena directamente con una pipeta volumétrica, vaya al paso 7. Si se usa un capilar de transferencia, consulte la sección sobre la aplicación de la muestra a través de un capilar de transferencia (véase abajo).
7. Al utilizar una pipeta volumétrica, utilice siempre puntas de pipeta con filtro de aerosoles para impedir la contaminación entre muestras. Si no dispone de puntas de pipeta con filtro de aerosoles, utilice capilares de transferencia de un solo uso. NUNCA reutilice las puntas de las pipetas.
8. Aplique 25 µL en el capilar de la muestra del cartucho m-PIMA™ HIV-1/2 Detect y continúe con el paso 4 de la descripción del Flujo de trabajo básico (página 14).

Aplicación de la muestra mediante capilares de transferencia

Los capilares de transferencia pueden usarse para aplicar todos los tipos de muestras compatibles con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Para muestras que contienen EDTA, utilice capilares sin coagulantes adicionales (consulte la página 5 para obtener más información). Para sangre recogida directamente de un talón o dedo punzado, utilice siempre capilares que contengan EDTA.

¡Utilice siempre un nuevo capilar de transferencia para cada paciente!

1. Al recoger sangre completa directamente de un talón o dedo punzado, coloque un extremo del capilar EDTA en contacto con la gota de sangre. Sostenga el capilar casi horizontalmente. Al recoger sangre completa venosa/plasma, inserte un capilar liso en el tubo de recogida y sostenga a ambos casi horizontalmente, sin derramar la muestra.
2. Deje que el capilar se llene aproximadamente hasta la mitad sin que se formen burbujas de aire.
3. Cierre el extremo opuesto del capilar de transferencia con el dedo para impedir la liberación indeseada de la muestra.

4. Coloque el extremo abierto del capilar de transferencia en contacto con el capilar de muestra del cartucho de test y sostenga el capilar de transferencia casi verticalmente. Quite el dedo del otro extremo. El capilar de muestra extraerá automáticamente la sangre del capilar de transferencia. Observe el descenso en el nivel de llenado del capilar de transferencia.
Se detendrá cuando suficiente muestra se haya transferido al cartucho.
5. Deseche el capilar de transferencia como material potencialmente infeccioso, de conformidad con las regulaciones locales, estatales y federales, y vaya al paso 4 de la descripción del Flujo de trabajo básico (página 14).

Informe de prueba

Los informes de prueba se almacenan en el archivo integrado del m-PIMA™ Analyser.

Los informes contienen la información siguiente:

Nombre de la prueba, ID de la muestra, resultados cualitativos de la prueba para VIH-1 M/N y O y VIH-2, número de resultado, fecha y hora de la prueba, ID de cartucho (incl. información sobre el lote), ID de operador, número de serie del dispositivo, versión del software, instrumento, información sobre el QC del proceso del ensayo y del análisis de datos.

Los resultados de la prueba pueden exportarse, transmitirse a un servidor remoto por medio de Connectivity Packs o imprimirse usando la impresora USB Printer disponible como accesorios del m-PIMA™ Analyser.

Resultado de la prueba

Se proporciona un resultado cualitativo (detectado/no detectado) para los analitos VIH-1 (grupos M/N y O) y VIH-2.

Si se muestra el resultado “VIH detectado (positivo)” para uno o varios de los analitos medidos simultáneamente (VIH-1 M/N, VIH-1 O y VIH-2), se detecta el ARN de VIH y se considera la muestra como VIH positivo.

Si se muestra el resultado “VIH no detectado” en el informe de la prueba de los tres analitos medidos simultáneamente (VIH-1 M/N, VIH-1 O y VIH-2), no se detecta el ARN de VIH en la muestra (vea ejemplos de informes de prueba impresos en la página 22).

Para ver los códigos de error mostrados, consulte la Guía del usuario del m-PIMA™ Analyser (Capítulo 9).

Informes de resultados de prueba (ejemplos)

Informe de prueba para resultados
VIH positivo

Informe de prueba si no se detecta VIH

| | |
|--|--------------|
|  Informe de prueba | |
| m-PIMA HIV-1/2 Detect | |
| <hr/> ID de muestra 23-07-2019-ABC | |
| <hr/> VIH detectado (positivo) | |
| VIH-1 M/N | Detectado |
| VIH-1 O | No detectado |
| VIH-2 | No detectado |
| <hr/> Resultado N° 107 | |
| <hr/> Fecha/Hora 2019-07-23 15:50 | |
| <hr/> ID del cartucho 0123456789 | |
| <hr/> Operador SAM MILLER | |
| <hr/> N° serie dispositivo NAT-04000935 | |
| <hr/> Software 0.26.3 | |
| CC | |
| Detección de muestra | Aprobado |
| Dispositivo | Aprobado |
| Control de VIH-1 positivo | Aprobado |
| Control de VIH-2 positivo | Aprobado |
| Control negativo | Aprobado |
| Análisis | Aprobado |
| <hr/> Firma | |

| | |
|--|--------------|
|  Informe de prueba | |
| m-PIMA HIV-1/2 Detect | |
| <hr/> Sample ID 2347-SRT-2019 | |
| <hr/> VIH no detectado | |
| VIH-1 M/N | No detectado |
| VIH-1 O | No detectado |
| VIH-2 | No detectado |
| <hr/> Resultado N° 34 | |
| <hr/> Fecha/Hora 2019-08-12 11:50 | |
| <hr/> ID del cartucho 0123456554 | |
| <hr/> Operador OP-23 | |
| <hr/> N° serie dispositivo NAT-040001098 | |
| <hr/> Software 0.26.3 | |
| CC | |
| Detección de muestra | Aprobado |
| Dispositivo | Aprobado |
| Control de VIH-1 positivo | Aprobado |
| Control de VIH-2 positivo | Aprobado |
| Control negativo | Aprobado |
| Análisis | Aprobado |
| <hr/> Firma | |

Nota: Las líneas de resumen de los resultados de las pruebas “VIH detectado (positivo)” y “VIH no detectado” se han introducido con la versión de software 0.26.3 del m-PIMA™ Analyser.

Las versiones de software anteriores solo muestran los resultados de las pruebas de análisis individuales.

Parámetros de QC

Detección de muestra:

control de presencia de la muestra

Dispositivo:

varios parámetros de QC para la funcionalidad del m-PIMA™ Analyser

Control de VIH-1 positivo:

control de proceso interno para VIH-1

Control de VIH 2 positivo:

control de proceso interno para VIH-2

Control negativo:

control para hibridación no específica

Análisis:

varios parámetros de QC para el proceso de análisis, incl. el control de hibridación positivo

LIMITACIONES

Interpretación de los resultados

Las muestras “No detectado” para RNA de VIH-1 o VIH-2 usando m-PIMA™ HIV-1/2 Detect no indican necesariamente la ausencia de una infección por VIH en el paciente respectivo.

Como ocurre con cualquier prueba de diagnóstico, los resultados de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect tienen que interpretarse junto con otros resultados clínicos y de laboratorio.

La detección de ARN de VIH-1 y VIH-2 depende del número de partículas de virus presentes en la muestra y puede verse afectada por los métodos de recogida de muestras y factores del paciente (p. ej. edad, presencia de síntomas, estadio de la infección y carga viral).

Pacientes que reciben una terapia antirretroviral (TAR) o terapia preventiva (p. ej., PrEP, PEP, etc.) pueden presentar niveles indetectables de ARN del VIH a pesar de la presencia de una infección por VIH. m-PIMA™ HIV-1/2 Detect no está indicada para confirmar una infección por VIH en pacientes que reciben TAR o terapia preventiva.

Variantes genéticas/ mutaciones

El ensayo m-PIMA™ HIV-1/2 Detect apunta a partes conservadas de la región 5'-UTR (región no traducida) en el genoma del VIH-1 y de la región 5'-LTR (repetición terminal larga) en el genoma del VIH-2, respectivamente.

Mientras que la detección de analitos del grupo M del VIH-1 se basa en dos reacciones de amplificación dirigidas a la región aguas arriba de *gag* (5'-UTR) y la región *pol* del genoma viral (objetivo doble), la detección del grupo N del VIH-1 y del grupo N del VIH-1 grupo O se basa únicamente en la región aguas arriba de *gag* (objetivo único). La detección de polimorfismos es posible gracias a la combinación de varios cebadores.

Aunque son raras, las variantes genéticas/ mutaciones, p. ej., debido a cambios de base, deleciones o inserciones dentro de las regiones genómicas a las que se dirige el ensayo m-PIMA™ HIV-1/2 Detect pueden afectar los sitios de unión del cebador y/o la sonda, lo que resulta en una disminución de la eficiencia de detección del ensayo y/o un aumento en la tasa de error.^(28, 29)

Estos efectos deben tenerse en cuenta al interpretar los resultados de la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Los resultados negativos de la prueba pueden requerir más pruebas utilizando tecnologías con diferentes objetivos genómicos si los hallazgos clínicos y de laboratorio indican una infección por el VIH.

Los resultados falsos positivos de la prueba del grupo M/N del VIH-1 pueden ocurrir en los casos en que el grupo O del VIH-1 está presente en la muestra a una concentración de 100.000 cp/mL o superior.

Efecto de la matriz

Dado que el análisis incluye ARN de VIH asociado a células, la cantidad de partículas de virus por volumen de muestra es mayor en muestras de sangre completa que en muestras de plasma. Se analizaron las muestras de 168 pacientes del Cohorte B (véase abajo) con cargas virales en el plasma correspondiente de entre 0 y 2491 cp/mL (Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 versión 2.0). Mientras que la sensibilidad diagnóstica (intervalo de confianza del 95 %) con Roche Cobas® utilizando 1 mL de plasma fue del 48,4 % [41,0 %; 55,8 %], las sensibilidades con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect utilizando un volumen de muestra de 25 µL fue del 51,4 % [43,8 %; 59,0 %] para la sangre capilar, 56,6 % [49,1 %; 63,9 %] para la sangre completa venosa, pero sólo del 2,7 % [0,9 %; 6,2 %] para las muestras de plasma correspondiente, respectivamente, lo cual indica una pérdida de sensibilidad para las muestras de carga viral baja cuando se utiliza plasma en lugar de sangre completa.

Estabilidad de la muestra

La sangre completa venosa, recogida en tubos EDTA, puede almacenarse a temperatura ambiente (18 - 28 °C) hasta 24 horas después de la recogida antes analizarla con el m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Si no se puede analizar la muestra dentro de 24 horas, las muestras deben alicuotarse y congelarse a al menos -80 °C como sangre completa o como plasma en un plazo de 24 horas después de la recogida. Las muestras congeladas se deben descongelar a temperatura ambiente y, una vez descongeladas, deben analizarse inmediatamente.

Se recomienda invertir los tubos de muestra descongelada 10-15 veces antes del pipeteado.

Nota: El almacenamiento de muestras a temperatura ambiente durante más de 24 horas, o a temperaturas que superen los 28 °C, o más de un ciclo de congelación y descongelación, pueden afectar negativamente al rendimiento de la prueba, especialmente en muestras con cargas virales < 4000 cp/mL.

Pruebas múltiplex

Las pruebas múltiplex se refieren a la presencia simultánea de VIH-1 M/N, VIH-1 O y/o VIH-2 en la misma muestra del paciente. En caso de existir grandes diferencias de carga viral, la posibilidad de detectar el analito presente en concentraciones bajas puede verse reducida (consulte también la sección “Ensayo múltiplex” en la página 38).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Las características de rendimiento de la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect se establecieron en estudios por Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH en Jena, Alemania, y en sitios externos en Mozambique, Uganda, los Estados Unidos de América y Alemania. Se analizaron muestras de varios cohortes poblacionales de África y Europa. Debido a la disponibilidad limitada de muestras que contengan VIH-1 grupo O y VIH-2, la mayoría de muestras incluidas en estos estudios dieron positivo solo para VIH-1 grupo M/N.

- Cohorte A:** Se colectaron un total de 254 muestras pareadas de sangre completa EDTA venosa y plasma congeladas, de donantes positivos de VIH-1 sin tratamiento previo y después de seroconversión en clínicas de Alemania y se analizaron en Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH (anteriormente Alere Technologies GmbH). Para cada muestra de plasma, se disponía de datos sobre la carga viral de VIH-1 de Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 versión 2.0.
- Cohorte B:** Se recogieron muestras frescas de sangre venosa completa y sangre capilar de 200 donantes positivos de VIH-1 después de seroconversión (91,5 % en TAR) y se analizaron en sitios clínicos en Alemania. Las muestras de plasma correspondiente se analizaron en Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH. Para cada muestra de plasma, se disponía de datos sobre la carga viral de VIH-1 de Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 versión 2.0.
- Cohorte C:** Se analizaron muestras frescas de sangre completa capilar digital de 200 donantes positivos de VIH-1 después de seroconversión (73,5 % en TAR) en un sitio clínico de Uganda. Las muestras correspondientes de sangre completa venosa se analizaron en el Instituto de Investigación sobre Virus de Uganda. Para cada muestra, se disponía de datos sobre la carga viral de plasma de VIH-1 de Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 versión 2.0.
- Cohorte D:** Muestras congeladas de plasma EDTA de 101 donantes positivos de VIH-2 después de seroconversión (72 % en TAR) fueron recolectadas en sitios clínicos de varios países africanos y analizados en la Universidad de Washington (UW), EE.UU. Para cada muestra de plasma, se disponía de datos sobre la carga viral de VIH-2 procedentes de un ensayo definido en laboratorio de VIH-2, desarrollado en UW, y utilizando la plataforma Abbott m2000.⁽³⁰⁾
- Cohorte E:** Muestras frescas de sangre completa obtenidas de punción en el talón de 223 niños (edad media: 1 mes; rango: 1 - 11) nacidos de madres infectadas por el VIH se analizaron en sitios clínicos de Mozambique. Para cada muestra de sangre completa, se determinó la positividad para VIH-1 usando la prueba cualitativa de Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1.

- Cohorte F:** Se obtuvieron muestras de plasma EDTA venosas de personas durante la seroconversión de anticuerpos de VIH-1. Se compraron diez paneles disponibles comercialmente que incluían 128 muestras de seroconversión temprana a Helvetica Health Care, Ginebra, Suiza, y se probaron en Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH. Para cada muestra de plasma, se determinó la positividad para VIH-1 usando el dispositivo Abbott ARCHITECT® HIV Ag/Ab Combo.
- Cohorte G:** Un total de 1203 muestras congeladas de sangre venosa EDTA y de plasma de donantes europeos presumiblemente saludables (disponibles comercialmente a través de BBI Solutions, Cardiff, RU) se analizaron en Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH. Las muestras clínicas dieron resultados negativos para anticuerpos de VIH-1/2, NAT de VIH-1, NAT de VHB, antígeno de superficie de la hepatitis B, NAT de VHC, anticuerpos del virus de la hepatitis C y sífilis.
- Cohorte H:** Muestras frescas de sangre completa venosa EDTA y de plasma de donantes europeos presumiblemente saludables (disponibles comercialmente en el Institut für Transfusionsmedizin der Friedrich Schiller Universität Jena, Alemania) dieron resultados negativos en la prueba de anticuerpos de VIH-1/2, anticuerpos de VHC, antígeno de superficie de la hepatitis B, anticuerpos de la proteína del núcleo de hepatitis B, sífilis, anticuerpos irregulares, NAT de VHC y NAT de VIH-1 (Roche COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 versión 2.0).

Sensibilidad diagnóstica en muestras de VIH-1 frescas y congeladas de sangre completa y plasma

La sensibilidad diagnóstica de una prueba se define como la proporción de sujetos con la condición clínica de interés que tiene un resultado de la prueba positivo y se expresa como una proporción o un porcentaje. La sensibilidad diagnóstica se determinó usando un total de 295 muestras de sangre completa venosa, 235 muestras de plasma y 74 muestras de sangre capilar de los cohortes A, B y C con cargas virales del plasma correspondiente superiores al límite de detección de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect (≥ 2491 cp/mL determinado con Roche Cobas®). La sensibilidad diagnóstica observada [intervalos de confianza del 95 %] de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect para VIH-1 en sangre venosa completa, plasma y muestras capilares de sangre completa fue del 98,98 % (292/295) [97,06 %, 99,79 %], 99,57 % (234/235) [97,65 %, 99,99 %] y 98,65 % (73/74) [92,70 %, 99,97 %], respectivamente. No se detectaron muestras reactivas para VIH-2 en estas cohortes.

Sensibilidad diagnóstica en muestras con VIH-2

La sensibilidad diagnóstica se determinó usando un total de 37 muestras de plasma de la cohorte D con cargas virales del plasma correspondiente superiores al límite de detección de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect (≥ 952 cp/mL, equivalente a ≥ 98 cp/mL determinado con Abbott m2000). La sensibilidad diagnóstica observada [intervalos de confianza del 95 %] de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect para VIH-2 en muestras de plasma fue del 97,30 % (36/37) [85,84 %, 99,93 %]. De los 101 pacientes de la cohorte D, 8 fueron coinfectados con VIH-1 y VIH-2 según datos históricos serológicos. De estos, 4 pacientes mostraron una carga viral detectable para uno o ambos tipos de virus con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. No se observaron resultados discrepantes para VIH-2. Uno de los pacientes reactivos para VIH-1 en Abbott m2000 no se detectó en m-PIMA™ HIV-1/2 Detect, pero la carga viral de esta muestra estaba por debajo del límite de detección de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect.

Los otros 4 pacientes tenían un virus indetectable, tanto con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect como con el método de referencia.

Sensibilidad y especificidad diagnóstica en muestras neonatales

La sensibilidad y especificidad diagnóstica para muestras neonatales se determinó usando un total de 223 muestras de sangre completa obtenidas mediante punción en el talón de la cohorte E. La sensibilidad y especificidad diagnóstica observada [intervalos de confianza del 95 %] de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect para VIH-1 en muestras de sangre obtenidas mediante punción en el talón fueron del 100 % (18/18) [84,7 %, 100 %] y del 100 % (205/205) [98,5 %, 100 %], respectivamente. No se detectaron muestras reactivas para VIH-2 en esta cohorte.

Sensibilidad diagnóstica en paneles de seroconversión

La sensibilidad diagnóstica en paneles de seroconversión se determinó usando los 10 paneles de la cohorte F. m-PIMA™ HIV-1/2 Detect detectó VIH-1 en 46 de los 128 miembros del panel, comparado a 42 de 128 detectados por el dispositivo Abbott ARCHITECT® HIV Ag/Ab Combo. En 4 de los 10 paneles, m-PIMA™ HIV-1/2 Detect detectó VIH-1 M/N más temprano que la referencia, con una antelación de hasta 4 días.

Consulte la Tabla 1 para resultados detallados.

Tabla 1: Sensibilidad de seroconversión

| Panel | Número de miembros del panel analizados | Número de miembros del panel detectados | | Días hasta el primer VIH detectado | | Diferencia de días hasta el primer VIH detectado (m-PIMA™ menos Abbott) |
|--------------|---|---|-----------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|---|
| | | m-PIMA™ HIV-1/2 Detect | Abbott ARCHITECT® HIV Ag/Ab Combo | m-PIMA™ HIV-1/2 Detect | Abbott ARCHITECT® HIV Ag/Ab Combo | |
| 12007 | 9 | 6 | 6 | 117 | 117 | 0 |
| 6247 | 9 | 3 | 3 | 21 | 21 | 0 |
| 9016 | 10 | 3 | 2 | 27 | 30 | -3 |
| 9018 | 11 | 3 | 3 | 28 | 28 | 0 |
| 9020 | 22 | 4 | 3 | 87 | 90 | -3 |
| 9022* | 9 | 3 | 2 | 23 | 25 | -2 |
| 9024 | 12 | 2 | 1 | 49 | 53 | -4 |
| 9025 | 12 | 2 | 2 | 85 | 85 | 0 |
| 9076 | 9 | 3 | 3 | 66 | 66 | 0 |
| 9079 | 25 | 17 | 17 | 40 | 40 | 0 |
| Total | 128 | 46 | 42 | 543 | 555 | |

*Resultados del dispositivo Abbott ARCHITECT® HIV Ag/Ab Combo no fueron disponibles para las muestras 9022-01 y 9022-07, pero tanto Abbott PRISM HIV Ag/Ab Combo como Abbott Murex HIV-1 Ab/Ag Combo fueron no reactivos.

Especificidad diagnóstica en muestras congeladas de sangre completa y plasma

La especificidad diagnóstica de una prueba se define como la proporción de sujetos sin enfermedad que tienen un resultado de prueba negativo y se expresa como una proporción o un porcentaje. La especificidad diagnóstica se determinó usando un total de 600 muestras de sangre completa venosa y 603 muestras de plasma de la cohorte G. La especificidad diagnóstica observada [intervalos de confianza del 95 %] de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect para muestras de sangre completa venosa y plasma de donantes presumiblemente saludables fue del 100 % (600/600) [99,51 %, 100 %] y del 100 % (603/603) [99,50 %, 100 %], respectivamente.

Sensibilidad analítica / Límite de detección

m-PIMA™ HIV-1/2 Detect se ha diseñado para lograr sensibilidades analíticas para los tres analitos de 4000 cp/mL. En un estudio realizado en las instalaciones de Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH, la sensibilidad analítica de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect se determinó analizando el límite inferior de detección (LOD) para cada analito (VIH-1 grupo M/N, VIH-1 grupo O y VIH-2).

El límite de detección es la cantidad de copias/mL o unidades internacionales/mL, en la cual el coeficiente de detección verdadero es del 95 % y se calculó con una regresión Probit. Se utilizaron cartuchos de tres lotes diferentes. Se utilizaron VIH-1 grupo M y VIH-2 grupo A comercialmente disponibles. Para VIH-1 grupo O, el virus se purificó del sobrenadante del cultivo celular en Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH. Estos analitos se enriquecieron a concentraciones definidas en muestras de sangre completa venosa VIH negativas de la cohorte H, en las concentraciones especificadas en las tablas 2, 3 y 4. Durante la evaluación de la OMS de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect para ser listado en la lista de la OMS de productos precalificados de diagnóstico in vitro, el límite de detección se determinó utilizando el 3° Estándar Internacional de VIH-1 de la OMS enriquecida en sangre completa.⁽³¹⁾

Los factores de conversión entre las copias de ARN del virus y las unidades internacionales (UI) son de 1:1,67 para VIH-1 grupo M/N, en función del 1.er Estándar Internacional de VIH-1 de la OMS, y de 1:0,55 para VIH-2 grupo A, en función del 1.er Estándar Internacional de VIH-2 de la OMS.

Nota: Debido a la falta de material de referencia para VIH-1 grupo O, no se pudo realizar la conversión a IU.

Las concentraciones en cp/mL y IU/mL [intervalos de confianza del 95 %] del ARN del virus que pueden detectarse con un coeficiente de positividad superior al 95 % determinado por el análisis de Probit son las siguientes:*

| | |
|---|--|
| VIH-1 grupo M (cepa IIB): | 2491 cp/mL [2046 cp/mL, 3319 cp/mL] y 4160 IU/mL [3417 IU/mL, 5543 IU/mL] |
| VIH-1 grupo M (3° Estándar Int. de la OMS): | 1759 cp/mL [1286 cp/mL, 3640 cp/mL] y 2937 IU/mL [2147 IU/mL, 6079 IU/mL] |
| VIH-1 grupo O (cepa MVP5180): | 943 cp/mL [790 cp/mL, 1262 cp/mL] |
| VIH-2 grupo A (cepa NIHZ): | 952 cp/mL [794 cp/mL, 1239 cp/mL] y 524 IU/mL [437 IU/mL, 681 IU/mL] |

**Datos representativos: los resultados de cada laboratorio pueden diferir de estos datos.*

Tabla 2: VIH-1 grupo M (cepa IIIB)

| Concentración (cp/mL) | N _{válido} | N _{detectado} | Porcentaje detectado |
|-----------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| 640 | 83 | 44 | 53 % |
| 1080 | 79 | 52 | 66 % |
| 1920 | 82 | 74 | 90 % |
| 3320 | 80 | 79 | 99 % |
| 5760 | 82 | 82 | 100 % |
| 10000 | 85 | 85 | 100 % |

Tabla 3: VIH-1 grupo O (cepa MVP5180)

| Concentración (cp/mL) | N _{válido} | N _{detectado} | Porcentaje detectado |
|-----------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| 400 | 74 | 48 | 65 % |
| 720 | 80 | 67 | 84 % |
| 1240 | 72 | 72 | 100 % |
| 2120 | 81 | 81 | 100 % |
| 3720 | 85 | 85 | 100 % |
| 6440 | 80 | 80 | 100 % |

Tabla 4: VIH-2 grupo A (cepa NIHZ)

| Concentración (cp/mL) | N _{válido} | N _{detectado} | Porcentaje detectado |
|-----------------------|---------------------|------------------------|----------------------|
| 240 | 78 | 30 | 38 % |
| 400 | 83 | 56 | 67 % |
| 720 | 81 | 70 | 86 % |
| 1240 | 78 | 77 | 99 % |
| 2200 | 81 | 81 | 100 % |
| 3800 | 78 | 78 | 100 % |

Especificidad analítica

La especificidad analítica de una prueba se define como la capacidad de detectar solo el target previsto y en que la detección de ese target no se vea afectada por la reactividad cruzada o sustancias interferentes. La reactividad cruzada se refiere a organismos que podrían interferir potencialmente, como p. ej. otros patógenos. Las sustancias interferentes se refieren a sustancias endógenas que pueden ocurrir en condiciones relacionadas con la muestra como enfermedades no infecciosas, condiciones médicas o sustancias exógenas como los medicamentos. Estas sustancias o se enriquecieron en las muestras o ya fueron detectables en paneles de muestras disponibles comercialmente. Las muestras negativas de VIH de la cohorte H se enriquecieron con cantidades definidas de virus purificado de VIH-1 grupo M subtipo B (cepa IIIB), VIH-1 grupo O (cepa MVP5180) y VIH-2 grupo A (cepa NIHZ) (un analito por muestra) para alcanzar una concentración de 12000 cp/mL. La interferencia de medicamentos se analizó añadiendo tres veces la concentración plasmática máxima a la sangre completa.

Reactividad cruzada

La susceptibilidad de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect a la reactividad cruzada con organismos patógenos relevantes se evaluó para muestras de sangre completa, plasma y suero. Los reactivos cruzados incluían patógenos que suelen ocurrir en coinfecciones con VIH, así como también en flora humana normal, e incluye virus, hongos, protozoos y bacterias (consulte las tablas 5 y 6).

Tabla 5: Lista de patógenos: muestras no clínicas

| Virus | Bacterias |
|-------------------------|----------------------------|
| HTLV-1 | Salmonella Enteritidis |
| HTLV-2 | Salmonella Typhimurium |
| HBV | Salmonella Paratyphi |
| HCV | Staphylococcus epidermidis |
| HAdV | Streptococcus pneumoniae |
| HSV-1 (HHV-1) | Streptococcus mutans |
| HSV-2 (HHV-2) | MSSA |
| VZV (HHV-3) | MRSA |
| EBV (HHV-4) | Chlamydia pneumoniae |
| HCMV (HHV-5) | Escherichia coli |
| HHV-6 | Propionibacterium acnes |
| Hongos | Protozoos |
| Candida albicans | Toxoplasma gondii |
| Cryptococcus neoformans | |
| Pneumocystis jirovecii | |

Tabla 6: Lista de patógenos: muestras clínicas

| Organismo / agente | Número de muestras de pacientes |
|---|---------------------------------|
| Treponema pallidum (Paneles de titer mixto)* | 10 |
| HCV (Serológicamente y NAT positivo)** | 10 |
| HBV (Serológicamente y NAT positivo)** | 10 |
| HCMV EBV HSV-1 HSV-2 Rubella Virus Toxoplasma gondii (IgG pos)* | 12 |

* muestras confirmadas positivas para anticuerpo

** muestras confirmadas positivas para ácido nucléico y anticuerpo

Se analizaron un total de 26 patógenos proporcionados como muestras no clínicas (patógeno purificado o ADN genómico purificado) con al menos 10 réplicas con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. En un total de 304 pruebas con VIH-negativo y 306 pruebas con muestras enriquecidas de VIH positivo, no se observó reactividad cruzada con los organismos probados. No se obtuvieron resultados de VIH falsos positivos para las muestras negativas de VIH, ni falsos negativos para muestras positivas de VIH (para los tres analitos). Además, se analizaron 42 muestras clínicas (9 patógenos distintos) por reactividad cruzada con la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. No se obtuvieron resultados de VIH falsos positivos para las muestras negativas de VIH, ni falsos negativos para muestras positivas de VIH (para los tres analitos). Ninguno de los patógenos mostró una reacción cruzada con la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect.

Sustancias endógenas interferentes y condiciones médicas

La susceptibilidad de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect a interferencia causada por niveles elevados de sustancias endógenas y diversas condiciones médicas se evaluó para muestras de plasma y suero (consulte la tabla 7).

Tabla 7: Lista de sustancias endógenas o muestras de donantes con condiciones médicas

| Muestra clínica | Número de pacientes |
|---|----------------------------|
| ADN de doble hebra | 10 |
| Anticuerpos anti-nucleares (título 1:320-1:10000) | 10 |
| Bilirrubina (5,1-13,4 mg/dL) | 10 |
| Colesterol (99-220 mg/dL) | 10 |
| Píldora anticonceptiva | 10 |
| Cáncer ovarial | 10 |
| Falla renal | 10 |
| Factor reumatoide (295-7900 IU/mL) | 10 |
| Embarazo de tercer trimestre | 10 |
| Total T3 | 10 |
| Diabetes tipo II | 10 |
| Abusador de drogas IV | 10 |
| Enfermedad no viral de hígado | 10 |

Un total de 130 muestras clínicas diferentes (lo que representa 13 condiciones clínicas diferentes) se sometieron a pruebas de interferencia con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. De las 130 pruebas con muestras negativas para VIH, no se obtuvieron resultados falsos positivos para los tres analitos. De 130 pruebas con muestras enriquecidas de VIH positivo, no se obtuvieron resultados falsos negativos para los tres analitos. No se observaron interferencias de sustancias endógenas o condiciones médicas.

Interferencia de medicamentos

La susceptibilidad de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect a interferencia causada por medicamentos prescritos comúnmente a personas infectadas por VIH se evaluó para muestras de plasma (consulte la tabla 8).

Tabla 8: Lista de medicamentos

| | |
|---|--|
| Medicamentos para VIH | |
| Inhibidores de proteasas Lopinavir, LPV Ritonavir | Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos a nucleósidos / nucleótidos Abacavir sulfate, ABC Emtricitabine, FTC Stavudine, d4T Tenofovir disoproxil fumarate, TDF Lamivudine, 3TC Zidovudine, AZT |
| Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos a nucleósidos / nucleótidos Efavirenz, EFV Nevirapine, NVP | Inhibidores de la integrasa Raltegravir, RAL |
| Medicamentos para VHC / VHB | Compuestos para el tratamiento de virus del herpes |
| Modulador inmune Ribavirin Peginterferon alfa-2a Peginterferon alfa-2b | Análogos a nucleósidos Acyclovir Ganciclovir |
| Compuestos para tratamiento / prevención de infecciones oportunistas en la enfermedad de VIH | |
| Antimicótico Fluconazole | Antimicótico / bacteriano Co-trimoxazole |
| Antimicobacteriales Isoniazid Rifampicin Pyrazinamide Ethambutol Streptomycin | |

De 284 prueba con muestras negativas para VIH, no se obtuvieron resultados falsos positivos para los tres analitos. De 280 pruebas con muestras enriquecidas de VIH positivo, no se obtuvieron resultados falsos negativos para los tres analitos. No se observó ninguna interferencia por medicamentos.

Prueba de genotipos / subtipos

El rendimiento analítico de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect con los subtipos VIH-1 y VIH-2 se evaluó realizando pruebas de 20 aislados de VIH-1 (grupo M subtipo A a H, grupo N, grupo O y formas recombinantes circulantes) y 5 aislados de VIH-2 (VIH 2 grupo A, B, A/B). Todos los aislados usados en este estudio eran miembros de paneles de subtipos proporcionados por el Centro de Referencia Nacional Alemán para Retrovirus (GNRCR), Munich, Alemania, por el antiguo Centro de Referencia Nacional Alemán para Retrovirus, Erlangen, Alemania, y por el Instituto Nacional de Estándares Biológicos y Control (NIBSC), Reino Unido. Los virus se cultivaron en células y los sobrenadantes se diluyeron en plasma negativo de VIH y se cuantificaron usando ensayos distintos de PCR en tiempo real en GNRCR, Munich y Erlangen. Los virus proporcionados por el NIBSC se cultivaron en células; los sobrenadantes se diluyeron en plasma VIH negativo y se liofilizaron. Las muestras se utilizaron en Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH para generar diferentes niveles de dilución. Los subtipos se probaron en el límite de detección de 0,5 veces, 1 vez y 3 veces. Todos los subtipos se detectaron adecuadamente con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. En las concentraciones no se observaron resultados falsos positivos ni falsos negativos en 3 veces LOD para VIH-1 grupo M/N, VIH-1 grupo O o VIH-2. Para obtener más información sobre los aislados probados, consulte las tablas 9 y 10:

Tabla 9: Detección del grupo VIH-2 con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect

| | | m-PIMA™ HIV-1/2 Detect ($N_{\text{detectado}} / N_{\text{válido}}$) | | |
|-----------|-----------|---|--------|--------|
| Grupos | Aislado | 0.5x LOD | 1x LOD | 3x LOD |
| Grupo A | CDC77618 | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo A | 7924A | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo A | 60415K | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo A/B | 7312A | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo B | CDC310319 | 10/10 | 10/10 | 10/10 |

Tabla 10: Detección del grupo VIH 1 y subtipos con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect

| Grupos/subtipos | Aislado | m-PIMA™ HIV-1/2 Detect ($N_{\text{detectado}}/N_{\text{válido}}$) | | |
|--------------------------------------|--------------|---|--------|--------|
| | | 0.5x LOD | 1x LOD | 3x LOD |
| Grupo M/Subtipo A | 92UG029 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo B | 92TH026 | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo C | 92BR025 | 10/10 | 9/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo D | 92UG021 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo F | 93BR029 | 7/10 | 8/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo F | 93BR020 | 9/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo G | RU570 | 6/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo G | P962 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo H | VI557 | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo J | SE9173 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo CRF01 (AE) | 92TH022 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo CRF02 (AG) | 01CM.0005BBY | 6/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/Subtipo CRF02 (AG) | 01CM.0008BBY | 9/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/ Subtipo AG-GH | VI525 | 9/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo M/ Subtipo CRF01 A, G, J, U | 96CM1849 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo N | YBF30 | 10/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo O | MVP5180 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo O | CA-9 | 4/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo O | 13740 | 8/10 | 10/10 | 10/10 |
| Grupo O | 2549-95 | 5/10 | 10/10 | 10/10 |

Efectos de la matriz

Para evaluar los efectos potenciales de la matriz de muestra en el rendimiento de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect, se analizaron muestras negativas de VIH enriquecidas y muestras de cohortes positivos de VIH.

Efecto de la matriz en muestras enriquecidas

Muestras frescas de sangre completa venosa y de plasma correspondiente de la cohorte H se enriquecieron con preparaciones de virus de VIH-1 grupo M subtipo B (cepa IIIB) a una concentración de 12000 cp/mL. Las muestras se analizaron con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect en 3 días con dos tandas al día en 20 analizadores. Se utilizaron pruebas válidas (sangre completa venosa: n = 56; plasma: n = 59) para analizar el efecto de la matriz. Para todas las pruebas en sangre completa venosa y plasma correspondiente enriquecidos con 12000 cp/mL de VIH-1 M subtipo B (cepa IIIB), se detectó VIH-1 M/N adecuadamente al 100 % con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. No se observó ninguna influencia de células sanguíneas ni de componentes de células sanguíneas en el coeficiente de detección. No se registraron resultados falsos positivos para VIH-1 O y VIH-2. Los resultados se consideran representativos para todos los analitos de la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect (VIH-1 grupo M/N, VIH-1 grupo O y VIH-2).

El efecto de la matriz en muestras de pacientes con cargas virales ≥ 2491 cp/mL

El efecto de la matriz se determinó usando un total de 235 pares de muestras de sangre completa venosa y plasma correspondiente, y 74 pares de muestras de sangre completa venosa y sangre capilar correspondiente de los cohortes A, B y C con cargas virales en el plasma correspondiente sobre el límite de detección de m-PIMA™ HIV-1/2 Detect (≥ 2491 cp/mL determinado con Roche Cobas®).

Para los pares de muestras de sangre completa venosa y plasma correspondientes, hubo una coincidencia al 100 % (IC de la diferencia de sensibilidad -1,8 %; +1,8 %) entre los resultados de la prueba con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Para los pares de muestras de sangre completa venosa y sangre capilar correspondientes, hubo una coincidencia al 98,65 % (IC de la diferencia de sensibilidad -7,7 %; +4,2 %) entre los resultados de la prueba con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect (consulte también a la sección sobre limitaciones en la página 23). Aunque solo se detectó VIH-1 M/N en las muestras de estas cohortes, los resultados se consideran representativos para todos los analitos de la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect (VIH-1 grupo M/N, VIH-1 grupo O y VIH-2).

Ensayo múltiplex

Para evaluar la sensibilidad dentro de las infecciones duales VIH-1/VIH-2, se probaron los dos tipos de virus en distintas concentraciones (alto/bajo) en la misma muestra sobre el rendimiento de la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Las concentraciones definidas de preparaciones del virus se enriquecieron en muestras de sangre completa negativa en VIH de donantes europeos presumiblemente saludables de la cohorte H según la tabla siguiente.

Tabla 11: Resultados de la prueba para muestras dúplex de VIH-1/VIH-2 enriquecidas

| Muestra | Concentración analizada ($N_{\text{detectado}}/N_{\text{válido}}$) | | |
|---------|--|--------------------------|-------------------------|
| | VIH-1 grupo M/N | VIH-1 grupo O | VIH-2 grupo A |
| 1 | 3x LOD (58/59) | —* (0/59) | 100000 IU/mL (59/59) |
| 2 | —* (0/58) | 3x LOD (53/58) | 100000 IU/mL (58/58) |
| 3 | 1000000 IU/mL (59/59) | —* (0/59) | 3x LOD (59/59) |
| 4 | —* (1/57) | 1000000 IU/mL (57/57) | 3x LOD (57/57) |

* Negativo para el analito

Para todas las muestras, los analitos de mayor concentración siempre se detectaron con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect. Como se describe en „Limitaciones“, sección „Variantes genéticas/mutaciones“ en la página 23, las altas concentraciones del grupo O del VIH-1 pueden dar lugar a resultados falsos positivos para el grupo M/N del VIH-1. En este estudio se observó un resultado falso positivo para el grupo M/N del VIH-1 en presencia de concentraciones altas del grupo O del VIH-1. No se detectaron analitos de baja concentración para el grupo M de VIH-1 y el grupo O de VIH-1 en un caso y cinco casos, respectivamente. Sin embargo, se demostró que el límite de detección (incluido el intervalo de confianza del 95 %) en muestras múltiplex con altas concentraciones de VIH-2 es inferior a 4000 cp/mL tanto para el grupo M de VIH-1 como para el grupo O de VIH-1.

Transferencia de remanente

La potencial transferencia de remanente de muestra en el dispositivo automático m-PIMA™ Analyser usado con la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect se evaluó probando muestras de alto título de VIH-1 (cepa IIB) (a una concentración esperada de 3×10^7 cp/mL) intercaladas con muestras negativas (n = 144). La prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect no demostró una transferencia de remanente detectable de las muestras altas positivas a las muestras negativas.

Precisión

Para evaluar la precisión de la prueba m-PIMA™ HIV-1/2 Detect, tres operadores realizaron pruebas duplicadas usando tres lotes de producción de cartuchos en tres m-PIMA™ Analyser en seis días. Todos los experimentos se realizaron con muestras de sangre completa venosa con EDTA enriquecidas con preparaciones de virus del grupo M de VIH-1 (cepa IIIB), grupo O de VIH-1 (cepa MVP5180) y grupo A de VIH-2 (cepa NIHZ) en dos concentraciones diferentes, lo que representa el límite de detección de 3 y 7 veces.

Para el total de pruebas, cada analito se detectó al 100 % con m-PIMA™ HIV-1/2 Detect.

ASISTENCIA TÉCNICA

Para obtener asistencia técnica, contacte a su distribuidor local o llame al número de teléfono correspondiente a su región:

| | | |
|------------------------|------------------|------------------------------|
| Europa & Medio Oriente | +44 161 483 9032 | EME.techsupport@abbott.com |
| África | +27 10 500 9700 | ARCIS.techsupport@abbott.com |
| Asia Pacífico | +61 7 3363 7100 | AP.techsupport@abbott.com |
| América Latina | +57 1 482 4033 | LA.techsupport@abbott.com |
| Rusia & CEI | +44 161 483 9032 | ARCIS.techsupport@abbott.com |

REFERENCIAS

- (1) WHO. Antiretroviral therapy of HIV infection in infants and children: towards universal access: recommendations for a public health approach - 2010 revision. Geneva: WHO; 2010. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/164255>
- (2) Jani I.V., Meggi B., Mabunda N., et al. 2014. Accurate early infant HIV diagnosis in primary health clinics using a point-of-care nucleic acid test. *J Acquir Immune Defic Syndr* 67(1):e1-4
- (3) Bruisten S., van Gemen B., Koppelman M., et al. 1993. Detection of HIV-1 distribution in different blood fractions by two nucleic acid amplification assays. *AIDS Res Hum Retroviruses* 9:259-65.
- (4) Lee T.H., Stromberg R.R., Heitman J.W., et al. 1998. Distribution of HIV type 1 (HIV-1) in blood components: detection and significance of high levels of HIV-1 associated with platelets. *Transfusion* 38:580-8.
- (5) Torre D. and Pugliese A. 2008. Platelets and HIV-1 infection: old and new aspects. *Curr HIV Res* 6:411-8.

- (6) Beck Z., Jagodzinski L.L., Eller M.A., et al. 2013. Platelets and erythrocyte-bound platelets bind infectious HIV-1 in plasma of chronically infected patients. *PLoS One* 8:e81002.
- (7) Zhu T., Muthui D., Holte S., et al. 2002. Evidence for human immunodeficiency virus type 1 replication in vivo in CD14 (+) monocytes and its potential role as a source of virus in patients on highly active antiretroviral therapy. *J Virol* 76:707-16.
- (8) Kaiser P., Joos B., Niederost B., et al. 2007. Productive human immunodeficiency virus type 1 infection in peripheral blood predominantly takes place in CD4/CD8 double-negative T lymphocytes. *J Virol* 81:9693-706.
- (9) Cena M., Schwachsa N., Garcia M.N., et al. 2004. Determination of HIV-1 p24 antigen associated with erythrocytes: potential uses. *Int Conf AIDS*. 2004 Jul 11-16. 15:abstract no. B11460.
- (10) Garcia M.N., dos Ramos Fariás M.S., Schwachsa N., et al. 2006. Detection of HIV-1 antigen associated to erythrocytes in patients with undetectable viral load in plasma for more than one year. Poster presentation from 2006 International Meeting of The Institute of Human Virology Baltimore, USA. 17-21 November, 2006. *Retrovirology* 3(Suppl 1):P19.
- (11) Hess C., Klimkait T., Schlapbach L., et al. 2002. Association of a pool of HIV-1 with erythrocytes in vivo: a cohort study. *Lancet* 359:2230-4.
- (12) Arens M., Joseph T., Nag S. et al. 1993. Alterations in spliced and unspliced HIV-1-specific RNA detection in peripheral blood mononuclear cells of individuals with varying CD4-positive lymphocyte counts. *AIDS Res Hum Retroviruses* 9:1257-63.
- (13) Bagnarelli P., Menzo S., Valenza A., et al. 1992. Molecular profile of human immunodeficiency virus type 1 infection in symptomless patients and in patients with AIDS. *J Virol* 66:7328-35.
- (14) Furtado M.R., Murphy R. and Wolinsky S.M. 1993. Quantification of human immunodeficiency virus type 1 tat mRNA as a marker for assessing the efficacy of antiretroviral therapy. *Infect Dis* 167:213-6.
- (15) Graziosi C., Pantaleo G., Butini L., et al. 1993. Kinetics of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) DNA and RNA synthesis during primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:6405-9.
- (16) Gupta P., Kingsley L., Armstrong J., et al. 1993. Enhanced expression of human immunodeficiency virus type 1 correlates with development of AIDS. *Virology* 196:586-95.
- (17) Michael N.L., Vahey M., Burke D.S., et al. 1992. Viral DNA and mRNA expression correlate with the stage of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 infection in humans: evidence for viral replication in all stages of HIV disease. *J Virol* 66:310-6.
- (18) Patterson B.K., Till M., Otto P., et al. 1993. Detection of HIV-1 DNA and messenger RNA in individual cells by PCR-driven in situ hybridization and flow cytometry. *Science* 260:976-9.
- (19) Schnittman S.M., Greenhouse J.J., Lane H.C., et al. 1991. Frequent detection of HIV-1-specific mRNAs in infected individuals suggests ongoing active viral expression in all stages of disease. *AIDS Res Hum Retroviruses* 7:361-7.
- (20) Seshamma T., Bagasra O., Trono D., et al. 1992. Blocked early-stage latency in the peripheral blood cells of certain individuals infected with human immunodeficiency virus type 1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:10663-7.

- (21) Steinmetzer K., Seidel T., Stallmach A., et al. 2010. HIV load testing with small samples of whole blood. *J Clin Microbiol* 48:2786-92.
- (22) Ullrich T., Ermantraut E., Schulz T., et al. 2012. Competitive Reporter Monitored Amplification (CMA) - Quantification of Molecular Targets by Real Time Monitoring of Competitive Reporter Hybridization. *PLoS ONE* 7(4): e35438. doi:10.1371/journal.pone.0035438
- (23) Soderlund, H. 1990. DNA hybridization: comparison of liquid and solid phase formats. *Ann Biol Clin (Paris)* 48:489-91.
- (24) UK NHS. Guidelines for Newborn Blood Spot Sampling. February 2012. Available at: <http://newbornbloodspot.screening.nhs.uk/bloodspotsampling#fileid11952>
- (25) WHO. WHO guidelines on drawing blood: best practices in phlebotomy. Geneva: WHO; 2010. Available at: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241599221_eng.pdf
- (26) CLSI GP42-A6 Procedures and Devices for the Collection of Diagnostic Capillary Blood Specimens; Approved Standard-Sixth Edition. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- (27) CLSI GP41. Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens; Approved Standard-7th Edition, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017.
- (28) Chudy M, Kress J, Halbauer J, et al. 2014. Risk Minimization Measures for Blood Screening HIV-1 Nucleic Acid Amplification Technique Assays in Germany. *Transfus Med Hemother* 41:45-51.
- (29) Korn K, Weissbrich B, Henke-Gendo C, et al. 2009. Single-point mutations causing more than 100-fold underestimation of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) load with the Cobas TaqMan HIV-1 real-time PCR assay. *J Clin Microbiol* 47:1238-40.
- (30) Chang M., Gottlieb G.S., Dragavon J.A., et al. 2012. Validation for clinical use of a novel HIV-2 plasma RNA viral load assay using the Abbott m2000 platform. *J Clin Virol* 55:128-133.
- (31) WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report for m-PIMA HIV-1/2 Detect, PQDx 0226-032-00, version 5.0. Geneva: WHO; March 2020. Available at: https://extranet.who.int/pqweb/sites/default/files/200312_amended_final_ppqr_0226_032_00_m_pima_hiv_detect.pdf

SIGNIFICADO DE LOS SÍMBOLOS



Marcado CE



Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*



Número de catálogo



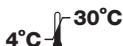
Código de lote



Utilizar antes de AAAA-MM-DD



Contenido suficiente para <n> pruebas



Limitación de temperatura



Consultar las instrucciones de uso



No reutilizar



Fabricante



Mantener seco



Símbolo de atención. Indica problemas especiales o información importante. Lea el texto adjunto detenidamente.



Abbott Rapid Diagnostics Jena GmbH
Orlaweg 1
D-07743 Jena, Alemania
www.globalpointofcare.abbott

© 2022 Abbott. All rights reserved.

All trademarks referenced are trademarks of either the Abbott group of companies or their respective owners.

Versión 06
PI-m-PIMA-01-06-ES
Fecha de revisión: 04-Jul-2022