

REF 300500 NeuMoDx™ HIV-1 Quant Test Strip**R only**

PRECAUCIÓN: Para exportaciones de EE. UU. exclusivamente

IVD Para uso diagnóstico *in vitro* con el NeuMoDx 288 y el NeuMoDx 96 Molecular System*Para ver actualizaciones en los folletos adjuntos, vaya a: www.qiagen.com/neumodx-ifu**Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 288 Molecular System; ref. 40600108**Para obtener instrucciones detalladas, consulte el Manual del operador del NeuMoDx 96 Molecular System; ref. 40600317***USO PREVISTO**

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, realizado en el NeuMoDx 96 Molecular System y el NeuMoDx 288 Molecular System (NeuMoDx Systems), es una prueba automatizada, cuantitativa y cualitativa de amplificación de ácidos nucleicos de diagnóstico *in vitro* diseñada para la cuantificación y la detección del ARN del virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 1 (VIH-1) en plasma humano.

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay está diseñado para utilizarse junto con el cuadro clínico inicial y otros marcadores de laboratorio de pronóstico de la enfermedad como ayuda en el tratamiento clínico de los pacientes infectados por VIH-1 y la supervisión de los efectos del tratamiento antirretrovírico, según lo determinado por los cambios en los niveles del ARN del VIH-1 en el plasma. El ensayo puede cuantificar el ARN del VIH-1 por encima del intervalo de 34,2 a $5,0 \times 10^7$ UI/ml (1,5-7,7 \log_{10} UI/ml). El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay está validado para la cuantificación del ARN del grupo M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG) N, O y P del VIH-1.

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay está diseñado para utilizarse como ayuda en el diagnóstico de la infección por VIH-1, incluida la infección aguda o primoinfección. La presencia de ARN de VIH-1 en el plasma de los pacientes sin anticuerpos frente al VIH-1 indica la presencia de una infección aguda o primoinfección por VIH-1. El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se puede utilizar como prueba complementaria para las muestras que tienen resultados reactivos repetidos con inmunoanálisis de VIH aprobados, y como confirmación de la infección por VIH-1.

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay no está diseñado para utilizarse como prueba de cribado de VIH-1 en donantes para determinar la presencia de VIH-1 en sangre o en hemoderivados.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La sangre humana completa recogida en tubos estériles de recogida de sangre que contienen ácido etilendiaminetetracético (Ethylenediaminetetraacetic Acid, EDTA) o solución con ácido cítrico, citrato sódico y glucosa (Acid Citrate-Dextrose, ACD) como anticoagulantes, o en tubos de preparación de plasma (Plasma Preparation Tubes, PPT), se puede utilizar para la preparación del plasma. Para preparar el análisis, el plasma recogido en un tubo de muestras secundario o la sangre fraccionada recogida en un tubo de muestras principales compatible con el NeuMoDx System se carga en el NeuMoDx System mediante un soporte de tubos de muestras designado para iniciar el procesamiento. Para cada muestra, se mezcla una alícuota de 600 μ l de muestra de plasma con el NeuMoDx Lysis Buffer 3 y el NeuMoDx System realiza automáticamente todos los pasos necesarios para extraer el ácido nucleico diana, preparar el ARN aislado para la reacción en cadena de la polimerasa inmediata con transcripción inversa (RT-RPC) y, si corresponde, amplificar y detectar los productos de la amplificación (secciones del genoma del VIH-1 en las regiones conservadas). El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) de ARN para ayudar a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitorias y de fallos de los reactivos o del NeuMoDx System que pueden encontrarse durante el proceso de extracción y amplificación.

El virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y se divide en dos tipos principales, siendo el más común y patógeno de ellos el VIH de tipo 1 (VIH-1). El VIH-1 se puede transmitir a través del contacto sexual, la exposición a sangre o a hemoderivados infectados, o desde una madre infectada al feto¹⁻⁴. La infección aguda por VIH-1, que se caracteriza por la presencia de síntomas parecidos a los de la gripe, se produce durante las 3-5 semanas posteriores a la infección inicial y está asociada a niveles elevados de viremia. La respuesta inmunitaria específica al VIH-1 se puede detectar en un plazo de 4 a 6 semanas desde la aparición de los síntomas⁵⁻⁹.

Tras la seroconversión, la mayoría de los pacientes entran en una fase asintomática que puede durar varios años. La medición cuantitativa de los niveles de ARN del VIH-1 en la sangre periférica ha contribuido en gran medida a la comprensión de la patogenia de la infección por VIH-1 y ha demostrado ser un parámetro fundamental para el pronóstico y el tratamiento de los individuos infectados por VIH-1¹⁰⁻¹¹. La supervisión de los niveles de ARN del VIH-1 en el plasma (concentración vírica), el recuento de linfocitos T CD4+ y el estado clínico del paciente orientan las decisiones sobre el inicio o los cambios en el tratamiento antirretrovírico¹²⁻¹⁷. El objetivo del tratamiento antirretrovírico es reducir la replicación del VIH-1 hasta que se encuentre por debajo de las concentraciones detectables de las pruebas de concentraciones víricas actualmente disponibles. Los niveles del virus en la sangre periférica se pueden cuantificar midiendo el antígeno p24 del VIH en suero, mediante el cultivo cuantitativo de VIH a partir del plasma, o midiendo directamente el ARN vírico en el plasma mediante el uso de tecnologías de amplificación de la señal o de amplificación de ácidos nucleicos.⁹⁻¹¹ Se han utilizado ampliamente algunas técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa, para amplificar los ácidos nucleicos.¹¹ El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay utiliza la tecnología de RT-RPC con detección de fluorescencia homogénea inmediata. El ensayo incluye la detección y la amplificación de doble analito, que actúan sobre dos regiones independientes del genoma del VIH-1. Además, el diseño redundante del ensayo permite la detección de cepas aisladas de varios subtipos del grupo M (A, B, C, D, F, G, H, K), incluidas las formas recombinadas circulantes, y de los grupos N, O y P. Los resultados del ensayo se notifican en unidades internacionales por mililitro (UI/ml).

PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay combina la extracción automatizada de ARN y la amplificación y detección mediante RT-RPC inmediata. Se recogen muestras de sangre completa en tubos con EDTA o con ACD, o en tubos PPT para la preparación del plasma. Se etiqueta la muestra de sangre primaria (fraccionada), o una alícuota de plasma recogida en un tubo de muestras secundario compatible, con un código de barras y se coloca en el NeuMoDx System. El NeuMoDx System aspira automáticamente una alícuota del plasma para mezclarla con el NeuMoDx Lysis Buffer 3 y los agentes que contiene la NeuMoDx Extraction Plate para iniciar el procesamiento. El NeuMoDx System automatiza e integra la extracción y la concentración de ARN, la preparación de los reactivos, y la amplificación y la detección del ácido nucleico de las secuencias del analito mediante RT-RPC inmediata. El control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) incluido ayuda a supervisar la presencia de posibles sustancias inhibitoras, así como los fallos de los reactivos, del proceso o del sistema. No es necesaria la intervención del operador una vez cargada la muestra en el NeuMoDx System.

El NeuMoDx System utiliza una combinación de calor, enzimas líticas y reactivos de extracción para realizar automáticamente la lisis, la extracción del ARN y la eliminación de inhibidores. Las partículas paramagnéticas capturan los ácidos nucleicos liberados. Las partículas, con ácido nucleico unido, se cargan en el NeuMoDx Cartridge donde los elementos no unidos se eliminan con el NeuMoDx Wash Reagent. A continuación, el ARN unido se eluye utilizando el NeuMoDx Release Reagent. El NeuMoDx System utiliza el ARN eluido para rehidratar los reactivos de amplificación NeuDry™ patentados que contienen todos los elementos necesarios para la amplificación de los analitos de VIH-1 y SPC2. Esto permite la amplificación y la detección simultáneas tanto del analito como de las secuencias de ARN de control. Tras la reconstitución de los reactivos secos de la RPC con retrotranscriptasa, el NeuMoDx System dispensa la mezcla preparada para la RT-RPC en una cámara de RPC (por muestra) del NeuMoDx Cartridge. La transcripción inversa, la amplificación y la detección de las secuencias del analito y de control (si están presentes) tienen lugar en la cámara de RCP. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para contener el amplicón tras la RT-RPC, eliminando prácticamente el riesgo de contaminación después de la amplificación.

Los analitos amplificados se detectan en tiempo real utilizando productos químicos de sonda de hidrólisis (frecuentemente denominados productos químicos TaqMan®) mediante moléculas de sonda de oligonucleótidos fluorógenos específicas de los amplicones para sus respectivos analitos. Las sondas TaqMan constan de un fluorocromo unido covalentemente al extremo 5' de la sonda de oligonucleótidos y un supresor de la señal en el extremo 3'. Mientras la sonda está intacta, el fluorocromo y el supresor de la señal están cerca, permitiendo que la molécula supresora de la señal extinga la fluorescencia que emite el fluorocromo mediante la transferencia de energía de resonancia de Förster (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Las sondas TaqMan están diseñadas para hibridarse en una región de ADN amplificada por un conjunto específico de cebadores. A medida que la polimerasa de ADN Taq extiende el cebador y sintetiza la nueva hebra, la actividad de la exonucleasa 5' a 3' de la polimerasa de ADN Taq degrada la sonda que se ha hibridado con la plantilla. La degradación de la sonda libera el fluorocromo y rompe su proximidad con el supresor de la señal, por lo que se vence el efecto supresor debido a la FRET y se permite la detección del fluorocromo. La señal fluorescente resultante detectada en el termociclador de RT-RPC cuantitativa del NeuMoDx System es directamente proporcional al fluorocromo liberado y se puede correlacionar con la cantidad de analito presente.

Se utiliza una sonda TaqMan marcada con un fluorocromo (excitación: 490 nm y emisión: 521 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3' para detectar el ARN del VIH-1. Para detectar el SPC2, la sonda TaqMan está marcada con un colorante fluorescente alternativo (excitación: 535 nm y emisión: 556 nm) en el extremo 5' y un supresor de la señal oscuro en el extremo 3'. El software del NeuMoDx System supervisa la señal fluorescente que emiten las sondas TaqMan al final de cada ciclo de amplificación. Una vez finalizada la amplificación, el software del NeuMoDx System analiza los datos y genera un informe del resultado (POSITIVE [Positivo], NEGATIVE [Negativo], INDETERMINATE [Indeterminado], UNRESOLVED [No resuelto]). Si un resultado es positivo y la concentración calculada está dentro de los límites de la cuantificación, el software del NeuMoDx System también proporciona un valor cuantitativo asociado a la muestra.

REACTIVOS/CONSUMIBLES

Materiales suministrados

REF	Contenido	Pruebas por unidad	Pruebas por paquete
300500	NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip <i>Reactivos secos de la RCP con retrotranscriptasa que contienen cebadores y sondas TaqMan específicos de VIH-1 y SPC2</i>	16	96

Materiales adicionales necesarios (disponibles por separado)

REF	Contenido
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Partículas paramagnéticas, enzima lítica y controles de proceso de muestras secos</i>
800304	NeuMoDx HIV-1 Calibrators <i>Conjuntos de calibradores altos y bajos de VIH-1 de un solo uso para establecer la validez de la curva estándar</i>
900301	NeuMoDx HIV-1 External Controls <i>Conjuntos de controles positivos y negativos de VIH-1 de un solo uso</i>
400600	NeuMoDx Lysis Buffer 3
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (300 µl) con filtros
235905	Puntas Hamilton CO-RE/CO-RE II (1000 µl) con filtros

Instrumentos necesarios

NeuMoDx 288 Molecular System [REF 500100] o NeuMoDx 96 Molecular System [REF 500200]



PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- La NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip es para uso diagnóstico *in vitro* con los NeuMoDx Molecular Systems exclusivamente.
- No utilice los reactivos o consumibles después de la fecha de caducidad indicada.
- No utilice los reactivos si el sello de seguridad está roto o si el embalaje está dañado en el momento de su recepción.
- No utilice consumibles o reactivos si la bolsa protectora está abierta o rota en el momento de su recepción.
- Debe haber una calibración de prueba válida (generada mediante el procesamiento de calibradores altos y bajos de los NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304]) para que puedan generarse resultados de la prueba para muestras clínicas.
- Los controles externos (de los NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]) se deben procesar cada 24 horas a lo largo del análisis con el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
- El volumen mínimo de la muestra de las alícuotas secundarias depende del tamaño del tubo o del soporte del tubo de muestras, tal y como se define a continuación. Un volumen por debajo del valor mínimo especificado podría dar lugar al error "Quantity Not Sufficient" (Cantidad insuficiente).
- El uso de muestras almacenadas a temperaturas inadecuadas o más allá de los tiempos de almacenamiento especificados puede producir resultados erróneos o no válidos.
- Evite la contaminación microbiana y por ribonucleasa de todos los reactivos y consumibles. Se recomienda el uso de pipetas de transferencia estériles sin ribonucleasa y desechables cuando se utilizan tubos secundarios. Utilice una pipeta nueva para cada muestra.
- Para evitar la contaminación, no manipule ni separe los NeuMoDx Cartridge después de la amplificación. No recupere los NeuMoDx Cartridges del contenedor para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 288 Molecular System) ni del recipiente para desechos con riesgo biológico (NeuMoDx 96 Molecular System) bajo ninguna circunstancia. El NeuMoDx Cartridge está diseñado para evitar la contaminación.
- En caso de que el laboratorio también realice pruebas de la RCP con el tubo abierto, debe prestarse atención para garantizar que la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, los consumibles y reactivos adicionales necesarios para las pruebas, el equipo de protección individual como los guantes y las batas de laboratorio, y el NeuMoDx System no estén contaminados.
- Se deben llevar guantes limpios de nitrilo sin talco al manipular los reactivos y consumibles NeuMoDx. Se debe tener cuidado de no tocar la superficie superior del NeuMoDx Cartridge, la superficie del sello metálico de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip o de la NeuMoDx Extraction Plate, o la superficie superior del NeuMoDx Lysis Buffer 3; para manipular los consumibles y los reactivos, solo se deben tocar superficies laterales.
- Se proporcionan las fichas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) de cada reactivo (según proceda) en www.qiagen.com/neumodx-ifu
- Lavarse bien las manos después de realizar la prueba.
- No pipetear con la boca. No fumar, beber ni comer en zonas en las que se estén manipulando las muestras o los reactivos.
- Manipule siempre las muestras como material infeccioso y de acuerdo con los procedimientos seguros de laboratorio como los descritos en *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹⁸ (Seguridad biológica en laboratorios microbiológicos y biomédicos) y en el documento M29-A4 del CLSI.¹⁹
- Eliminar los reactivos no utilizados y los desechos de conformidad con la normativa nacional, provincial, regional y local.



ALMACENAMIENTO, MANIPULACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS PRODUCTOS

- Las NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips permanecen estables en el embalaje primario hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta externa del producto cuando se almacenan a una temperatura de entre 15 y 23 °C.
- Las NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips se envían en un recipiente aislado que contiene paquetes de gel refrigerante.
- No utilice consumibles ni reactivos que estén caducados.
- No utilice productos para pruebas si el embalaje primario o secundario no está visualmente intacto.
- No vuelva a cargar ningún producto para pruebas que se haya cargado previamente en otro NeuMoDx System.
- Una vez cargada, la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip puede permanecer en el NeuMoDx System durante siete (7) días. La vida útil restante de las tiras reactivas cargadas la controla el software, que informa al usuario en tiempo real. La retirada de una tira reactiva que se ha utilizado más tiempo del permitido la solicitará el sistema.
- Aunque los calibradores y controles externos NeuMoDx no son infecciosos, deben desecharse después de su uso en los desechos con riesgo biológico del laboratorio para reducir el riesgo de contaminación por el ácido nucleico diana incluido.

RECOLECCIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS



1. Manipule todas las muestras, calibradores y controles como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.
2. No congele la sangre completa ni ninguna muestra almacenada en los tubos primarios.

3. Para preparar las muestras de plasma, la sangre completa se debe recoger en tubos estériles con EDTA o ACD como anticoagulantes. Siga las instrucciones del fabricante relativas a los tubos de recogida de muestras para su preparación y almacenamiento.
4. Las muestras se pueden analizar en tubos de recogida primarios o en tubos de muestras secundarios. Para el análisis de tubos principales, se recomienda lo siguiente: BD Vacutainer® Plus Plastic K₂EDTA Tube (BD n.º 368589) o BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube (BD n.º 362799).
5. Las muestras de plasma preparadas se pueden almacenar en el NeuMoDx System hasta 8 horas antes del procesamiento. Si es necesario prolongar el tiempo de almacenamiento, se recomienda refrigerar o congelar las muestras como alícuotas de plasma secundarias.
6. Las muestras de plasma preparadas deben almacenarse a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C durante un máximo de 7 días antes de realizar el análisis y durante un máximo de 8 horas a temperatura ambiente.
7. Las muestras preparadas se pueden almacenar a una temperatura de ≤ -20 °C durante un máximo de 8 semanas para el plasma antes del procesamiento.
 - a. Si las muestras están congeladas, deje que se descongelen por completo a temperatura ambiente (15-30 °C); agite en vórtex para generar una muestra distribuida de manera uniforme.
 - b. Una vez que las muestras congeladas se han descongelado, la prueba debe realizarse dentro de las 8 horas posteriores.
 - c. Las muestras de plasma no deben someterse a más de 4 ciclos de congelación/descongelación antes de su uso.
8. Si las muestras se van a transportar, deben empaquetarse y etiquetarse de conformidad con las normativas nacionales y/o internacionales que correspondan.
9. Etiquete claramente las muestras e indique que son para análisis del VIH-1.
10. Continúe con la sección *Preparación de las pruebas*.

El proceso general para la implementación del ensayo NeuMoDx HIV-1 se resume a continuación en la *figura 1*.

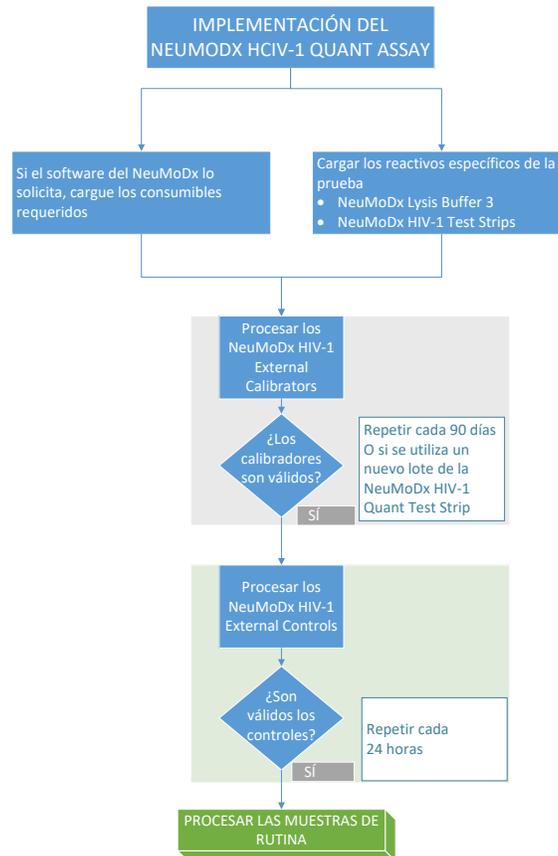


Figura 1: Flujo de trabajo de la implementación del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de las pruebas

1. Aplique la etiqueta de código de barras de muestra a un tubo de muestras compatible con el NeuMoDx System. El tubo de recogida de sangre primario puede etiquetarse y colocarse directamente en un soporte de tubos de muestras de 24 o 32 tubos tras la centrifugación según indique el fabricante. Como alternativa, una alícuota del plasma se puede transferir a un tubo secundario para su procesamiento en el NeuMoDx System.
2. Si realiza el análisis de la muestra en el tubo de recogida primario, coloque el tubo etiquetado con el código de barras en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se quite el tapón antes de cargarlo en el NeuMoDx System.
3. Si utiliza un tubo secundario, transfiera una alícuota del plasma al tubo de muestra con código de barras compatible con el NeuMoDx System, en función de los volúmenes que se definen a continuación:
 - Soporte de tubos de muestras (32 tubos): 11-14 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo ≥ 750 ml
 - Soporte de tubos de muestras (24 tubos): 14,5-18 mm de diámetro y 60-120 mm de altura; volumen de llenado mínimo ≥ 1200 ml
 - Soporte de tubos de muestras de volumen bajo (32 tubos): tubo de microcentrífuga de fondo cónico de 1,5 ml; volumen de llenado mínimo ≥ 700 ml

Funcionamiento del NeuMoDx System

Para obtener instrucciones detalladas, consulte los Manuales del operador del NeuMoDx 288 y del 96 Molecular Systems (ref. 40600108 y 40600317)

1. Rellene uno o más soportes de NeuMoDx System Test Strip con las NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes de tiras reactivas en el NeuMoDx System.
2. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, añada los consumibles necesarios a los soportes de consumibles del NeuMoDx System y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System.
3. Si se lo pide el software del NeuMoDx System, sustituya el NeuMoDx Wash Reagent y el NeuMoDx Release Reagent, y vacíe los residuos de cebado, el contenedor para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 288 Molecular System), el recipiente para puntas de desecho (solo el NeuMoDx 96 Molecular System) o el recipiente para desechos con riesgo biológico (solo el NeuMoDx 96 Molecular System), según resulte adecuado.
4. Si el software del NeuMoDx System lo solicita, procese los NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] y/o los NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301]. Puede encontrar más información sobre los calibradores y los controles en la sección *Procesamiento de los resultados*.
5. Cargue los tubos de muestras/calibrador/control en un soporte de tubos de muestras y asegúrese de que se hayan retirado los tapones de todos los tubos.
6. Coloque los soportes de tubos de muestras en el estante del cargador automático y utilice la pantalla táctil para cargar los soportes en el NeuMoDx System. De ese modo, se iniciará el procesamiento de las muestras cargadas para los análisis identificados, dado que hay un pedido de prueba válido en el sistema.

LIMITACIONES

1. La NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip solo puede utilizarse en los NeuMoDx Molecular Systems.
2. Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip para muestras de plasma preparadas a partir de sangre completa recogida con EDTA/ACD como anticoagulante. No se ha evaluado el uso de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip con otras fuentes y se desconocen las características del rendimiento para otros tipos de muestras.
3. Se ha establecido el rendimiento de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip para el análisis de tubos primarios mediante el uso de tubos de plástico con EDTA K₂ BD Vacutainer Plus Plastic Tubes y BD Vacutainer PPT™ Plasma Preparation Tube.
4. El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay no se debe utilizar con muestras heparinizadas de seres humanos.
5. Dado que la detección del VIH-1 depende del número de partículas víricas presentes en la muestra, los resultados fiables dependen de una recogida, una manipulación y un almacenamiento correctos de las muestras.
6. Los NeuMoDx HIV-1 Calibrators y los NeuMoDx HIV-1 External Controls deben procesarse según lo recomendado en los prospectos cuando lo solicite el software del NeuMoDx System antes del procesamiento de muestras clínicas de rutina.
7. Los resultados erróneos se podrían deber a una recogida, una manipulación o un almacenamiento incorrectos de la muestra, o bien a un error técnico o a una confusión de los tubos de muestras. Además, podrían producirse resultados negativos falsos debido a que el número de partículas víricas en la muestra es inferior al límite de detección del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.
8. El funcionamiento del NeuMoDx System solo puede estar a cargo de personal con formación en el uso del NeuMoDx System.
9. Si no se amplifican ni el analito del VIH-1 ni el analito del SPC2, se notificará un resultado no válido (Indeterminate [Indeterminado] o Unresolved [No resuelto]) y deberá repetirse la prueba.
10. Si el resultado del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay es Positive (Positivo), pero el valor de cuantificación supera los límites de la cuantificación, el NeuMoDx System informará si el VIH-1 detectado estaba por debajo del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) o por arriba del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ).

11. En caso de que el VIH-1 estuviera por debajo del límite inferior de cuantificación (Lower Limit of Quantitation, LLoQ), el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puede repetirse, si se desea, con otra alícuota de la muestra.
12. En caso de que el VIH-1 detectado estuviera por arriba del límite superior de cuantificación (Upper Limit of Quantitation, ULoQ), el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puede repetirse con una alícuota diluida de la muestra original. Se recomienda una dilución de 1:100 o de 1:1000 en plasma negativo para VIH-1 o diluyente Basematrix 53 (Basematrix, SeraCare, Milford, MA). La concentración de la muestra original se puede calcular de la siguiente forma:

$$\text{concentración de la muestra original} = \log_{10}(\text{factor de dilución}) + \text{concentración notificada de la muestra diluida}$$
13. La presencia ocasional de inhibidores de la RCP en plasma puede causar un error de cuantificación en el sistema. Si esto sucede, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra diluida en Basematrix en una proporción de 1:10 o de 1:100.
14. Un resultado positivo no indica necesariamente la presencia de VIH-1 viable. No obstante, un resultado positivo puede indicar la presencia de ARN del VIH-1.
15. Las eliminaciones o mutaciones en las regiones conservadas diana del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay pueden afectar a la detección y podrían dar lugar a un resultado erróneo.
16. Los resultados del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay deben utilizarse como complemento de las observaciones clínicas y otra información que el médico tenga a su disposición.
17. Para evitar la contaminación, se recomienda seguir las prácticas recomendadas de laboratorio, entre las que se incluye cambiar de guantes entre la manipulación de las muestras de pacientes.

PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Los resultados disponibles se pueden ver o imprimir desde la pestaña 'Results' (Resultados), en la ventana Results (Resultados) en la pantalla táctil del NeuMoDx System.

El software del NeuMoDx System genera automáticamente los resultados del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay utilizando el algoritmo de decisión y los parámetros de procesamiento especificados en el archivo de definición de ensayo del NeuMoDx HIV-1 (HIV-1 ADF). Un resultado del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puede notificarse como Negative (Negativo), Positive (Positivo) con una concentración de VIH-1 notificada, Positive (Positivo) por arriba del ULoQ, Positive (Positivo) por debajo del LLoQ, Indeterminate (Indeterminado) o Unresolved (No resuelto), en función del estado de amplificación del analito y el control de proceso de muestras. Los resultados se notifican en función del algoritmo de decisión del archivo de definición de ensayo (Assay Definition File, ADF), como se resume a continuación en la *tabla 1*.

Tabla 1: Resumen del algoritmo de decisión del HIV-1 Quant Assay

RESULTADO*	Analitos del VIH-1	Control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2)
Positive (Positivo) con concentración notificada	Amplified (Amplificado), 1,5 ≤ [VIH-1] ≤ 7,7 log ₁₀ UI/ml	Amplified (Amplificado) o Not Amplified (No amplificado)
Positive (Positivo), por encima del ULoQ	Amplified (Amplificado), [VIH-1] > 7,7 log ₁₀ UI/ml	Amplified (Amplificado) o Not Amplified (No amplificado)
Positive (Positivo), por debajo del LLoQ	Amplified (Amplificado), [VIH-1] < 1,5 log ₁₀ UI/ml	Amplified (Amplificado) o Not Amplified (No amplificado)
Negative (Negativo)	Not Amplified (No amplificado)	Amplified (Amplificado)
Indeterminate (Indeterminado)	Not Amplified, System Error Detected (No amplificado, se ha detectado un error del sistema)	
Unresolved (No resuelto)	Not Amplified, No System Error Detected (No amplificado, No se ha detectado ningún error del sistema)	

* El intervalo de cuantificación del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay es de 1,5 a 7,7 log₁₀ UI/ml. Un resultado POSITIVE (Positivo) indica que se detecta el ARN del VIH-1 y ayuda en el diagnóstico de la infección por VIH-1. Un resultado NEGATIVE (Negativo) indica la ausencia de ARN del VIH-1 o que la concentración vírica está por debajo del límite de detección. Los resultados falsos negativos o de concentraciones víricas erróneamente bajas pueden deberse a una recogida o un almacenamiento incorrectos de la muestra. Los resultados se deben interpretar en el contexto de hallazgos de laboratorio y clínicos relevantes.

Cálculo de la prueba

1. En el caso de las muestras comprendidas dentro del intervalo de cuantificación del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, la concentración de ARN del VIH-1 en las muestras se calcula usando la curva estándar guardada junto con el coeficiente de calibración.
 - a. Se calcula un coeficiente de calibración en función de los resultados de los NeuMoDx HIV-1 Calibrators procesados para establecer la validez de la curva estándar para un lote determinado de la NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip en un NeuMoDx System específico.
 - b. El coeficiente de calibración se incorpora en la determinación final de la concentración de ARN del VIH-1.
2. Los resultados del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se indican en log₁₀ UI/ml. El factor de conversión del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay es de 0,75 copias/UI.
3. La cuantificación resultante de las muestras desconocidas concuerda con un material de referencia calibrado obtenido a partir del National Institute for Biological Standards and Control.

Calibración de prueba

Se requiere una calibración válida basada en la curva estándar para cuantificar el ARN del VIH-1 en las muestras. Para generar resultados válidos, se debe llevar a cabo una calibración de prueba con los calibradores proporcionados por NeuMoDx Molecular, Inc.

Calibradores

1. Los NeuMoDx HIV-1 Calibrators [REF 800304] contienen analito de VIH-1 encapsulado no infeccioso preparado en Basematrix.
2. Se debe procesar un conjunto de calibradores del VIH-1 con cada lote nuevo de NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strips si se carga un nuevo archivo de definición de ensayo del VIH-1 en el NeuMoDx System, si el conjunto de calibradores actual ha pasado el periodo de validez (establecido actualmente en 90 días) o si se modifica el software del NeuMoDx System.
3. El software del NeuMoDx System notificará al usuario cuando los calibradores deban procesarse. No se puede utilizar un nuevo lote de tiras reactivas para realizar el análisis hasta que los calibradores se hayan procesado correctamente.
4. La validez de la calibración se establece de la siguiente manera:
 - a) Es necesario procesar un conjunto de dos calibradores, uno (1) alto y uno (1) bajo, para establecer la validez.
 - b) Al menos dos (2) de las tres (3) réplicas deben proporcionar resultados dentro de los parámetros predefinidos. El objetivo nominal del calibrador bajo es de $3 \log_{10}$ UI/ml y el del calibrador alto es de $5 \log_{10}$ UI/ml.
 - c) Se calcula un coeficiente de calibración para contemplar la variación esperada entre los lotes de tiras reactivas. Este coeficiente de calibración se utiliza para determinar la concentración final del VIH-1.
5. Si uno o ambos calibradores no superan la comprobación de validez, repita el procesamiento de los calibradores no aprobados con un nuevo vial. En caso de que un solo calibrador no supere la comprobación de validez, es posible repetir únicamente el calibrador no aprobado, ya que el sistema no requiere que el usuario procese ambos calibradores de nuevo.
6. Si los calibradores no superan la comprobación de validez de forma consecutiva, póngase en contacto con NeuMoDx Molecular, Inc.

Control de calidad

La normativa local especifica habitualmente que el laboratorio es responsable de los procedimientos de control que supervisan la exactitud y la precisión del proceso analítico completo, y debe establecer el número, el tipo y la frecuencia de los materiales de control de las pruebas mediante especificaciones de rendimiento verificadas para un sistema de pruebas no modificado y aprobado.

Controles externos

1. Los NeuMoDx HIV-1 External Controls [REF 900301] contienen controles positivos de analito de VIH-1 encapsulado no infeccioso preparado en Basematrix y controles negativos de Basematrix exclusivamente.
2. Los controles externos positivos y negativos se deben procesar cada 24 horas durante el análisis con el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Si no existe un conjunto de resultados de controles externos válidos, el software del NeuMoDx System indicará al usuario que se deben procesar los controles para que puedan notificarse los resultados de las muestras.
3. El NeuMoDx System evaluará la validez de los controles externos en función del resultado esperado. El control positivo debe proporcionar un resultado Positive (Positivo) para VIH-1 y el control negativo debe proporcionar un resultado Negative (Negativo) para VIH-1.
4. La gestión de resultados discrepantes para los controles externos debe realizarse de la siguiente manera:
 - a) El resultado positivo de una prueba notificado para una muestra de control negativo indica que existe un problema de contaminación de la muestra.
 - b) El resultado Negative (Negativo) de una prueba notificado para una muestra de control positivo puede indicar que existe un problema relacionado con un reactivo o con el instrumento.
 - c) En cualquiera de los casos anteriores, o en el caso de un resultado indeterminado (IND), repita los NeuMoDx HIV-1 External Controls con viales nuevos de los controles que no superaron la prueba de validez.
 - d) Si el NeuMoDx HIV-1 External Control positivo sigue notificando un resultado Negative (Negativo), póngase en contacto con el servicio técnico de NeuMoDx.
 - e) Si el NeuMoDx HIV-1 External Control negativo sigue notificando un resultado Positive (Positivo), intente eliminar todas las fuentes de posible contaminación, lo que incluye sustituir todos los reactivos antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de NeuMoDx.

Controles (internos) de proceso de muestras

Se incorpora un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) exógeno a la NeuMoDx Extraction Plate y se somete a todo el proceso de extracción del ácido nucleico y amplificación mediante RT-RPC en tiempo real con cada muestra. La sonda y los cebadores específicos para el SPC2 también se incluyen en cada NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip, lo que permite detectar el SPC2 con el ARN del VIH-1 diana (si está presente) mediante RT-RPC múltiple. La detección de la amplificación del SPC2 permite al software del NeuMoDx System supervisar la eficacia de los procesos de extracción de ARN y amplificación por RT-RPC.

Resultados no válidos

Si un NeuMoDx HIV-1 Quant Assay realizado en el NeuMoDx System no logra generar un resultado válido, se notificará como Indeterminate (Indeterminado, IND) o Unresolved (No resuelto, UNR) en función del tipo de error que se haya presentado.

Se notificará un resultado IND (Indeterminado) si se detecta un error del NeuMoDx System durante el procesamiento de la muestra. En el caso de que se notifique un resultado IND (Indeterminado), se recomienda repetir la prueba.

Se notificará un resultado UNR (No resuelto) si no se detecta ninguna amplificación válida del ARN del VIH-1 ni del SPC2, lo que indica un posible fallo de los reactivos o la presencia de inhibidores. Si se notifica un resultado UNR (No resuelto), se recomienda repetir la prueba como primer paso. Si una nueva prueba falla, puede utilizarse una dilución de la muestra para mitigar los efectos de cualquier inhibición de la muestra.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica: límite de detección

La sensibilidad analítica del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se caracterizó mediante el análisis de una serie de dilución que concuerda con el 3.^{er} estándar internacional de la OMS para el VIH-1 en plasma con EDTA cribado negativo para el ARN del VIH-1 para determinar el límite de detección (limit of detection, LoD) en los NeuMoDx Systems. El LoD se define como el nivel de diana más bajo que se detecta en una tasa $\geq 95\%$ según lo determinado mediante el análisis probit. El estudio se realizó durante tres (3) días utilizando varios sistemas, operadores, series y lotes de los reactivos del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay. Cada sistema procesó 12 réplicas en cada nivel de dilución por día. Las tasas de detección se muestran en la *tabla 2*.

Tabla 2: Tasas de detección positivas para la determinación del LoD del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Concentración de analitos (UI/ml)	Concentración de analitos (\log_{10} UI/ml)	Número de pruebas válidas	Número de pruebas positivas	Tasa de detección (%)
60	1,78	72	71	98,6 %
45	1,65	72	71	98,6 %
35	1,54	72	68	94,4 %
15	1,18	72	54	75,0 %
0	-	72	0	0 %

Mediante análisis probit, se determinó que el LoD del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en plasma en todos los genotipos era de **34,2 UI/ml** (**1,5 \log_{10} UI/ml**) con un intervalo de confianza (IC) del 95 % de 27,8 a 47,7 UI/ml (1,4-1,7 \log_{10} UI/ml) según se analizó en el NeuMoDx 288 Molecular System [Figura 2].

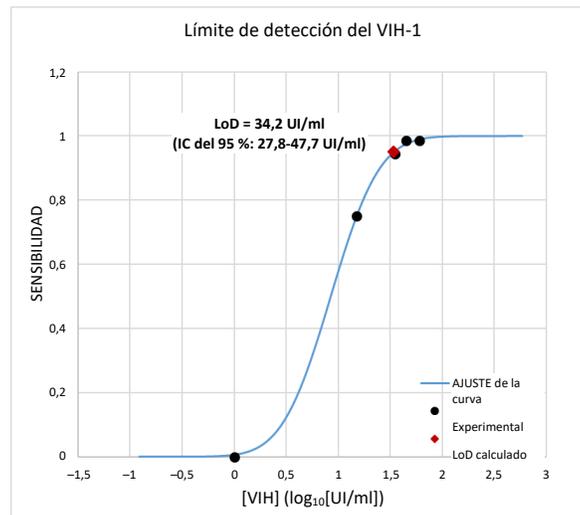


Figura 2: Análisis probit del límite de detección del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Sensibilidad analítica: límite inferior de cuantificación

El límite inferior de cuantificación (lower limit of quantitation, LLoQ) se define como el nivel de diana más bajo en el que se logra una detección $> 95\%$ y el error analítico total es ≤ 1 . Para determinar el LLoQ, se calculó el error analítico total (Total Analytical Error, TAE) para cada uno de los niveles del analito del VIH-1 como parte del cálculo del LoD. El TAE se define de la siguiente forma:

$$\text{TAE} = \text{sesgo} + 2 \cdot \text{SD} \quad (\text{Estadística Westgard})$$

donde

el **sesgo** es el valor absoluto de la diferencia entre el promedio de la concentración calculada y la concentración esperada
SD es la desviación estándar (standard deviation) del valor cuantificado de la muestra

En la *tabla 3*, se muestran los resultados recopilados de los cuatro (4) niveles de las muestras de plasma para VIH-1 utilizadas en el estudio del LLoQ mediante el subtipo B. Dado que el TAE era ≤ 1 en los niveles del VIH-1 por debajo del LoD, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puso de manifiesto un límite inferior de cuantificación equivalente al límite de detección: **34,2 UI/ml** (IC del 95 % de 27,8 a 47,7 UI/ml) o **1,5 log₁₀ UI/ml** (IC del 95 % de 1,4 a 1,7 log₁₀ UI/ml).

Tabla 3: LLoQ del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, con sesgo y TAE

Conc. deseada (UI/ml)	Conc. deseada (log ₁₀ UI/ml)	Conc. media (log ₁₀ UI/ml)	Detección (%)	SD	Sesgo	TAE
60	1,78	1,76	99	0,28	0,02	0,59
45	1,65	1,82	99	0,30	0,17	0,78
35	1,54	1,69	94	0,39	0,15	0,93
15	1,18	1,52	75	0,54	0,34	1,44

Sensibilidad analítica: linealidad y determinación del límite superior de cuantificación

La linealidad y el límite superior de cuantificación (upper limit of quantitation, ULoQ) del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se establecieron mediante la preparación de una serie de dilución de VIH-1 procedente del External Quality Assurance Program Oversight Laboratory (Duke University, Carolina del Norte, EE. UU.), el AccuPlex™ Recombinant HIV/HCV Control (Seracare, Massachusetts, EE. UU.) y el HIV-1 RNA Working Reagent 2 para ensayos de pruebas de ácidos nucleicos (Nucleic Acid Testing, NAT) (NIBSC). Se preparó un panel de nueve componentes en plasma con EDTA combinado negativo para el ARN del VIH-1 a fin de cubrir un intervalo de concentración de 7,70-1,70 log₁₀ UI/ml. El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puso de manifiesto la capacidad de cuantificar el VIH-1 en el intervalo lineal de 6 log₁₀ con una precisión de $\pm 0,33$ log₁₀ UI/ml en función del error estándar según lo calculado por el intervalo de confianza del 95 %. No se obtuvo ningún beneficio significativo utilizando los ajustes de regresión de segundo y tercer orden. Mediante los datos de este estudio se determinó que el ULoQ era de **7,7 log₁₀ UI/ml**. En la *figura 3* se presentan las concentraciones del ensayo de HIV-1 notificadas por el NeuMoDx System en comparación con los valores esperados.

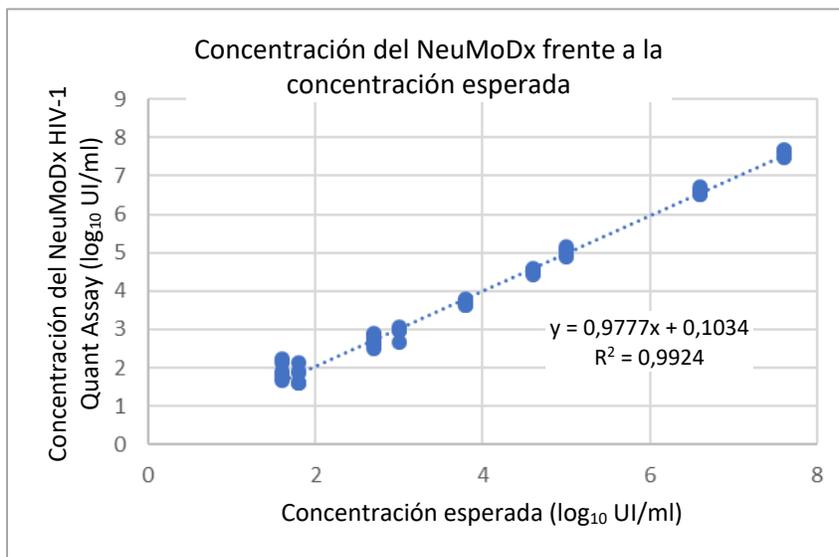


Figura 3: Intervalo lineal del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Sensibilidad analítica: linealidad en los genotipos

La linealidad del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en los grupos M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, K, CRF01_AE, CRF02_AG), N, O y P del VIH-1 se caracterizó mediante el análisis de al menos cinco (5) concentraciones diferentes de cada grupo/subtipo de VIH-1 preparadas en plasma con EDTA combinado negativo para el ARN del VIH-1. Las concentraciones del análisis del VIH-1 analizado en este estudio dependían de la concentración de la muestra original y, por lo tanto, eran diferentes entre los grupos/subtipos. El estudio se realizó con cada grupo/subtipo utilizando seis (6) réplicas en cada nivel. La linealidad se demostró en los intervalos analizados y se muestra en la *tabla 4* y en la *figura 4*.

Tabla 4: Linealidad del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en los grupos M, N, O y P

Grupo	Subtipo	Ecuación de linealidad <i>y</i> = cuantificación del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay (log ₁₀ UI/ml) <i>x</i> = cuantificación esperada (log ₁₀ UI/ml)	R ²
M	A	$y = 1,0217x - 0,008$	0,9953
	B	$y = 0,9715x + 0,1442$	0,9933
	C	$y = 1,0055x + 0,0658$	0,9879
	D	$y = 1,0203x - 0,3554$	0,9941
	F	$y = 0,9872x + 0,4278$	0,9955
	G	$y = 1,0282x + 0,2223$	0,9970
	CRF01_AE	$y = 1,0163x - 0,0053$	0,9824
	CRF02_AG	$y = 0,99x - 0,0783$	0,9989
	H	$y = 0,9803x + 0,4187$	0,9730
	K	$y = 1,0441x - 0,0223$	0,9684
N		$y = 0,996x + 0,2117$	0,9876
O		$y = 1,0043x + 0,6167$	0,9942
P		$y = 0,9927x + 0,1903$	0,9974

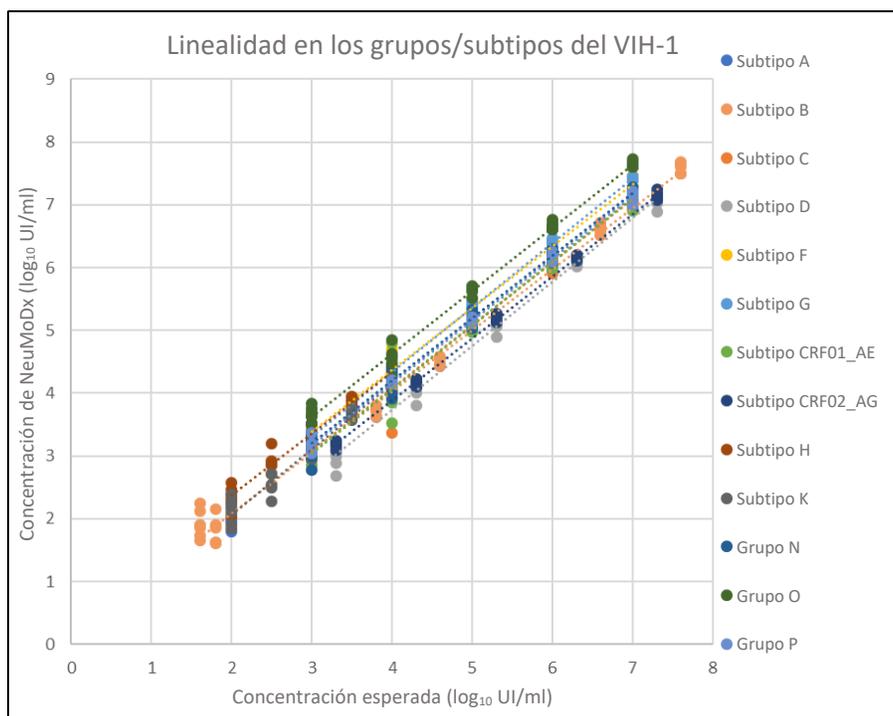


Figura 4: Linealidad del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en los subtipos

Especificidad analítica: contaminantes microbianos causantes de posibles interferencias

La especificidad analítica del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se evaluó mediante el análisis de un panel de microorganismos (Tabla 5) preparados en plasma con EDTA negativo para el ARN del VIH-1 en concentraciones elevadas para detectar la reactividad cruzada. Las posibles interferencias se evaluaron utilizando el mismo panel de microorganismos preparados en plasma con EDTA y mezclados con VIH-1 a una concentración de 2,02 log₁₀ UI/ml. No se observó reactividad cruzada, y todas las muestras microbianas negativas para el VIH-1 arrojaron resultados negativos. Todas las muestras microbianas positivas para el VIH-1 generaron resultados positivos y no se observó ninguna interferencia significativa en estas muestras, según puso de manifiesto la desviación mínima de la cuantificación notificada del VIH-1 respecto a las muestras de control que no contenían microorganismos causantes de posibles interferencias. Se evaluó la reactividad cruzada potencial adicional mediante la comparación de secuencias de nucleótidos de las secuencias del analito del NeuMoDx HIV Quant Assay con los genomas completos de 26 patógenos adicionales (tabla 6) utilizando la herramienta básica de búsqueda de alineación local (Basic Local Alignment Search Tool, BLASTn) facilitada por el National Center for Biotechnology Information (NCBI). El análisis de comparación de secuencias no indicó ninguna analogía entre las secuencias del analito y los genomas examinados.

Tabla 5: Patógenos analizados para determinar la especificidad analítica

Microorganismo causante de posibles interferencias
Virus de la hepatitis A
Virus de la hepatitis B
Virus de la hepatitis C
Virus linfotrópico T humano de tipo 1 (VLTH-1)
Virus linfotrópico T humano de tipo 2 (VLTH-2)
Virus de la inmunodeficiencia humana de tipo 2 (VIH-2)
Virus de la inmunodeficiencia de los simios (VIS)
Virus de Epstein-Barr

Tabla 6: Microorganismos incluidos en el análisis de alineación de secuencias mediante BLASTn

Microorganismo	Números de acceso	Microorganismo	Números de acceso
Adenovirus de tipo 12	X73487.1	Virus del herpes humano 5	GQ221974.1 KR534211.1 GQ221975.1 NC_006273.2
Poliomavirus BK	AB369101.1 NC_001538.1 AB369092.1	Virus del herpes humano 7	AF037218.1 NC_001716.2
<i>Chlamydia trachomatis</i>	CP018052.1 CP017731.1	Virus del herpes humano 8	NC_009333.1
<i>Cutibacterium acnes</i>	NZ_CP006032.1	Papilomavirus humano tipo 18	NC_001357.1 MF288723.1
Virus del dengue	KR919821.1 KR052012.1	Papilomavirus humano tipo 16	KY549222.1 KY549321.1
Virus del herpes simple tipo 2	Z86099.2	Parvovirus humano B19	KX752821.1 MH201456.1
Adenovirus humano 2	J01917.1 AC_000007.1	Gripe A (todos los segmentos)	MN253846.1 MH797924.1 MH842686.1 MN037420.1
Adenovirus humano 5	KX868466.2 AC_000008.1 AY601635.1	Virus JC	J02226.1 AB081030.1
Adenovirus humano C	AY339865.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	CP034022.1 CP041586.1
Herpesvirus beta humano 6A	NC_001664.4 X83413.2	<i>Propionibacterium acnes C1</i>	CP003877.1
Virus del herpes humano 1	X14112.1 JQ780693.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	AP017922.1
Virus del herpes humano 2	LT797626.1 JN561323.2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	AP008934.1
Virus del herpes humano 3	DQ479962.1 KC847290.1	Virus del Nilo Occidental	M12294.2 MF797870.1

Especificidad analítica: sustancias endógenas y exógenas causantes de posibles interferencias

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se evaluó para determinar su susceptibilidad a la interferencia causada por los fármacos prescritos frecuentemente a los individuos infectados por VIH-1, los niveles elevados de sustancias endógenas, y la presencia de enfermedades autoinmunitarias. El plasma con EDTA cribado negativo para el ARN del VIH-1 se mezcló con una concentración de $3 \log_{10}$ UI/ml de VIH-1 y con albúmina (120 mg/ml), bilirrubina (0,03 mg/ml), hemoglobina (3,5 mg/ml), triglicéridos (5,3 mg/ml), y medicamentos (*tabla 7*) a una concentración tres veces mayor que la $C_{m\acute{a}x}$. El plasma de pacientes con enfermedades como lupus eritematoso sistémico (LES), anticuerpo antinuclear (ANA) y artritis reumatoide (AR) también resultó ser de cribado negativo y se mezcló con una concentración de $3 \log_{10}$ UI/ml de VIH-1 para el análisis. No se observó ninguna interferencia significativa. Los resultados del estudio se resumen en la *tabla 8*.

Tabla 7: Fármacos analizados para determinar las interferencias

Clasificación farmacológica	Nombre del fármaco
Inmunomodulador	Interferón α 2a, interferón α 2b, ribavirina
Antagonista de CCR5	Maraviroc
Potenciador farmacocinético	Cobicistat
Inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa (INNRT)	Doravirina, efavirenz, nevirapina, rilpivirina
Inhibidor de la proteasa (IP)	Darunavir, amprenavir, ritonavir, saquinavir, simeprevir
Inhibidor nucleosídico de la transcriptasa inversa (INRT) o inhibidor de la polimerasa de ADN	Cidofovir, lamivudina, ganciclovir, tenofovir disoproxilo, zidovudina, valganciclovir, sulfato de abacavir, emtricitabina, entecavir, foscarnet, sofosbuvir
Inhibidor de la integrasa	Raltegravir, dolutegravir
Inhibidor de la fusión	Enfuvirtida
Tratamiento de infecciones oportunistas	Azitromicina, claritromicina, fluconazol, sulfametoxazol, trimetoprima

Tabla 8: Resumen de análisis de interferencias: agentes exógenos y endógenos

Endógena	Promedio [VIH-1] (\log_{10} UI/ml)	Sesgo (\log_{10} UI/ml)
Albúmina	3,03	-0,11
Bilirrubina	3,04	-0,09
Hemoglobina	3,04	-0,09
Triglicéridos	3,14	0,01
Exógenos (fármacos)	Promedio [VIH-1] (\log_{10} UI/ml)	Sesgo (\log_{10} UI/ml)
Grupo 1: Interferón α 2a, interferón α 2b, ribavirina, maraviroc, cobicistat	3,06	-0,07
Grupo 2: Raltegravir, dolutegravir, efavirenz, nevirapina, rilpivirina	3,04	-0,09
Grupo 3: Doravirina, darunavir, amprenavir, ritonavir, saquinavir	3,11	-0,02
Grupo 4: Simeprevir, enfuvirtida, sulfato de abacavir, emtricitabina, entecavir, foscarnet	3,12	-0,01
Grupo 5: Cidofovir, lamivudina, ganciclovir, tenofovir disoproxilo, zidovudina, valganciclovir	3,14	0,01
Grupo 6: Sofosbuvir, azitromicina, claritromicina, fluconazol, sulfametoxazol, trimetoprima	3,13	0
Estado de la enfermedad	Promedio [VIH-1] (\log_{10} UI/ml)	Sesgo (\log_{10} UI/ml)
Lupus eritematoso sistémico (LES)	3,00	-0,13
Anticuerpo antinuclear (ANA)	3,10	-0,03
Artritis reumatoide (AR)	3,25	0,12

Precisión

La precisión del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se determinó mediante el análisis de un panel de cuatro componentes de muestras de VIH-1 preparadas en plasma negativo para VIH-1 (que incorpora el grupo O y el subtipo B del VIH-1 procedentes del EQAPOL, perteneciente a la Duke University) en tres (3) NeuMoDx Systems durante seis (6) días. Se realizaron un total de 12 series en cada sistema para cada nivel de las muestras, lo que dio lugar a 216 réplicas por nivel durante el análisis. Se determinaron las precisiones dentro de la serie, en el día y dentro del sistema, y se determinó que la desviación estándar general fue $\leq 0,15 \log_{10}$ UI/ml. No se observó ninguna diferencia significativa en el rendimiento de los sistemas, en los días o en las series, tal y como se muestra en la *tabla 9*. No se determinó la precisión entre operadores, ya que el operador no desempeña un papel importante en el procesamiento de las muestras con el NeuMoDx System.

Tabla 9: Precisión dentro del laboratorio: NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en los NeuMoDx Systems

	Conc. deseada (log ₁₀ UI/ml)	Conc. media (log ₁₀ UI/ml)	SD dentro del sistema	SD en el día	SD en la serie analítica	SD dentro del laboratorio (general)
Subtipo B	5,7	5,62	0,09	0,09	0,09	0,10
	3,7	3,62	0,10	0,10	0,10	0,13
Grupo O	4,7	4,65	0,09	0,09	0,09	0,12
	2,7	2,66	0,13	0,13	0,12	0,15

Variabilidad entre lotes

La reproducibilidad entre lotes del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se verificó mediante el análisis retrospectivo de los datos de la prueba de calidad para tres (3) lotes diferentes de reactivos críticos. Estos datos se generaron a través del análisis funcional de los reactivos en un panel de tres componentes del analito del VIH (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) en plasma negativo para el ARN del VIH-1, junto con muestras de plasma negativo. Se procesaron un total de 18 réplicas positivas y 14 negativas por lote de NeuMoDx HIV-1 Quant Test Strip. La variabilidad se analizó dentro del mismo lote y entre lotes, y se presenta en la *tabla 10*. El sesgo absoluto general no sobrepasó la concentración de 0,14 log₁₀ UI/ml y la desviación estándar general cayó por debajo de 0,25 log₁₀ UI/ml. No se observó ninguna diferencia significativa en el rendimiento entre lotes, ya que la cuantificación de todos los componentes del panel estaba dentro de la especificación de la tolerancia.

Tabla 10: Reproducibilidad entre lotes: NeuMoDx HIV-1 Quant Assay

Conc. deseada (log ₁₀ UI/ml)	Conc. media general (log ₁₀ UI/ml)	Número de pruebas válidas	Sesgo (log ₁₀ UI/ml)	SD entre lotes	SD dentro del lote	SD general
5,00	4,96	18	0,04	0,08	0,08	0,12
3,00	2,86	17	0,14	0,12	0,18	0,22
2,00	1,92	18	0,08	0,17	0,14	0,22

Eficacia del control

El NeuMoDx HIV-1 Quant Assay incluye un control de proceso de muestras (Sample Process Control, SPC2) para notificar los fallos del proceso y/o de la amplificación. Se analizó la eficacia de este control interno en el NeuMoDx HCV Quant Assay análogo en condiciones representativas de fallos críticos de los pasos del proceso que podrían producirse durante el procesamiento de las muestras y que posiblemente no sean detectados por los sensores que supervisan el rendimiento del NeuMoDx System. Se analizaron las muestras negativas y positivas moderadas para poner a prueba el control interno con la presencia de inhibidores de la reacción, sin la administración de NeuMoDx Wash Reagent, y sin expulsión de lavado. Las condiciones que tenían un efecto adverso en la detección del analito también se reflejaron en la detección del SPC2 y se resumen a continuación en la *tabla 11*. Todas las situaciones analizadas pusieron de manifiesto la capacidad del control de proceso de muestras de supervisar los fallos correctamente, o que los fallos no detectados no tuvieron un efecto significativo en la detección y la cuantificación del analito.

Tabla 11: Resumen del estudio de la eficacia del control de proceso de muestras

Condición de los fallos simulados	Estado de la amplificación del SPC2	Estado de la amplificación del analito	Resultado del ensayo
Presence of Inhibitor (Presencia de inhibidor)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Reagent Delivered (Sin reactivo de lavado administrado)	Not Amplified (No amplificado)	Not Amplified (No amplificado)	Unresolved (No resuelto)
No Wash Blowout (Sin expulsión de lavado)	Amplified (Amplificado)	Amplified (Amplificado)	Positive, ± 0.3 log ₁₀ IU/mL of Control (Positivo, ± 0,3 log ₁₀ UI/ml de control)

Contaminación cruzada

La tasa de contaminación cruzada del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se determinó mediante el análisis de seis (6) series de muestras de VIH-1 positivas altas y negativas alternas. Se procesaron un total de 36 réplicas negativas y 36 réplicas de VIH-1 con una alta concentración vírica a una concentración de 6,0 log₁₀ UI/ml en una configuración estilo tablero de ajedrez. Todas las réplicas de las muestras negativas resultaron ser negativas, lo que demuestra que no hubo contaminación cruzada durante el procesamiento de las muestras en el NeuMoDx System.

Equivalencia de la matriz de muestra

Se realizaron análisis para poner de manifiesto la equivalencia de la matriz de muestras entre la sangre completa recogida en tubos de recogida con EDTA y ACD para la preparación del plasma. Se realizaron análisis adicionales para determinar la equivalencia entre las muestras de plasma frescas y congeladas (recogidas en los dos tipos de tubos). Las muestras frescas se mantuvieron a una temperatura de entre 2 y 4 °C antes de mezclarlas con cuatro niveles de VIH-1 (incluido un nivel negativo) que cubrían el intervalo cuantitativo del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, y se analizaron para determinar la equivalencia. A continuación, se congelaron las muestras durante un mínimo de 24 horas a una temperatura ≤ -20 °C. Tras este periodo de almacenamiento bajo congelación, se descongelaron las muestras y se volvieron a analizar. Los resultados de las muestras de plasma frescas frente a congeladas y recogidas en tubos con EDTA frente a ACD se compararon mediante un análisis de regresión para determinar la equivalencia. Los resultados del análisis de los datos de regresión lineal no pusieron de manifiesto ninguna diferencia significativa en los valores notificados entre las condiciones de almacenamiento de las muestras de plasma frescas y congeladas o entre las recogidas en tubos con EDTA y ACD analizadas con el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay.

Se realizaron análisis adicionales para determinar la equivalencia del rendimiento del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay de las muestras primarias frente a las muestras secundarias. Se procesaron primero los paneles de muestras de donantes negativas para el VIH-1 mezcladas con el analito del VIH-1 (AccuPlex Recombinant HIV/HCV Control) y de muestras de donantes positivas para el VIH-1 de los tubos de muestras principales. Tras el procesamiento de los tubos primarios, el plasma restante de cada muestra se distribuyó en partes alícuotas en un tubo de muestras secundario y se volvió a procesar. No se observó ninguna diferencia significativa en los resultados notificados entre el procesamiento de los tubos de muestras de plasma primarios y secundarios.

Comparación del método clínico

El rendimiento cualitativo y cuantitativo del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se comparó con el de un ensayo de comparación aprobado por la FDA/CE-IVD. Los análisis internos se realizaron a través de un estudio enmascarado simple de muestras de plasma residual anonimizadas obtenidas de un proveedor registrado por la FDA. Se procesaron un total de 723 muestras de plasma con el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay en varios NeuMoDx Systems. Todas las muestras que inicialmente arrojaron un resultado no válido se volvieron a procesar correctamente, lo que proporcionó resultados válidos para todas las muestras sometidas a este estudio.

Los errores del procesamiento y de los sistemas que se encontraron durante los análisis fueron mínimos y estaban dentro de los criterios de aceptación. Un total de doce (12) resultados Indeterminate (IND) (Indeterminado) y siete (7) resultados Unresolved (UNR) (No resuelto) proporcionaron una tasa de resultados indeterminados del 1,48 % (IC del 95 %: 0,85-2,57 %) y una tasa de resultados no resueltos del 0,86 % (IC del 95 %: 0,42-1,77 %). La tasa general de resultados válidos fue del 97,7 % (IC del 95 %: 96,4-98,5 %).

De los 723 resultados válidos obtenidos, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay notificó 165 resultados como positivos, con los valores de concentración correspondientes asignados mediante los análisis de referencia. Se realizaron los análisis de regresión de Deming y de Passing-Bablok para correlacionar los valores de concentración notificados del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay con los valores notificados de los análisis de referencia.

Se elaboraron los gráficos de regresión y residual para representar la correlación entre las concentraciones del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay y los valores de concentración de las pruebas de referencia para todas las muestras analizadas con las concentraciones asignadas por ambos. Los gráficos elaborados mediante el análisis del método de Deming y el método de Passing-Bablok se muestran en las *figuras 5 y 6*, respectivamente. La calidad del ajuste de regresión de Deming se indica mediante un coeficiente de pendiente de 0,975 (IC del 95 %: 0,939, 1,011) y una intersección (sesgo) de $-0,121$ (IC del 95 %: $-0,276$, 0,033), lo que pone de manifiesto que los resultados de las concentraciones obtenidos del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay y de las pruebas de referencia están muy correlacionados con un sesgo aceptable. La calidad del ajuste lineal de Passing-Bablok se indica mediante un coeficiente de pendiente de 0,981 (IC del 95 %: 0,950, 1,012) y una intersección (sesgo) de $-0,167$ (IC del 95 %: $-0,288$, $-0,036$), lo que también pone de manifiesto que los resultados de las concentraciones obtenidos entre el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay y las pruebas de referencia están muy correlacionados con un sesgo aceptable. Los resultados de los análisis de Deming y Passing-Bablok se resumen a continuación en la *tabla 12*.

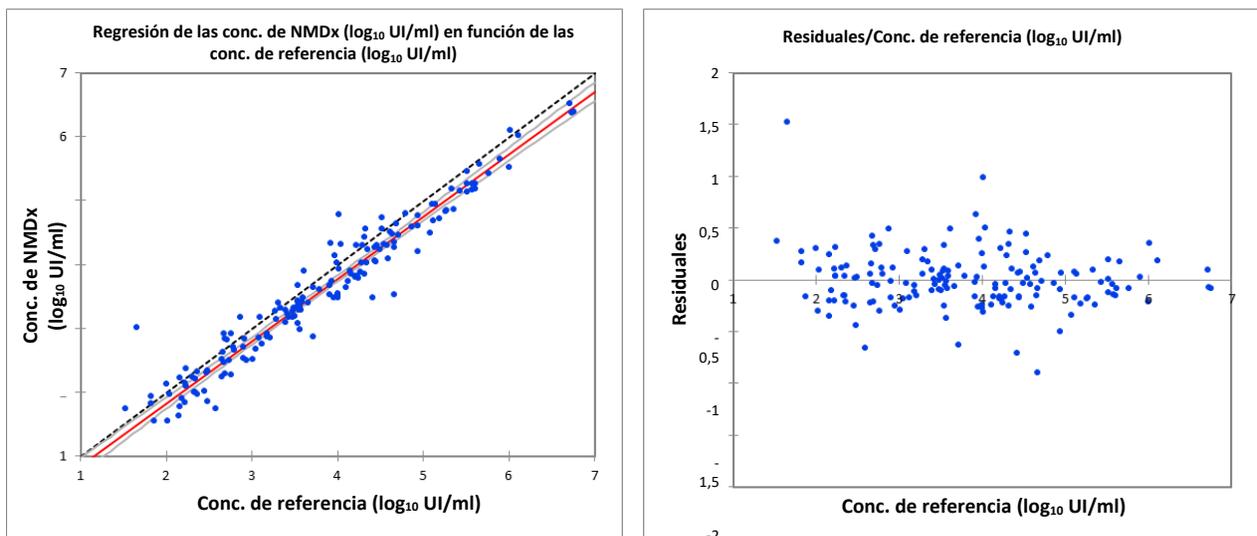


Figura 5: Gráficos de equivalencia (izquierda) y residual (derecha): análisis acumulativo del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay frente a las pruebas de referencia: análisis de Deming

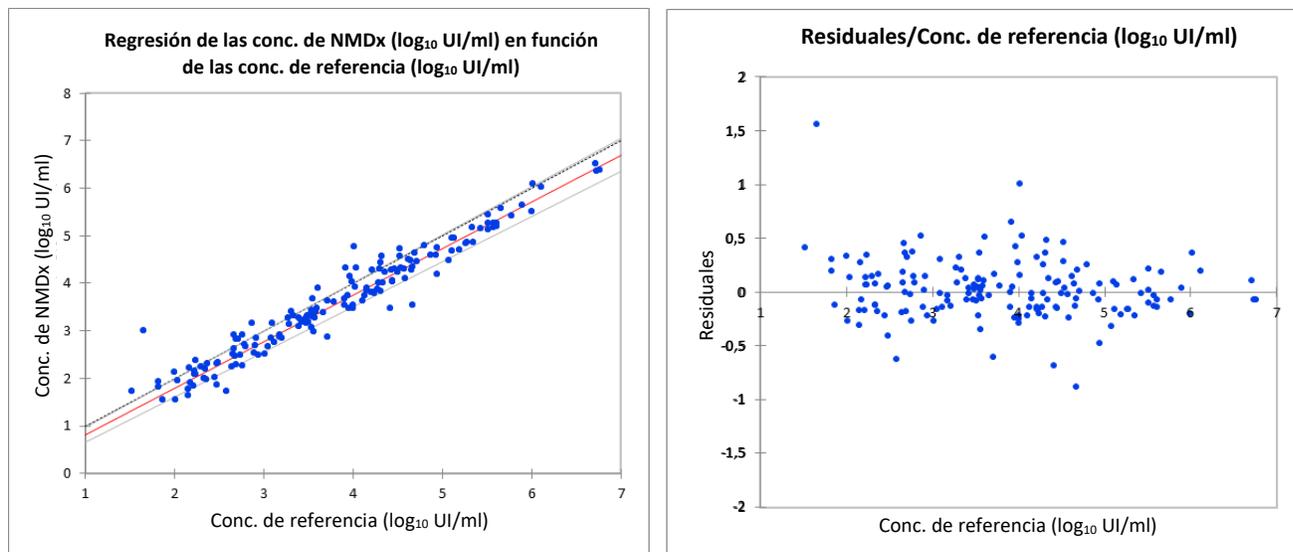


Figura 6: Gráficos de equivalencia (izquierda) y residual (derecha): análisis acumulado del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay frente a las pruebas de referencia: análisis de Passing-Bablok

Tabla 12: Resumen de los análisis de regresión lineal de Deming y Passing-Bablok

Análisis de Deming		Análisis de Passing-Bablok	
Intersección	Coefficiente de pendiente	Intersección	Coefficiente de pendiente
-0,121	0,975	-0,167	0,981
IC del 95 % (-0,276; 0,033)	IC del 95 % (0,939; 1,011)	IC del 95 % (-0,288; -0,036)	IC del 95 % (0,950; 1,012)

De los 723 resultados válidos obtenidos con el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay, las pruebas de referencia notificaron 171 resultados positivos y 552 resultados negativos. La sensibilidad y la especificidad del NeuMoDx HIV-1 Quant Assay se calcularon en función de las pruebas de referencia y se resumen a continuación en la *tabla 13*. De las 171 muestras positivas analizadas, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay notificó como positivas 165 muestras, lo que pone de manifiesto una sensibilidad del 96,5 % (IC del 95 %: 92,6-98,4 %). De las 552 muestras negativas analizadas, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay notificó como negativas 551 muestras, lo que pone de manifiesto una sensibilidad del 99,8 % (IC del 95 %: 99,0-100 %).

Tabla 13: Resultados cualitativos de comparación de métodos para el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay frente a las pruebas de referencia

		Prueba de referencia			
		HIV-1	Positive (Positivo)	Negative (Negativo)	Total
NeuMoDx	Positive (Positivo)		165	1	166
	Negative (Negativo)		6	551	557
	Total		171	552	723
		Sensibilidad = 96,5 % (IC del 95 %, 92,6-98,4 %)			
		Especificidad = 99,8 % (IC del 95 %, 99,0-100 %)			

Además, se procesaron un total de 12 paneles de seroconversión comerciales, incluidas 75 muestras de plasma individuales, con el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay para poner de relieve la detección del ARN del VIH-1 antes de la de los anticuerpos/antígenos mediante las pruebas disponibles en el mercado. En el análisis se incluyeron paneles de componentes de antes de la seroconversión, de la seroconversión temprana y de la seroconversión. Se realizaron análisis para comparar la primera extracción en la que el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay detecta el ARN del VIH-1 frente a la primera extracción positiva para el anticuerpo/antígeno del VIH-1 (Ac/Ag) según lo notificado por las pruebas de sangre comercializadas y aprobadas por la FDA/CE-IVD. Para todos los paneles analizados, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay detectó el ARN del VIH-1 al menos una extracción de sangre antes que las pruebas de sangre para la detección del anticuerpo/antígeno. Los resultados se resumen en la *tabla 14*.

Tabla 14: Comparación de los paneles de seroconversión: NeuMoDx HIV-1 Quant Assay frente a la prueba de sangre para la detección del Ac/Ag del VIH-1

ID del panel	Día de la extracción con el primer resultado positivo	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Prueba de sangre para la detección del Ac/Ag del VIH-1
PRB969	4	7
PRB968	5	7
0600-0230	2	4
0600-0270	2	3
0600-0258	2	3
0600-0244 (PRB962)	3	5
0600-0272	3	4
PRB967	2	4
PRB964	3	6
PRB963	4	6
0600-0263	5	7
PRB956	2	4

Se realizaron análisis adicionales para comparar la primera extracción de sangre en la que el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay detecta el ARN del VIH-1 con la primera extracción positiva para el ARN del VIH-1 según lo revelado por las NAT comercializadas y aprobadas por la FDA/CE-IVD. Para todos los paneles analizados, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay detectó el ARN del VIH-1 en la misma extracción que el resto de pruebas NAT para la detección del ARN del VIH-1. En dos paneles, el NeuMoDx HIV-1 Quant Assay puso de manifiesto la detección del ARN del VIH-1 en una extracción de sangre antes que otras pruebas NAT. Los resultados se resumen en la *tabla 15*.

Tabla 15: Comparación de los paneles de seroconversión: NeuMoDx HIV-1 Quant Assay frente a la prueba NAT para la detección del ARN del VIH-1

ID del panel	Día de la extracción con el primer resultado positivo	
	NeuMoDx HIV-1 Quant Assay	Prueba NAT de referencia
PRB969	4	4
PRB968	5	5
0600-0230	2	2
0600-0270	2	2
0600-0258	2	2
0600-0244 (PRB962)	3	3
0600-0272	3	3
PRB967	2	2
PRB964	3	4
PRB963	4	5
0600-0263	5	5
PRB956	2	2

REFERENCIAS

1. Barré-sinoussi F, Ross AL, Delfraissy JF. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):877-83.
2. Piot P, Plummer FA, Mhalu FS, Lamboray JL, Chin J, Mann JM. AIDS: an international perspective. *Science.* 1988;239(4840):573-9.
3. Acheson ED. AIDS: a challenge for the public health. *Lancet.* 1986;1(8482):662-6.
4. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS.* 2012;26(10):1205-13.
5. Gaines H, Von sydow MA, Von stedingk LV, et al. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS.* 1990;4(10):995-9.
6. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. The immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1993;328(5):327-35.
7. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):961-4.
8. Clark SJ, Saag MS, Decker WD, et al. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N Engl J Med.* 1991;324(14):954-60.
9. Coombs RW, Collier AC, Allain JP, et al. Plasma viremia in human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 1989;321(24):1626-31.
10. Horsburgh CR, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet.* 1989;2(8664):637-40.
11. Piatak M, Saag MS, Yang LC, et al. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science.* 1993;259(5102):1749-54.
12. Mellors JW, Margolick JB, Phair JP, et al. Prognostic value of HIV-1 RNA, CD4 cell count, and CD4 Cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA.* 2007;297(21):2349-50.
13. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Department of Health and Human Services. Available at <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Updated December 18, 2019.
14. Cohen MS, Chen YQ, Mccauley M, et al. Prevention of HIV-1 infection with early antiretroviral therapy. *N Engl J Med.* 2011;365(6):493-505.
15. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):123-6.
16. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):117-22.
17. Dimitrov DS, Martin MA. HIV results in the frame. CD4+ cell turnover. *Nature.* 1995;375(6528):194-5.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARCAS COMERCIALES

NeuMoDx™ y NeuDry™ son marcas comerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.

AccuPlex™ es una marca comercial de SeraCare Life Sciences, Inc.

BD Vacutainer® es una marca comercial registrada de Becton, Dickinson and Company

BD y PPT™ son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company

TaqMan® es una marca comercial registrada de Roche Molecular Systems, Inc.

El resto de los nombres de productos, marcas comerciales y marcas comerciales registradas que pueden aparecer en este documento son propiedad de sus respectivos dueños.

SÍMBOLOS

SÍMBOLO	SIGNIFICADO
R only	Solo para uso prescriptivo
	Fabricante
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
REF	Número de referencia
LOT	Código de lote
	Fecha de caducidad
	Límite de temperatura
	Limitación de humedad
	No reutilizar
	Contenido suficiente para $<n>$ pruebas
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Riesgos biológicos
CE	Marca CE



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Patrocinador (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Servicio técnico/Informes de vigilancia: support@qiagen.com

Patente: www.neumodx.com/patents