

Xpert[®] HIV-1 Qual

REF GXHIV-QA-CE-10

Instrucciones de uso

CE 2797 **IVD**

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2015–2023 Cepheid.

Cepheid[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®] y Xpert[®] son marcas comerciales de Cepheid, registradas en los EE. UU. y otros países.

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTAS INSTRUCCIONES DE USO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

© 2015–2023 Cepheid.

Consulte el Apartado 24, Historial de revisiones, para obtener una descripción de los cambios.

Xpert[®] HIV-1 Qual

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert[®] HIV-1 Qual

2 Denominación común o habitual

HIV-1 Qual

3 Indicaciones

El ensayo HIV-1 Qual, realizado en los GeneXpert Instrument Systems, es una prueba de diagnóstico cualitativa *in vitro* diseñada para detectar los ácidos nucleicos totales del virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (HIV-1) en los sistemas GeneXpert[®] automatizados utilizando muestras humanas de sangre total y sangre seca obtenidas de personas con sospecha de infección por HIV-1. Está validado para muestras del grupo M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, J, K, CRF01_AE, CRF02_AG y CRF03_AB), del grupo N y del grupo O.

El ensayo HIV-1 Qual está concebido para facilitar el diagnóstico de la infección por HIV-1 en combinación con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio. El ensayo está indicado para que lo utilicen profesionales de laboratorio o trabajadores sanitarios específicamente formados. El ensayo no está concebido para utilizarse como prueba de HIV-1 para el cribado de donantes de sangre.

4 Resumen y explicación

El virus de inmunodeficiencia humana (HIV, Human Immunodeficiency Virus) es el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida).^{1,2,3} El virus puede transmitirse por contacto sexual, exposición a sangre o hemoderivados infectados, infección prenatal de un feto o infección perinatal o posnatal de un recién nacido.^{4,5,6} Las personas infectadas suelen presentar una infección aguda caracterizada por síntomas gripales en un periodo de días a semanas después de la exposición inicial.⁷ Las infecciones por HIV agudas normalmente duran menos de 14 días⁸ y se asocian a altos niveles de viremia previos a una respuesta inmunitaria detectable.^{9,10} Por tanto, las pruebas de ácidos nucleicos del HIV-1 pueden ser más sensibles que las pruebas serológicas estándar en la detección de infecciones agudas.⁷

A finales de 2013 había 35 millones (33,2 millones-37,2 millones) de personas viviendo con el HIV.¹¹ De los infectados, 2,1 millones representan nuevas infecciones y se calcula que 240 000 son niños.¹¹ Un tercio de todas las personas que viven con el HIV residen en nueve países del sur de África, que solamente constituyen el 2 % de la población mundial.¹² Sin una prueba del HIV y el inicio del tratamiento realizados en el momento adecuado, un tercio de los niños infectados por el HIV morirán antes de su primer cumpleaños y más del 50 % morirá antes de alcanzar los dos años de edad.¹¹ En cambio, el riesgo de mortalidad de los niños infectados por el HIV en EE. UU. y Europa es solamente del 10-20 %.¹³ El diagnóstico precoz de la infección por HIV en lactantes es una necesidad; sin embargo, se pierde el contacto con muchos pacientes mientras se espera el resultado de las pruebas precoces, por lo general PCR del ADN, sensible durante los primeros 18 meses de vida (y con una accesibilidad muy limitada) o de una prueba rápida, que solo es exacta a partir de un intervalo de edad de 15 a 18 meses.^{14,15} Por este motivo se han recomendado las pruebas de ácidos nucleicos para el HIV-1 para detectar la infección en pacientes pediátricos de 18 meses o menos.^{16,17,18,19}

El ensayo HIV-1 Qual utiliza la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) para lograr una alta sensibilidad para la detección cualitativa de ácidos nucleicos totales del HIV-1 en tipos de muestras de sangre total o de sangre seca.

5 Principio del procedimiento

Los sistemas del instrumento GeneXpert (GX) automatizan e integran la preparación de muestras, la extracción y amplificación de ácidos nucleicos, y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante PCR con transcripción inversa (RT-PCR) en tiempo real. Los sistemas constan de un instrumento, un ordenador personal y software precargado para realizar pruebas y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos GeneXpert desechables, de un solo uso, que contienen los reactivos de RT-PCR y alojan los procesos de RT-PCR. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Para obtener una descripción completa del sistema, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual* o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

El ensayo HIV-1 Qual incluye reactivos para la detección de ácidos nucleicos totales del HIV-1 en muestras, así como un control interno para garantizar el procesamiento adecuado de la diana y para monitorizar la presencia de inhibidores en las reacciones de RT y PCR. El control de comprobación de la sonda (PCC) comprueba la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, la integridad de las sondas y la estabilidad del colorante.

6 Materiales suministrados

El kit del ensayo HIV-1 Qual contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad. El kit contiene lo siguiente:

Cartuchos del ensayo HIV-1 Qual con tubos de reacción integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas) 	1 de cada por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de lisis (tiocianato de guanidinio) 	1,4 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de enjuague 	0,5 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de elución 	2,5 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de unión 	2,4 ml por cartucho
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de proteinasa K 	0,48 ml por cartucho
Conjunto de reactivo para muestras del ensayo HIV-1 Qual (reactivo para muestras)	10
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo de lisis (tiocianato de guanidinio) 	1,0 ml por frasco
Pipetas de transferencia de 1 ml, desechables	1 bolsa de 10 por kit
Micropipetas de transferencia desechables de 100 µl	1 bolsa de 10 por kit
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> • Archivos de definición del ensayo (ADF) • Instrucciones para importar los ADF en el software GeneXpert • Instrucciones de uso (prospecto) 	

Nota Las fichas de datos de seguridad (SDS, Safety Data Sheets) están disponibles en www.cepheid.com o en www.cepheidinternational.com en la ficha **ASISTENCIA (SUPPORT)**.

Nota El estabilizador de proteínas de albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

7 Conservación y manipulación

- Conserve los cartuchos y los reactivos del ensayo HIV-1 Qual a una temperatura de entre 2 y 28 °C.
- No utilice ningún reactivo que presente turbidez o un cambio de color.
- No utilice cartuchos que presenten fugas.

8 Materiales requeridos pero no suministrados

- GeneXpert Dx System o GeneXpert Infinity System (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con software GeneXpert Dx patentado versión 4.7b o posterior (GeneXpert Dx System) o Xpertise 6.4b o posterior (Infinity-80/Infinity-48s), lector de códigos de barras y manual del operador.
- Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.
- Si se utiliza sangre seca:
 - Kit de recogida de sangre seca (tarjetas de papel filtro, p. ej., Whatman 903, Munktell o equivalentes, lancetas, desecantes, bolsas de plástico sellables e hisopos)
 - Tijeras estériles (recomendadas para recortar la sangre seca del papel filtro si no se utiliza una tarjeta de sangre seca perforada)
 - Pinzas
 - Paño/toallita
 - Lejía
 - Eppendorf ThermoMixer® C (número de referencia de Eppendorf 5382 000.015) (solo para la aplicación de sangre seca)
 - Eppendorf SmartBlock™ (número de referencia de Eppendorf 5309 000.007) (solo para la aplicación de sangre seca)

9 Advertencias y precauciones

- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos usados, como agentes capaces de transmitir agentes infecciosos. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention)²⁰ y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute)²¹ de Estados Unidos.
- Utilice guantes protectores desechables, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos. Lávese las manos a fondo tras manipular las muestras y los reactivos de la prueba.
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- Si se procesa más de una muestra a la vez, abra solo un cartucho; añada la muestra y cierre el cartucho antes de procesar la siguiente muestra. Cámbiese los guantes entre una muestra y la siguiente.
- Para evitar la contaminación de las muestras o los reactivos, se recomienda seguir las buenas prácticas de laboratorio, lo que incluye el cambio de guantes entre las manipulaciones de muestras de pacientes.
- No sustituya los reactivos del ensayo HIV-1 Qual por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho del ensayo HIV-1 Qual excepto cuando vaya a añadir el reactivo para muestras y la sangre total o la muestra de sangre seca tratada con reactivo para muestras.
- No utilice cartuchos que parezcan mojados o que tengan el precinto de la tapa roto.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del empaquetado.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No utilice cartuchos que tengan un tubo de reacción dañado.
- Cada cartucho de un solo uso del ensayo HIV-1 Qual se utiliza para procesar una sola muestra. No vuelva a utilizar los cartuchos usados.

La pipeta desechable de un solo uso se utiliza para transferir una sola muestra. No vuelva a utilizar las pipetas desechables usadas.

- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos que requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos de eliminación

de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden exhibir características propias de los residuos químicos peligrosos que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas y los cartuchos utilizados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) en cuanto a la manipulación y eliminación de desechos médicos.

10 Peligros químicos^{23,24}

- Palabra de advertencia: Advertencia
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
 - Nocivo en caso de ingestión
 - Provoca irritación cutánea leve
 - Provoca irritación ocular
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
 - Prevención
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - Respuesta
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico.
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Llamar a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.

11 Recogida, transporte y conservación de las muestras

11.1 Recogida de sangre total

Recoja la sangre total en tubos estériles con EDTA K2 (tapón lavanda) como anticoagulante de acuerdo con las instrucciones de uso del fabricante. Se requieren 100 µl de sangre total como mínimo para el ensayo HIV-1 Qual.

Transporte y conservación de las muestras

La sangre total con anticoagulante EDTA K2 puede conservarse a 31-35 °C durante un máximo de 8 horas, a 15-30 °C durante un máximo de 24 horas o a 2-8 °C durante un máximo de 72 horas antes de preparar y analizar antes de preparar y analizar la muestra.

11.2 Recogida de sangre seca

Recoja las muestras de sangre seca siguiendo los procedimientos clínicos adecuados. La sangre seca debe prepararse en tarjetas de papel filtro Whatman 903 o Munktell, o equivalentes, con sangre obtenida de una punción en el talón, un dedo de la mano o un dedo del pie, o recogida en un tubo con EDTA K2. La sangre seca se obtiene colocando un poco de sangre dentro de cada círculo de 12 milímetros marcado en la tarjeta de papel filtro. Hay que asegurarse de cubrir todo el círculo con sangre (aproximadamente 60-70 µl). Se deben rellenar como mínimo dos círculos con cada muestra para que pueda repetirse la prueba.

Si se recogió la sangre total en un tubo con EDTA K2, homogenice la muestra invirtiendo el tubo de 8 a 10 veces antes de aplicar la muestra al filtro. Deje secar la tarjeta al aire a temperatura ambiente durante cuatro horas como mínimo. Envase cada tarjeta en una bolsa individual resellable e introduzca un sobre de desecador en cada bolsa. Las muestras recién recogidas en tubos con EDTA K2 pueden conservarse a 31-35 °C durante un máximo de 8 horas, a 15-30 °C durante un máximo de 24 horas o a 2-8 °C durante un máximo de 72 horas antes de preparar la sangre seca.

Transporte y conservación de las muestras

Envíe las tarjetas de papel filtro que contienen la sangre seca a los laboratorios de análisis para su procesamiento en bolsas individuales resellables, con un sobre de desecador en cada bolsa. Las tarjetas pueden conservarse a 2-25 °C o a -15 °C o menos durante un máximo de 12 semanas. Las tarjetas también pueden conservarse a 31-35 °C durante un máximo de 8 semanas.

12 Procedimiento

Antes de empezar, extraiga del kit el frasco que contenga el reactivo para muestras y, si se refrigeró, deje que se estabilice a la temperatura ambiente. Consulte la Figura 1. Si el frasco no se ha conservado en posición vertical, asegúrese de que el tampón se haya asentado en el fondo agitando firmemente el frasco.

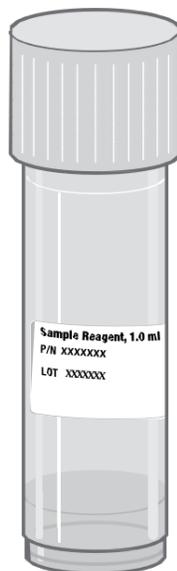


Figura 1. Reactivo para muestras del ensayo HIV-1 Qual

12.1 Preparación del cartucho

Nota No retire la película de plástico fina que cubre el anillo interior de 13 orificios del cartucho de la prueba.

Importante Inicie la prueba antes de que transcurran 30 minutos desde que añadió la muestra al cartucho.

Sangre total

1. Lleve guantes de protección desechables.
2. Etiquete el frasco de reactivo para muestras con la identificación de la muestra.
3. Inspeccione el cartucho de la prueba para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.
4. Abra la tapa del cartucho.
5. Utilice la pipeta de transferencia de 1 ml (Figura 2) suministrada o una pipeta automática para transferir 750 µl del reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho (Figura 4).

Nota Deje que el reactivo para muestras se estabilice a la temperatura ambiente y homogenice el contenido del frasco invirtiéndolo antes de transferirlo al cartucho. Transfiera exactamente 750 µl a la cámara de muestras del cartucho.

6. Homogenice la muestra de sangre total invirtiendo el frasco (Microtainer con EDTA o tubo con EDTA K2 [tapón lavanda]) al menos siete veces. Transfiera inmediatamente 100 µl utilizando la micropipeta suministrada (consulte la Figura 3) apretando el bulbo superior y, a continuación, soltándolo suavemente para aspirar la sangre. Apriete de nuevo para dispensar la sangre en la cámara de muestras del cartucho, donde se mezclará con el reactivo para muestras ya presente en la cámara de muestras (Figura 4). Otra opción consiste en utilizar una pipeta automática para dispensar la sangre en la cámara de muestras del cartucho (consulte la Figura 4). ¡NO vierta la muestra en la cámara!

Nota Asegúrese de que se añadan 100 µl de sangre al reactivo para muestras ya presente en la cámara de muestras.

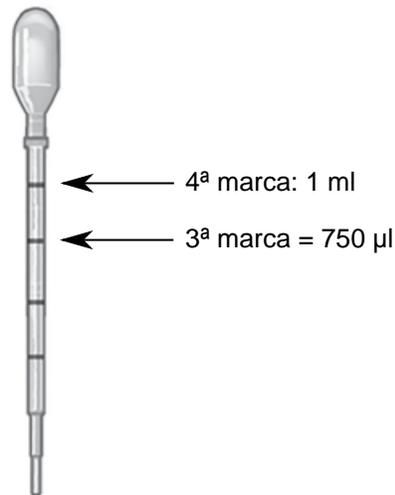


Figura 2. Pipeta de transferencia de 1 ml del ensayo HIV-1 Qual

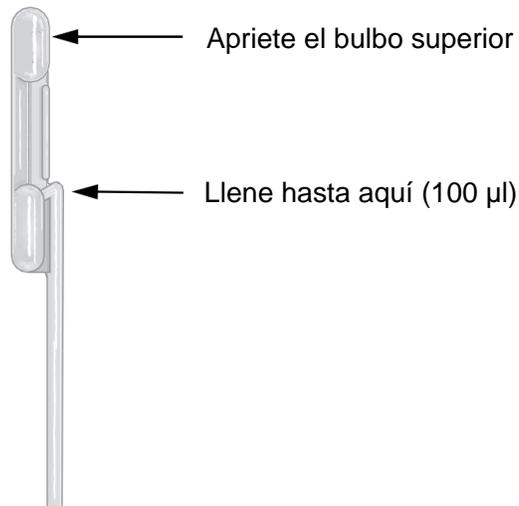


Figura 3. Micropipeta de transferencia de 100 µl del ensayo HIV-1 Qual



Figura 4. Cartucho del ensayo HIV-1 Qual (vista superior)

Sangre seca

Nota

Para evitar la contaminación cruzada, limpie y pase una toallita a las pinzas y las tijeras (si la tarjeta de sangre seca no está perforada) entre las muestras utilizando lejía al 10 % en agua. Seque las pinzas y las tijeras después de cada descontaminación.

1. Lleve guantes de protección desechables.
2. Encienda la ThermoMixer para calentar a 56 °C.
3. Etiquete el frasco de reactivo para muestras con la identificación de la muestra.
4. Con unas tijeras esterilizadas, recorte una mancha de sangre seca completa de la tarjeta de papel filtro de cada muestra. Siga las líneas marcadas cuando realice la escisión de la sangre seca. Si se utilizan tarjetas con círculos perforados, utilice unas pinzas para desprender la sangre seca.
5. Desenrosque la tapa del frasco que contiene el reactivo para muestras y coloque una mancha de sangre seca dentro del frasco. Si la sangre seca no se asienta en el fondo, utilice la parte posterior de las pinzas para empujarlo hacia abajo con cuidado. Asegúrese de que la sangre seca quede totalmente sumergida en la solución tampón del reactivo para muestras.
6. Coloque el frasco con la sangre seca en una ThermoMixer C e incúbelo durante 15 minutos a 56 °C mientras gira a 500 rpm.
7. Inspeccione el cartucho de la prueba para comprobar que no esté dañado. Si está dañado, no lo utilice.
8. Abra la tapa del cartucho.
9. Utilice la pipeta de transferencia de 1 ml suministrada (consulte la Figura 2) o una pipeta automática para transferir todo el líquido desde la muestra de sangre seca lisada al interior de la cámara de muestras del cartucho (consulte la Figura 4). Asegúrese de que la pipeta esté llena por encima de la tercera marca de la pipeta de transferencia. Evite aspirar la sangre seca con la pipeta. ¡NO vierta la muestra en la cámara!
10. Cierre la tapa del cartucho.

13 Realización de la prueba

- Para el GeneXpert Dx System, consulte el Apartado 13.1.
- Para el GeneXpert Infinity System, consulte el Apartado 13.2.

13.1 GeneXpert Dx System

13.1.1 Inicio de la prueba

Antes de comenzar la prueba, asegúrese de que:

- Importante**
- El sistema está ejecutando la versión correcta del software GeneXpert Dx que se muestra en la sección Materiales requeridos pero no suministrados.
 - Se haya importado al software el archivo de definición del ensayo correcto.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

Nota Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

1. Encienda el GeneXpert Dx System y, a continuación, encienda el ordenador e inicie sesión. El software GeneXpert se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software GeneXpert Dx en el escritorio de Windows®.
2. Inicie una sesión con su nombre de usuario y contraseña.
3. En la ventana del **sistema GeneXpert**, haga clic en **Crear prueba (Create Test)**. Aparece la pantalla **Crear prueba (Create Test)**. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. del paciente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente.
La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. de la muestra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente.
La Id. muestra (Sample ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Escanee el código de barras del cartucho. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote de reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si el código de barras del cartucho no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparece una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)**. En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
8. Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
9. Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear.
Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
10. Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla y retire el cartucho.
11. Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

13.1.2 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones más detalladas sobre cómo visualizar e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx*.

1. Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** para ver los resultados.
2. Una vez finalizada la prueba, haga clic en el botón **Informe (Report)** de la ventana Ver resultados (View Results) para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

13.2 GeneXpert Infinity System

13.2.1 Inicio de la prueba

Antes de comenzar la prueba, asegúrese de que:

- Importante**
- El sistema está ejecutando la versión correcta del software Xpertise que se muestra en la sección Materiales requeridos pero no suministrados.
 - Se haya importado al software el archivo de definición del ensayo correcto.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para obtener instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Nota Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

1. Encienda el instrumento. El software Xpertise se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software Xpertise en el escritorio de Windows®.
2. Inicie sesión en el ordenador y, a continuación, inicie sesión en el software GeneXpert Xpertise con su nombre de usuario y su contraseña.
3. En el espacio de trabajo **inicial del software Xpertise**, haga clic en **Solicitudes (Orders)**. En el espacio de trabajo **Solicitudes (Orders)**, haga clic en **Solicitar prueba (Order Test)**. Se mostrará el espacio de trabajo **Solicitar prueba – Id. de paciente (Order Test – Patient ID)**.
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes.
5. Introduzca toda la información requerida por su centro y haga clic en el botón **CONTINUAR (CONTINUE)**. Aparece el espacio de trabajo **Solicitar prueba – Id. muestra (Order Test – Sample ID)**.
6. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes.
7. Haga clic en el botón **CONTINUAR (CONTINUE)**. Se mostrará el espacio de trabajo **Order Test – Assay (Solicitar prueba – Ensayo)**.
8. Escanee el código de barras del cartucho. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote de reactivo (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota Si el código de barras del cartucho no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparece una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

Una vez escaneado el cartucho, aparece el espacio de trabajo **Solicitar prueba - Información de la prueba (Order Test - Test Information)**.

9. Verifique que la información sea correcta y haga clic en **Enviar (Submit)**. En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
10. Coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se carga automáticamente, se realiza la prueba y el cartucho usado se coloca en el recipiente de residuos.

13.2.2 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo visualizar e imprimir los resultados, consulte el *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. En el espacio de trabajo **inicial del software Xpertise**, pulse el icono **RESULTADOS (RESULTS)**. Aparece el menú Resultados (Results).
2. En el menú Resultados (Results), pulse el botón **VER RESULTADOS (VIEW RESULTS)**. Aparece el espacio de trabajo **Ver resultados (View Results)** con los resultados de la prueba.

3. Haga clic en el botón **INFORME (REPORT)** para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

14 Control de calidad

Cada prueba incluye un control de adecuación del volumen de la muestra (SVA), un control de procesamiento de muestras (SPC) y un control de comprobación de la sonda (PCC).

- **Adecuación del volumen de la muestra (SVA):** Confirma que la muestra se añadió correctamente al cartucho. El SVA verifica que se ha añadido el volumen correcto de muestra en la cámara de la muestra. El SVA se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados. Si el SVA no se supera, se mostrará un ERROR 2096 si no hay muestra o un ERROR 2097 si no hay suficiente muestra. El sistema no dejará que el usuario reanude la prueba.
- **Control de procesamiento de muestras (SPC):** Confirma que la muestra se procesó correctamente. El SPC es un Armored RNA® en forma de microesfera seca que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de los virus de la muestra. El SPC verifica que se haya producido la lisis del HIV-1 si el microorganismo está presente y comprueba que el procesamiento de la muestra haya sido correcto. Además, este control detecta la inhibición asociada a las muestras de la reacción RT-PCR. El SPC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control de comprobación de la sonda (PCC):** Antes de iniciar la reacción PCR, el ensayo GeneXpert Instrument System mide la señal de fluorescencia de las sondas para comprobar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. El PCC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Controles externos:** Los controles externos deben utilizarse de acuerdo con los requisitos de las organizaciones de acreditación locales, estatales/provinciales y nacionales, según corresponda.

15 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpreta automáticamente los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra claramente en la ventana **Ver resultados (View Results)** (consulte la Figura 5 y la Figura 6). Los resultados posibles se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resultados e interpretaciones del ensayo HIV-1 Qual

Resultado	Interpretación
HIV-1 DETECTADO (HIV-1 DETECTED) Consulte la Figura 5.	Se han detectado los ácidos nucleicos diana del HIV-1. <ul style="list-style-type: none"> Los ácidos nucleicos diana del HIV-1 tienen un Ct dentro del rango válido. SPC: N/A (NA) (no aplicable); el SPC se omite porque se ha producido la amplificación de la diana del HIV-1. Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
HIV-1 NO DETECTADO (HIV-1 NOT DETECTED) Consulte la Figura 6.	No se han detectado los ácidos nucleicos diana del HIV-1. El SPC satisface los criterios de aceptación. <ul style="list-style-type: none"> SPC: SUPERADO (PASS); el SPC tiene un valor de Ct dentro del rango válido. Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID)	No puede determinarse la presencia o ausencia de los ácidos nucleicos diana del HIV-1. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 16.2. <ul style="list-style-type: none"> SPC: NO SUPERADO (FAIL); el Ct del SPC no está dentro del rango válido. Comprobación de la sonda: SUPERADO (PASS); todos los resultados de la comprobación de la sonda superan la comprobación.
ERROR	No puede determinarse la presencia o ausencia de los ácidos nucleicos diana del HIV-1. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 16.2. <ul style="list-style-type: none"> HIV-1: SIN RESULTADO (NO RESULT) SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) Comprobación de la sonda^aNO SUPERADO (FAIL); todos o uno de los resultados de la comprobación de la sonda no superan la comprobación.
SIN RESULTADO (NO RESULT)	No puede determinarse la presencia o ausencia de los ácidos nucleicos diana del HIV-1. Repita la prueba siguiendo las instrucciones del Apartado 16.2. SIN RESULTADO (NO RESULT) indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso. <ul style="list-style-type: none"> HIV-1: SIN RESULTADO (NO RESULT) SPC: SIN RESULTADO (NO RESULT) Comprobación de la sonda: N/A (NA) (no aplicable).

^a Si la comprobación de la sonda se superó, el error se debe a que el límite máximo de presión excedió el rango aceptable o a que falló un componente del sistema.

Nota

Las capturas de pantalla del ensayo son solo para ejemplo. El nombre del ensayo y el número de versión pueden variar respecto a las capturas de pantalla mostradas en estas instrucciones de uso. En las leyendas de la Figura 5 y la Figura 6, QC1 y QC2 son un control de la presencia de las sondas (consulte Control de comprobación de la sonda en el apartado 14, Control de calidad); no se generan curvas de amplificación.

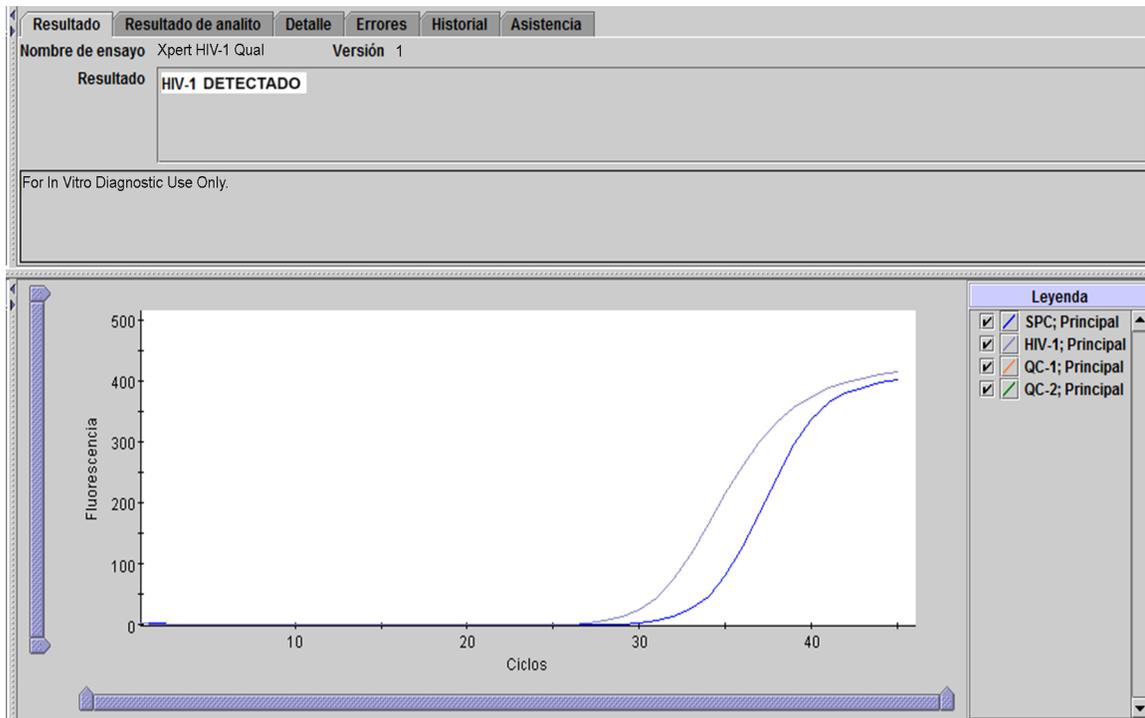


Figura 5. HIV-1 Detectado (HIV-1 Detected)

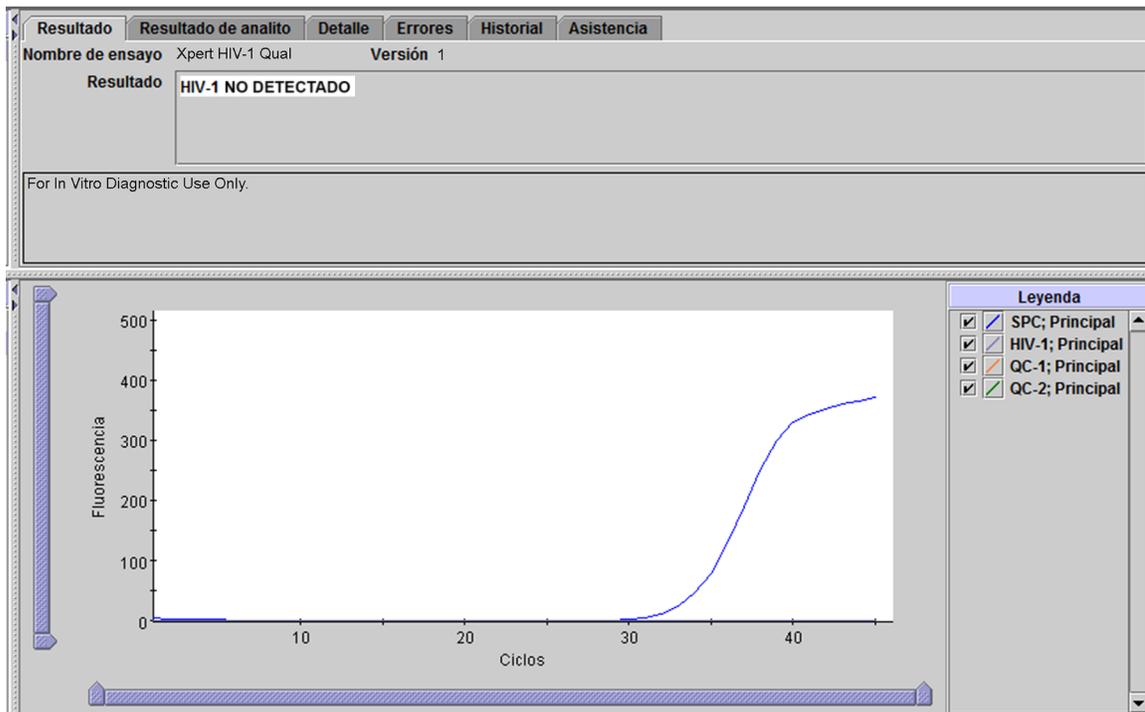


Figura 6. HIV-1 No detectado (HIV-1 Not Detected)

16 Repetición de la prueba

16.1 Razones para repetir la prueba

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del Apartado 16.2.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica una o más de las siguientes causas:
 - El SPC de control falló.
 - La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.
- Un resultado de **ERROR** indica que el ensayo se canceló. Las causas posibles incluyen: se añadió un volumen insuficiente de muestra, el tubo de reacción no se llenó correctamente, se detectó un problema de integridad en la sonda del reactivo o se excedió el límite máximo de presión.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, el operador detuvo una prueba que estaba en curso o se produjo una interrupción del suministro eléctrico.

16.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para repetir la prueba de un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)**, **ERROR** o **SIN RESULTADO (NO RESULT)**, utilice un nuevo cartucho (no vuelva a utilizar el mismo cartucho) y nuevos reactivos.

1. Saque un cartucho nuevo del kit.
2. Consulte el Apartado 12, incluido el apartado Apartado 12.1 y uno de los siguientes:
 - Para el GeneXpert Dx System, consulte el Apartado 13.1.
 - Para el GeneXpert Infinity System, consulte el Apartado 13.2.

17 Limitaciones

- Para evitar la contaminación de los reactivos, se recomienda seguir las buenas prácticas de laboratorio y cambiarse los guantes entre manipulaciones de muestras.
- Las mutaciones infrecuentes que tienen lugar en el interior de la región diana del ensayo HIV-1 Qual pueden afectar a la unión de los cebadores y las sondas, lo que impide detectar el virus.
- Un resultado negativo de la prueba no excluye la infección por HIV-1. Los resultados del ensayo HIV-1 Qual deben interpretarse junto con la presentación clínica y otros marcadores de laboratorio.
- La prueba Xpert HIV-1 Qual se ha validado solamente para su uso con EDTA K2. El uso de esta prueba para analizar otros tipos de muestras puede dar lugar a resultados inexactos.
- Los pacientes que han recibido tratamiento CAR-T pueden mostrar resultados positivos con Xpert (HIV-1 Qual XC, HIV-1 VL, etc.) como resultado de la presencia de la diana LTR presente en determinados productos de linfocitos T con receptor de antígeno quimérico (CAR-T). Deben realizarse otras pruebas de confirmación para determinar el estado de VIH del paciente en personas que han recibido tratamiento CAR-T.

18 Eficacia diagnóstica

18.1 Límite de detección

El límite de detección (LD) del ensayo HIV-1 Qual se determinó en procedimientos realizados tanto con sangre total como con sangre seca en papel, analizando dos patrones de referencia diferentes de HIV-1 de subtipo B, que incluyeron el material de referencia del Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) del AIDS Clinical Trials Group y el tercer patrón internacional de la OMS, código NIBSC 10/152 diluidos en sangre total con EDTA negativa para HIV-1. Las pruebas se realizaron con tres series de diluciones, analizadas cada una de ellas con un lote de reactivos exclusivo por dos operadores y durante tres días. Se analizó un total de 72 réplicas por nivel. La evaluación se realizó de acuerdo con la directriz E17-A2 del CLSI.22 Se utilizó un análisis de regresión Probit para determinar la concentración de ARN de HIV-1 que puede detectarse con una tasa de positividad de más del 95 %. Los resultados combinados de los tres lotes analizados con muestras en sangre total y en sangre seca se presentan en la Tabla 2 y la Tabla 3.

Tabla 2. Límite de detección en sangre total del ensayo HIV-1 Qual utilizando regresión Probit^a

	Concentración nominal (copias/ml)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Tasa de positividad (%)	LD con probabilidad del 95 % calculado mediante Probit (intervalo de confianza del 95 %)
VQA	200	72	66	92	203 copias/ml (IC del 95 %: 181-225 copias/ml)
	150	72	55	76	
	100	71	45	63	
	75	72	35	49	
	50	72	34	47	
	25	72	12	17	
	0	72	0	0	
OMS	420	72	72	100	278 copias/ml (IC del 95 %: 253-304 copias/ml)
	300	72	66	92	
	240	72	62	86	
	180	72	57	79	
	120	71	47	66	
	60	72	18	25	
	30	72	13	18	
	0	72	0	0	

^a Factor de conversión utilizado: 1 copia = 1,72 UI

Tabla 3. Límite de detección en sangre seca del ensayo HIV-1 Qual utilizando regresión Probit^a

	Concentración nominal (copias/ml)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Tasa de positividad (%)	LD con probabilidad del 95 % calculado mediante Probit (intervalo de confianza del 95 %)
VQA	800	72	72	100	531 copias/ml (IC del 95 %: 474-587 copias/ml)
	600	71	64	90	
	400	72	64	89	
	200	72	43	60	
	100	72	23	32	
	50	72	4	6	
	0	72	0	0	
OMS	1000	72	71	99	668 copias/ml (IC del 95 %: 593-742 copias/ml)
	750	72	69	96	
	500	72	60	83	
	250	72	43	60	
	125	72	22	31	

	Concentración nominal (copias/ml)	N.º de réplicas	N.º de positivos	Tasa de positividad (%)	LD con probabilidad del 95 % calculado mediante Probit (intervalo de confianza del 95 %)
	75	72	12	17	
	0	72	0	0	

18.2 Precisión

La precisión del ensayo HIV-1 Qual se determinó en muestras tanto de sangre total como de sangre seca utilizando cuatro grupos de diluciones seriadas, cada uno de ellos con dos patrones de referencia diferentes de HIV-1 de subtipo B: el material de referencia del Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) del AIDS Clinical Trials Group y el tercer patrón internacional de la OMS, código NIBSC 10/152. Cada grupo se preparó añadiendo el patrón de referencia a sangre total con EDTA negativa para HIV-1. Cada grupo contenía un miembro del grupo de sangre total o sangre seca negativas para HIV-1. Las sangres secas se prepararon aplicando la sangre total a la que se había añadido material de referencia en las tarjetas de papel filtro con 65 µL y secándolas antes del análisis. Los grupos de sangre total y sangre seca se analizaron mediante el procedimiento del ensayo HIV-1 Qual. Dos operadores analizaron cada miembro del grupo en réplicas de cuatro, durante nueve días. Se utilizaron tres lotes de kits diferentes.

Los datos se analizaron calculando la tasa porcentual de aciertos de cada miembro del grupo por cada lote de kits y por tipo de muestra. El ensayo HIV-1 Qual muestra una eficacia diagnóstica uniforme en el LD y por encima de este con muestras tanto de sangre total como de sangre seca, como indican los valores $p > 0,05$ utilizando el estadístico χ^2 al cuadrado. Consulte la Tabla 4 y la Tabla 5.

Tabla 4. Precisión del ensayo HIV-1 Qual con muestras de sangre seca

Sangre seca: patrón de referencia del VQA				
Concentración nominal de ARN de HIV-1 (copias/ml)	Tasa de aciertos (%) (N.º de pos/N.º de réplicas)			Valor p
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
800	100	100	100	1,00
	(24/24)	(24/24)	(24/24)	
600	92	96	83	0,35
	(22/24)	(22/23)	(20/24)	
400	92	83	92	0,57
	(22/24)	(20/24)	(22/24)	
Sangre seca: patrón de referencia de la OMS				
Concentración nominal de ARN de HIV-1 (copias/ml)	Tasa de aciertos (%) (N.º de pos/N.º de réplicas)			Valor p
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
1000	100	96	100	0,36
	(24/24)	(23/24)	(24/24)	
750	92	96	100	0,35
	(22/24)	(23/24)	(24/24)	
500	88	71	92	0,12
	(21/24)	(17/24)	(22/24)	

Tabla 5. Precisión del ensayo HIV-1 Qual con muestras de sangre total

Sangre total: patrón de referencia del VQA				
Concentración nominal de ARN de HIV-1 (copias/ml)	Tasa de aciertos (%) (N.º de pos/N.º de réplicas)			Valor p
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
200	88	96	92	0,58
	(21/24)	(23/24)	(22/24)	
150	88	79	63	0,12
	(21/24)	(19/24)	(15/24)	
Sangre total: patrón de referencia de la OMS				
Sangre total: patrón de referencia del VQA				
Concentración nominal de ARN de HIV-1 (copias/ml)	Tasa de aciertos (%) (N.º de pos/N.º de réplicas)			Valor p
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
Concentración nominal de ARN de HIV-1 (copias/ml)	Tasa de aciertos (%) (N.º de pos/N.º de réplicas)			Valor p
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
420	100	100	100	1,00
	(24/24)	(24/24)	(24/24)	
300	92	100	83	0,11
	(22/24)	(24/24)	(20/24)	
240	79	83	96	0,22
	(19/24)	(20/24)	(23/24)	

18.3 Intervalo lineal

La linealidad del ensayo HIV-1 Qual se determinó en procedimientos tanto de sangre total como de sangre seca analizando un grupo de cinco miembros preparado con diluciones seriadas de ARN de HIV-1 de subtipo B en sangre total negativa para HIV-1. Las concentraciones de HIV-1 fueron de 1×10^3 a 1×10^7 copias/ml en el caso de la sangre total y de $2,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^7$ copias/ml en el caso de la sangre seca; cada miembro del grupo se analizó en réplicas de seis utilizando un lote de reactivos. El material de referencia utilizado fue el control de HIV-1 Acrometrix. Los resultados obtenidos con sangre total y sangre seca se presentan en la Figura 7 y la Figura 8, respectivamente, y demuestran que el ensayo es lineal dentro de un intervalo de 1×10^3 a 1×10^7 copias/ml con un valor R^2 (que es el producto de una curva estándar) de 0,9931 en el caso de la sangre total y dentro de un intervalo de $2,5 \times 10^3$ a $2,5 \times 10^7$ copias/ml con un valor R^2 de 0,9955 en el caso de la sangre seca.

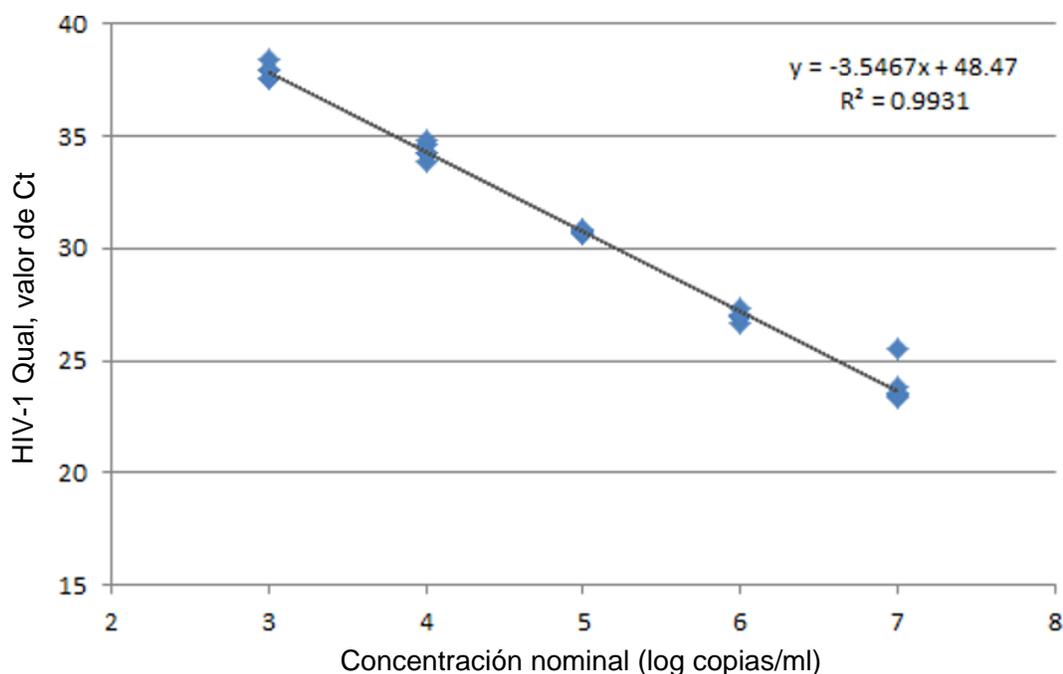


Figura 7. Linealidad del ensayo HIV-1 Qual con sangre total

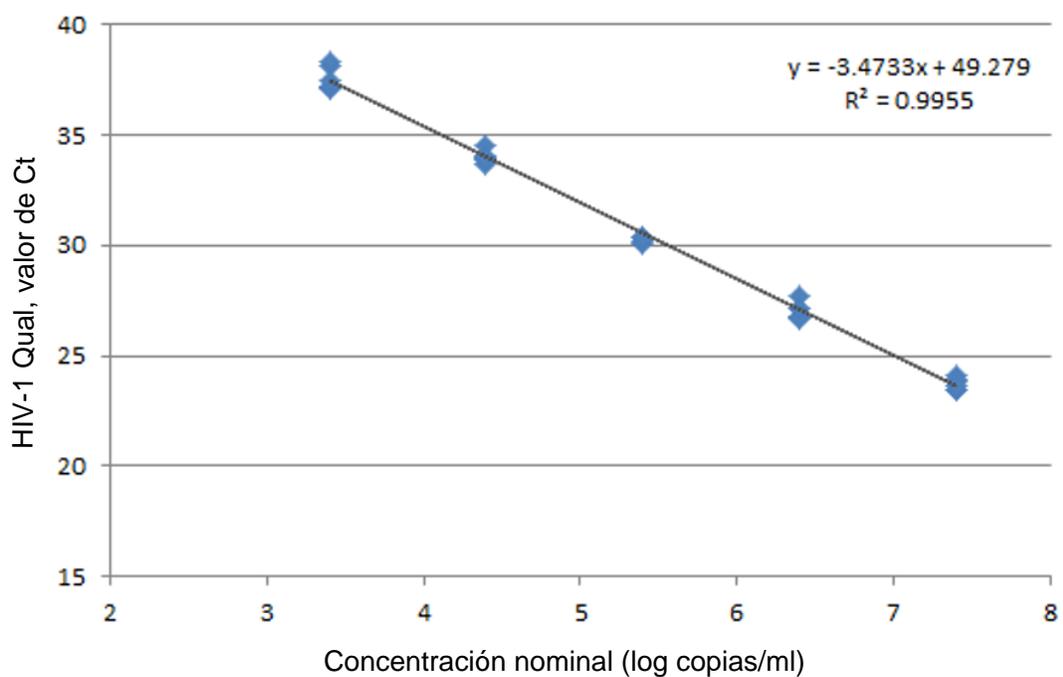


Figura 8. Linealidad del ensayo HIV-1 Qual con sangre seca

18.4 Reactividad analítica (inclusividad)

La reactividad analítica del ensayo HIV-1 Qual se evaluó analizando trece aislados que representaban a los subtipos A, C, D, F, G, H, CRF AG/GH, A/E y A/B del grupo M, al grupo N y al grupo O del HIV-1. La asignación de las concentraciones nominales del cultivo madre se realizó mediante el ensayo Abbott HIV-1 RealTime RT-PCR (un ensayo basado en la reacción en cadena de la polimerasa). Se obtuvieron series de diluciones que incluían al menos seis niveles de sobrenadantes de cultivos celulares en sangre total con EDTA negativa para HIV-1, tras lo que se determinó el límite de detección (LD).

Cada nivel se analizó en réplicas de veinte usando dos lotes de reactivos y el procedimiento de sangre total. Se utilizó un análisis de regresión Probit para determinar la concentración de ARN de HIV-1 que puede detectarse con una tasa de positividad superior al 95 % para cada aislado. El LD determinado se verificó con el mismo aislado en réplicas de veinte empleando un tercer lote de reactivos exclusivo y con un segundo aislado del mismo grupo/subtipo en réplicas de veinte empleando un lote de reactivos. Se realizó una verificación adicional con un aislado en réplicas de 10-20 empleando un lote de reactivos y el procedimiento de sangre seca y el nivel de LD de sangre seca calculado. Los resultados de LD y de las verificaciones con el procedimiento de sangre total y sangre seca se resumen en la Tabla 6 y muestran que el ensayo HIV-1 Qual detecta ARN de HIV-1 de trece grupos/subtipos diferentes a concentraciones de 680 copias/ml (o inferiores) en el caso de la sangre total y de 1400 copias/ml (o inferiores) en el caso de la sangre seca, con una tasa de positividad del 95 %.

Tabla 6. Reactividad analítica (inclusividad) del ensayo HIV-1 Qual

Grupo/ subtipo	LD en sangre total, 2 lotes de reactivos			Verificación del LD en sangre total, tercer lote de reactivos exclusivo (680 copias/ml)	Verificación del LD con el segundo aislado en sangre total, 1 lote de reactivos (680 copias/ml)		Verificación del reconocimiento con sangre seca, 1 lote de reactivos (1400 copias/ml)	
	Designación del aislado	LD (copias/ml)	IC del 95%	Tasa de positividad (%) (n=20)	Designación del aislado	Tasa de positividad (%) (n=20)	Designación del aislado	Tasa de positividad (%) (n=10-20)
Subtipo A del grupo M	92UG029	553	427-678	100	UG275	100	92UG029	100
Subtipo C del grupo M	98TZ017	159	117-201	100	92BR025	100	92BR025	100
Subtipo D del grupo M	94UG114	379	286-471	100	92UG035	100	92UG035	100
Subtipo F del grupo M	93BR020	262	204-320	100	BZ126	100	93BR020	100
Subtipo G del grupo M	RU570	345	267-423	100	BCF-DIOUM	100	RU570	100
Subtipo H del grupo M	VI557	171	139-237	100	BCF-KITA	100	V1557	100
Subtipo J del grupo M	Muestra clínica	438	348-527	100	Muestra clínica	100	Muestra clínica	100
Subtipo K del grupo M	WWRB305-16	550	433-667	100	NA	ND	WWRB305-16	94,4
Subtipo CRF A/ B del grupo M	WWRB305-11	208	153-263	100	WWRB305-12	100	WWRB305-11	100
Subtipo CRF A/ E del grupo M	92TH001	228	172-285	100	92TH022	95,0	92TH022	100
Subtipo CRF AG/ GH del grupo M	V1525	501	399-603	100	01CM.0008 BBY (A-G)	100	01CM.0008 BBY	100

Grupo/ subtipo	LD en sangre total, 2 lotes de reactivos			Verificación del LD en sangre total, tercer lote de reactivos exclusivo (680 copias/ml)	Verificación del LD con el segundo aislado en sangre total, 1 lote de reactivos (680 copias/ml)	Verificación del reconocimiento con sangre seca, 1 lote de reactivos (1400 copias/ml)		
	Designación del aislado	LD (copias/ml)	IC del 95%	Tasa de positividad (%) (n=20)	Designación del aislado	Tasa de positividad (%) (n=20)	Designación del aislado	Tasa de positividad (%) (n=10-20)
Grupo N	YBF30	232	187-277	100	N1FR2011	100	YBF30	100
Grupo O	MVP5180	189	145-234	100	CA-9	100	MVP5180	100

18.5 Especificidad analítica (exclusividad)

La especificidad analítica del ensayo HIV-1 Qual se evaluó añadiendo microorganismos cultivados con una concentración de 5×10^3 partículas o copias/ml en sangre total con EDTA negativa para HIV-1 y en sangre total con EDTA positiva para HIV-1 en material de referencia del HIV-1 (subtipo B) con una concentración de 900 copias/ml. Los microorganismos se analizaron utilizando el procedimiento de sangre total. Los microorganismos analizados se indican en la Tabla 7. Ninguno de los microorganismos analizados mostró reactividad cruzada ni interfirió en la detección del HIV-1.

Tabla 7. Microorganismos de especificidad analítica

<i>Candida albicans</i>
Citomegalovirus
Virus de Epstein-Barr
Virus de la hepatitis A
Virus de la hepatitis B
Virus de la hepatitis C
Virus herpes simple 1
Virus herpes simple 2
Virus herpes humano 6
Virus de inmunodeficiencia humana 2
Virus linfotrópico humano de células T tipo 1
Virus linfotrópico humano de células T tipo 2
Gripe A
<i>Staphylococcus aureus</i>

18.6 Sustancias potencialmente interferentes

Se evaluó la sensibilidad del ensayo HIV-1 Qual a las interferencias producidas por niveles elevados de sustancias endógenas y marcadores de enfermedades autoinmunitarias. Para las sustancias endógenas se analizó sangre total con EDTA negativa para HIV-1 y material de referencia de HIV-1 de sangre total con EDTA positiva para HIV-1 (subtipo B) con una concentración de 2000 copias/ml a los que se le añadieron las sustancias.

Las muestras positivas y negativas para HIV-1 con sustancias endógenas se prepararon como sangre seca y se procedió a analizarlas. Se observó que las altas concentraciones de las sustancias endógenas indicadas en la Tabla 8 no afectaron a la especificidad de ensayo ni interfirieron en la detección del HIV-1.

Tabla 8. Sustancias endógenas y concentración analizada

Sustancia	Concentración analizada
Albúmina (BSA)	90 mg/ml
Bilirrubina	0,2 mg/ml
Hemoglobina	5 mg/ml
ADN humano	4 µg/ml
Triglicéridos	30 mg/ml

El análisis de muestras de plasma de cinco personas por marcador de enfermedad autoinmunitaria con y sin la adición de material de referencia del HIV-1 (subtipo B) con una concentración de 900 copias/ml se llevó a cabo empleando el procedimiento de sangre total. Se observó que los marcadores de las enfermedades autoinmunitarias lupus eritematoso sistémico (SLE), anticuerpos antinucleares (ANA) o factor reumatoide (RF) no causaron interferencias en el ensayo HIV-1 Qual.

18.7 Sensibilidad de la seroconversión

La sensibilidad diagnóstica del ensayo HIV-1 Qual se evaluó analizando muestras de plasma secuenciales de quince grupos de seroconversión utilizando el procedimiento de sangre total. Se ha probado la equivalencia de la sangre total y el plasma como matriz de muestra (consulte el Apartado 18.8). El ensayo HIV-1 Qual detectó ARN de HIV-1 en 52 del número total de 79 muestras en comparación con 10 de 79 detectadas por una prueba de anticuerpos contra el HIV-1 (Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott DiaSorin Murex HIV 1.2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA o Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur). Anteriormente se había generado un resultado positivo para HIV-1 en el ensayo HIV-1 Qual en todos los quince grupos en comparación con el cribado de anticuerpos contra el HIV-1. Además, la primera respuesta positiva para HIV-1 se produjo antes en doce de los quince paneles con el ensayo HIV-1 Qual en comparación con las pruebas del antígeno p24 (Abbott, Coulter HIV-1 p24 Antigen, Innogenetics RL29 o Perkin Elmer Alliance HIV-1 p24 ELISA). La sensibilidad de la seroconversión se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9. Sensibilidad de la seroconversión del ensayo HIV-1 Qual

Código de parte del grupo antiguo	Número de miembros	Días abarcados	N.º de miembros del grupo reactivos		Días hasta el primer resultado reactivo		Días entre el primer resultado reactivo con HIV-1 Qual y cualquier prueba de AB ^a
			HIV-1 Qual	Prueba de anticuerpos (AB) ^a	HIV-1 Qual	Prueba de anticuerpos (AB) ^a	
PRB946-00-1.0	4	11	3	0	4	11 ^b	7
PRB948-00-1.0	4	23	2	0	20	23 ^c	3
PRB950-00-1.0	4	28	3	1	18	28	10
PRB955-1.0	5	14	5	2	0 ^c	12	12
PRB956-1.0	5	50	4	1	40	50	10
PRB962-1.0	6	17	4	0	7	17 ^b	10
PRB963-1.0	7	21	3	0	14	21 ^b	7
PRB964-1.0	6	22	3	0	15	22 ^b	7
PRB966-1.0	10	51	5	2	35	48	13

Código de parte del grupo antiguo	Número de miembros	Días abarcados	N.º de miembros del grupo reactivos		Días hasta el primer resultado reactivo		Días entre el primer resultado reactivo con HIV-1 Qual y cualquier prueba de AB ^a
			HIV-1 Qual	Prueba de anticuerpos (AB) ^a	HIV-1 Qual	Prueba de anticuerpos (AB) ^a	
PRB973-1.0	4	11	4	1	0 ^c	11	11
PRB974-1.2	4	16	3	1	7	16	9
PRB975-1.0	5	14	3	0	7	14 ^b	14
PRB976-1.2	4	9	4	0	0 ^c	9 ^b	9
PRB977-1.0	4	15	3	2	2	13	11
PRB978-1.0	7	33	3	0	26	33 ^b	7
Total	79		52	10			

^a Pruebas de anticuerpos, según los datos del proveedor: Abbott HIV 1/2 EIA, Abbott PRISM HIV-1/2, Abbott Murex HIV 1,2.O HIV, Bio-Rad GS HIV-1/HIV-2 Plus O EIA, Siemens HIV 1/O/2 Enhanced ADVIA Centaur

^b Todas las muestras de sangre fueron no reactivas para los anticuerpos del HIV-1 (según la información del proveedor). El último día de muestras se utiliza como «Días hasta el primer resultado reactivo».

^c Todas las muestras de sangre se detectaron con el ensayo HIV-1 Qual.

18.8 Equivalencia de los tipos de muestra (sangre total y plasma)

Los análisis de dieciséis personas negativas para HIV-1 con el ensayo HIV-1 Qual demostraron que la equivalencia de la eficacia diagnóstica del ensayo con los dos tipos de muestra, sangre total con EDTA y plasma con EDTA. Cada muestra se dividió y se preparó en una alícuota de plasma y una alícuota de sangre total. Se añadió a ambas alícuotas ARN de HIV-1 con una concentración de 700 copias/ml. Las alícuotas se analizaron lado a lado utilizando el protocolo de sangre total. Se demostró la equivalencia de la eficacia diagnóstica lograda con los dos tipos de muestra.

19 Eficacia clínica

La eficacia diagnóstica del ensayo HIV-1 Qual se evaluó en dos centros de África.

Los sujetos incluyeron personas cuya atención médica ordinaria exigía la toma de muestras de sangre total o sangre seca para realizar pruebas de HIV-1. En el caso de los sujetos que reunían los requisitos de participación, se obtuvieron alícuotas de muestras sobrantes para analizarlas con el ensayo HIV-1 Qual y las pruebas comparativas. El tratamiento de los pacientes continuó en el centro siguiendo la práctica habitual, independientemente de los resultados de la prueba experimental.

La eficacia diagnóstica del ensayo HIV-1 Qual se comparó con la de un ensayo comparativo con marcado CE. El ensayo comparativo estaba validado para la sangre seca, pero no para la sangre total, por lo que los resultados del ensayo de sangre total HIV-1 Qual se compararon con los resultados de sangre seca del método comparativo. Las muestras que dieron resultados discrepantes en el ensayo HIV-1 Qual y en el ensayo comparativo se volvieron a analizar con el ensayo HIV-1 Qual y con el ensayo comparativo; estos datos se proporcionan solo con fines informativos.

19.1 Resultados de las muestras de sangre total

Se analizó un total de 106 muestras de sangre total para detectar la presencia de HIV-1 con el ensayo HIV-1 Qual y el ensayo comparativo. El ensayo HIV-1 Qual demostró un porcentaje de concordancia de positivos (PCP) del 98,2 % (IC del 95 %: 90,3-100) y un porcentaje de concordancia de negativos (PCN) del 98,0 % (IC del 95%: 89,6-100) en sangre total con respecto al ensayo comparativo. Los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Rendimiento del ensayo HIV-1 Qual frente al ensayo comparativo: muestras de sangre total

		Ensayo comparativo del HIV-1 Qual: sangre seca		
		POS	NEG	Total
HIV-1 Qual: sangre total	POS	54	1 ^a	55
	NEG	1 ^b	50	51
	Total	55	51	106
		PCP:	98,2 % (IC del 95%: 90,3-100)	
		PCN:	98,0 % (IC del 95%: 89,6-100)	

^a Tras repetir la prueba, la muestra fue POS en el Xpert y POS en el comparativo

^b Tras repetir la prueba, la muestra fue NEG en el Xpert y POS en el comparativo

19.2 Resultados de las muestras de sangre seca

Se analizó un total de 399 muestras de sangre seca para detectar la presencia de HIV-1 con el ensayo HIV-1 Qual y el ensayo comparativo. El ensayo HIV-1 Qual demostró una sensibilidad con un PCP del 95,6 % (IC del 95 %: 91,8-98,0) y una especificidad con un PCN del 98,5 % (IC del 95%: 95,6-99,7) en sangre seca con respecto al ensayo comparativo. Los resultados se muestran en la Tabla 11.

19.3 Especificidad en donantes de sangre adultos seronegativos para el HIV

Tabla 11. Eficacia diagnóstica del ensayo HIV-1 Qual frente al ensayo comparativo: muestras de sangre total

		Ensayo comparativo del HIV-1 Qual: sangre seca		
		POS	NEG	Total
Ensayo HIV-1 Qual	POS	194	3 ^a	197
	NEG	9 ^b	193	202
	Total	203	196	399
		PCP:	95,6 % (IC del 95 %: 91,8-98)	
		PCN:	98,5 % (IC del 95 %: 95,6-99,7)	

^a Tras repetir la prueba, 1 de 3 muestras dio NEG en el Xpert y NEG en el ensayo comparativo, y 2 de 3 muestras dieron POS en el Xpert y POS en el ensayo comparativo.

^b Tras repetir la prueba, 5 de 9 muestras dieron POS en el Xpert y POS en el ensayo comparativo, 3 de 9 muestras dieron NEG en el Xpert y POS en el ensayo comparativo, y 1 de 9 muestras dio NEG en el Xpert y NEG en el ensayo comparativo.

La sangre total recogida en EDTA se obtuvo de 1017 donantes de sangre en dos centros de Estados Unidos. Se determinó que las muestras eran negativas para HIV-1 mediante métodos de anticuerpos y ácidos nucleicos de banco de sangre estándar con licencia de la FDA. De las 1017 muestras, 503 se prepararon como sangre seca y 514 se analizaron como sangre total utilizando el ensayo HIV-1 Qual. Una muestra de sangre seca y dos de sangre total fueron indeterminadas tanto en la prueba inicial como en la repetición de la prueba, por lo que se excluyeron del cálculo de la especificidad. La especificidad del ensayo fue del 100 % (1014/1014), IC del 95 %: 99,6-100,0).

19.4 Índice de éxito del ensayo

El 97,0 % (1483/1529) de las muestras aptas procesadas con el ensayo HIV-1 Qual dieron resultados satisfactorios en el primer intento. Las 46 restantes dieron resultados indeterminados en el primer intento. De los 46 casos indeterminados, 36 dieron resultados válidos al repetir el ensayo; tres fueron indeterminados al repetir la prueba y siete de los casos indeterminados no se repitieron debido a un volumen restante insuficiente. El índice de éxito general del ensayo fue del 99,3 % (1519/1529).

20 Bibliografía

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868–871.
2. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497–500.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-1) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500–503.
4. Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610–616.
5. Schochetman G, George JR, editors. *AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues*. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
6. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association* 2000;283:1167–1174.
7. Aids.gov. Aids Signs and Symptoms. Consultado en mayo de 2015. <https://www.aids.gov/hiv-aids-basics/hiv-aids-101/signs-and-symptoms/>.
8. O'Brien M, et al. Should we treat acute HIV infection? *Curr HIV/AIDS Rep.* 2012 Jun;9(2):101-10.
9. Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* 1991;324:961–964.
10. Clark SJ, Saag MS, Decker WD. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* 1991;324:954–960.
11. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). The Gap Report. (Original en inglés, julio de 2014, actualizado en septiembre de 2014). <http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/2014gapreport>. Acceso el 3 de febrero de 2015.
12. Hankins C. Overview of the Current State of the Epidemic. *Current HIV/AIDS Reports* 2013;10(2):113–123.
13. Shetty AK. Epidemiology of HIV Infection in Women and Children: A Global Perspective. *Current HIV Research* 2013;11(2):81–92.
14. Sherman GG, Cooper PA, Coovadia AH, et al. Polymerase chain reaction for diagnosis of human immunodeficiency virus infection in infancy in low resource settings. *Pediatric Infectious Disease Journal* 2005;24(11):993–997.
15. Sherman GG, Matsebula TC, Jones SA. Is early HIV testing of infants in poorly resourced prevention of mother to child transmission programmes unaffordable? *Tropical Medicine & International Health* 2005;10(11):1108–1113.
16. Read JS. Committee on Pediatric AIDS, American Academy of Pediatrics. Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 2007;120:e1547–1562.
17. Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, et al. International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection. *Lancet* 2007;370:68–80.
18. World Health Organization. *Antiretroviral therapy for HIV infection in infants and children: towards universal access, recommendations for a public health approach (Tratamiento con antirretrovirales para la infección por el HIV en lactantes y niños: hacia un acceso universal, recomendaciones para un abordaje de salud pública)*. Geneva: World Health Organization; 2006.
19. Global AIDS Alliance. *Scaling up access to early infant diagnostics: accelerating progress through public-private partnerships*. Washington DC: Global AIDS Alliance; 2008.
20. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories*. Chosewood LC, Wilson, DE (eds.) 2009; HHS Publication No. (CDC) 21-1112.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline*. Document M29 (consultar la última edición).
22. CLSI. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition. Documento EP17-A2 del CLSI. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards; 2012.
23. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre la clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE (que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006).

24. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de marzo de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21 Oficinas centrales de Cepheid

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

22 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con nosotros

Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador

Servicio técnico en los Estados Unidos

Teléfono: + 1 888 838 3222 Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

Servicio técnico en Francia

Teléfono: + 33 563 825 319 Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio web: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

23 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Marca CE – Conformidad europea

Símbolo	Significado
	No volver a utilizar
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene una cantidad suficiente para n pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Precaución
	Representante autorizado en Suiza
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



24 Historial de revisiones

Descripción de los cambios: 301-3048-ES, Rev. K a Rev. L

Apartado	Descripción del cambio
11, 12.1, 17	Se ha especificado K2 para los tubos de recogida con EDTA.
13	Procedimientos separados para el GeneXpert Dx System y el GeneXpert Infinity System.
24	Se ha añadido el apartado de Historial de revisiones.