

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*
Pouze k vývozu z USA

Obecné informace	3
Určené použití	3
Shrnutí a vysvětlení testu	3
Principy postupu	4
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci	5
Varování a bezpečnostní opatření	5
Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi	9
Odběr a skladování vzorků	10
Vzorky v systému Panther	13
Přeprava klinických vzorků	13
Systém Panther	14
Reagencie a dodávané materiály	14
Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně	16
Volitelné materiály	17
Postup testu na systému Panther	17
Poznámky k postupu	21
Kontrola kvality	23
Kalibrace analýzy	23
Negativní a pozitivní kontroly	23
Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola	23
Interpretace výsledků	24
Omezení	26
Analytická funkční způsobilost	27
Limit detekce (LoD) pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO	27
Limit detekce u subtypů a skupin HIV-1	28
Lineární rozsah	29
Linearita u subtypů a skupin HIV-1	30
Stanovení spodního limitu kvantifikace pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO	31
Ověření LLoQ u subtypů a skupin HIV-1	32
Preciznost	33
Potenciálně interferující endogenní a exogenní látky	34
Funkce s HIV-1 negativními vzorky	36
Potenciálně interferující mikrobiální kontaminanty	36
Opakovatelnost klinických vzorků	38
Ředění vzorků pomocí roztoku k ředění vzorků	39
Přenos	39
Panel sérokonverze	40
Studie ekvivalence séra, plazmy	41
Studie reprodukovatelnosti	41

Klinická funkčnost	44
Validace kvantifikace virové nálože	44
Studie klinické specifity	45
Studie klinické citlivosti	45
Pozitivita u sérodiskordantních vzorků	46
Literatura	47
Kontaktní údaje a historie revizí	49

Obecné informace

Určené použití

Analýza Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay představuje in vitro test na bázi amplifikace nukleových kyselin k detekci a kvantifikaci skupin M, N a O RNA lidského viru imunodeficiency typu 1 (HIV-1) na plně automatizovaném systému Panther™. Slouží k použití jako pomůcka při diagnostice infekce HIV-1, jako potvrzení infekce HIV-1 a jako pomůcka při klinické léčbě pacientů infikovaných virem HIV-1.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx lze použít jako pomůcku při diagnostice infekce HIV-1, včetně akutní nebo primární infekce. Přítomnost RNA HIV-1 v plazmě nebo séru pacientů bez protilátek vůči HIV-1 svědčí o akutní nebo primární infekci HIV-1. Analýzu Aptima HIV-1 Quant Dx Assay lze použít jako doplňkový test na vzorky s opakovaně reaktivními výsledky se schválenými imunoanalýzami HIV. Pokud je vzorek reaktivní v analýze Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, je potvrzená infekce HIV-1.

Analýzu Aptima HIV-1 Quant Dx Assay lze také použít v kombinaci s klinickou prezentací a jinými laboratorními markery k prognóze onemocnění u osob infikovaných HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx lze také použít jako pomůcku při sledování vlivu antiretrovirové léčby na základě změn v koncentraci RNA HIV-1 v plazmě.

Při použití testu Aptima HIV-1 Quant Dx jako pomůcky při diagnostice infekce HIV-1 je kvalitativní funkce stanovena ve vzorcích plazmy i séra.* Při použití jako pomůcky ke sledování vlivu antiretrovirové terapie je kvantitativní výkonnost stanovena pouze u vzorků plazmy. Vzorky séra se pro kvantitativní výsledky nesmějí používat.

Tato analýza není určena k použití při screeningu dárců krve nebo plazmy.

**U analýzy Aptima HIV-1 Quant Dx Assay lze použít rovněž vzorky suché kapky krve (DBS). Kompletní popis určeného použití a informací o vzorcích DBS najdete v dodatku pro suchou kapku krve k příbalové informaci testu Aptima HIV-1 Quant Dx.*

Shrnutí a vysvětlení testu

Epidemiologické studie identifikovaly lidský virus imunodeficiency typu 1 (HIV-1) jako etiologické agens syndromu získané imunodeficiency (AIDS) (1-7). HIV lze přenášet sexuálním kontaktem, kontaktem s infikovanou krví či krevními produkty nebo přenosem z matky na dítě (8). Do 3 až 6 týdnů od expozice HIV se u infikovaných osob obecně rozvine rychlý akutní syndrom charakterizovaný příznaky podobnými chřipce, který je spojený s vysokými hladinami viremie v periferní krvi (9-12). U většiny infikovaných jedinců následuje po této rané fázi imunitní odpověď specifická pro HIV a pokles plazmatické viremie, obvykle během 4 až 6 týdnů od rozvoje příznaků (13-14). Po sérokonverzi obvykle vstupují infikované osoby do klinicky stabilní asymptomatické fáze, která může trvat roky (15-17). Asymptomatické období je charakterizováno perzistentní nízkou plazmatickou viremíí (18) a postupnou deplecí CD4+ T lymfocytů. Tato deplece vede k závažné imunodeficienci, vícečetným oportunním infekcím, malignitám a úmrtí (19). I když jsou hladiny viru v periferní krvi během asymptomatické fáze infekce relativně nízké, zdá se, že virová replikace a clearance jsou dynamické procesy, kdy jsou období vysoké produkce viru a infekce CD4+ buněk vyváženy zvýšenou clearance viru, zánikem infikovaných buněk a doplněním CD4+ buněk, což vede k relativně stabilním hladinám plazmatické viremie a CD4+ buněk (20-22).

Kvantitativní měření HIV v periferní krvi prokázala, že vyšší viremie mohou být korelovány se zvýšeným rizikem klinické progresy onemocnění spojeného s HIV, a zjistila, že poklesy plazmatických hladin viru mohou být spojeny se sníženým rizikem klinické progresy (23-25). Hladiny viru v periferní krvi lze kvantifikovat měřením antigenu p24 HIV v séru kvantitativní kultivací HIV z plazmy nebo přímým měřením virové RNA v plazmě pomocí technologií amplifikace nukleových kyselin nebo amplifikace signálu (26-30).

Molekulární techniky, jako je transkripční mediovaná amplifikace (TMA), se často používají k amplifikaci nukleových kyselin (31). Amplifikace TMA používá záchyt specifického cíle a izotermální amplifikaci k detekci nukleových kyselin u více infekčních onemocnění, včetně CT, NG, HPV, TV a HIV/HCV/HBV, při testování dárců krve (32).

Test Aptima HIV-1 Quant Dx přes amplifikaci TMA používá více dlouhých primerů, které jsou zaměřeny na několik oblastí genomu HIV-1 s cílem kompenzovat vysokou míru mutací HIV-1. Test zahrnuje amplifikaci dvou cílů a detekční systémy, které nezávisle cílí na dvě oblasti genomu HIV-1 (pol a LTR). Software testu neprůměruje signály ze dvou testů.

Systém Aptima pro dva cíle je určen ke zvýšení pravděpodobnosti přesné detekce a kvantifikace vzorků.

Principy postupu

Test Aptima HIV-1 Quant Dx zahrnuje tři hlavní kroky, které probíhají v jediné zkumavce v systému Panther: záchyt cíle, transkripční mediovaná amplifikace (TMA) cíle a detekce produktů amplifikace (amplikonů) pomocí fluorescenčně značených sond (indikátory).

Během záchytu cíle jsou ze vzorků izolovány virové nukleové kyseliny. Vzorek je zpracován pomocí detergentu s cílem rozpustit virový obal, denaturovat proteiny a uvolnit virovou genomovou RNA. Zachytávané oligonukleotidy hybridizují do vysoce konzervativních oblastí genomu HIV-1 v testovém vzorku (pokud jsou přítomny). Hybridizovaný cíl je poté zachycen na magnetické mikročástice, které jsou odděleny od vzorku v magnetickém poli. Kroky promývání odstraní z reakční zkumavky nadbytečné složky.

Amplifikace cíle probíhá prostřednictvím TMA, což je metoda transkripční mediované amplifikace nukleové kyseliny využívající dva enzymy, reverzní transkriptázu a RNA polymerázu T7 Moloneyho viru myši leukemie (MMLV). Reverzní transkriptáza slouží k vytvoření kopie DNA (obsahující promotorovou sekvenci RNA polymerázy T7) cílové sekvence. RNA polymeráza T7 vytváří vícečetné kopie amplikonu RNA z templátu kopie DNA. Test Aptima HIV-1 Quant Dx používá metodu TMA k amplifikaci dvou oblastí RNA HIV-1 (pol a LTR). Z amplifikace každé oblasti pomocí specifických primerů, které jsou určeny k amplifikaci skupin HIV-1 M, N a O, je generován nezávislý signál.

Detekce se provádí pomocí indikátorů z jednovláknové nukleové kyseliny, které jsou přítomné během amplifikace každého cíle a v reálném čase specificky hybridizují na amplikony. Každý indikátor obsahuje fluorofor a zhášec. Když není indikátor hybridizován na amplikon, zhášec je v těsné blízkosti fluoroforu a potlačuje fluorescenci. Po navázání indikátoru na amplikon se zhášec posune dále od fluoroforu a po excitaci zdrojem světla začne emitovat signál specifické vlnové délky. Pokud hybridizuje více indikátorů na amplikon, vzniká silnější fluorescenční signál. Čas potřebný k dosažení specifikovaného prahu fluorescenčního signálu každého cíle je poměrný počáteční koncentraci HIV-1. Každá reakce má svůj vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC), které kontrolují možnou variabilitu ve zpracování vzorku, amplifikaci a detekci. Koncentraci vzorku poté vypočte software systému Panther s využitím časů tTime pro amplifikaci pol i LTR. Prostřednictvím svého algoritmu a porovnání s uloženými informacemi o kalibraci software systému Panther vrátí pro každý vzorek jediný klinicky ověřený výsledek.

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci (Summary of Safety and Performance – SSP) je k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde je propojen s příslušnými identifikátory prostředku (Basic UDI-DI). SSP testu Aptima HIV-1 Quant Dx můžete vyhledat pomocí základního jedinečného identifikátoru prostředku (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Test Aptima HIV-1 Quant Dx není určen k použití jako screeningový test na přítomnost HIV-1 v dárcovské krvi.
- D. Před provedením tohoto testu si pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a *příručku obsluhy systému Panther/Panther Fusion™*. Snižte tak riziko výskytu neplatných výsledků.

Související s laboratoří

- E.  **UPOZORNĚNÍ:** Kontroly tohoto testu obsahují lidskou plazmu. Plazma je negativní na povrchový antigen hepatitidy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a antigen HIV při testování pomocí postupů licencovaných Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv v USA. Kromě toho je plazma nereaktivní s RNA HCV a RNA HIV-1 při testování pomocí licencovaných testů na nukleové kyseliny ve složených vzorcích. Všechny materiály pocházející z lidské krve je nutné považovat za potenciálně infekční a je nutné s nimi manipulovat dle univerzálních bezpečnostních opatření (33-35).
- F. Tento test mohou používat pouze pracovníci náležitě vyškolení v používání testu Aptima HIV-1 Quant Dx a v manipulaci s potenciálně infekčními materiály. Pokud dojde k rozliti, ihned proveďte dezinfekci pomocí vhodných postupů daného pracoviště.
- G. Používejte pouze dodané nebo určené jednorázové laboratorní vybavení.
- H. Dodržujte běžná laboratorní bezpečnostní opatření. Nepipetujte ústy. Ve vyhrazených pracovních prostorech nejezte, nepijte ani nekuřte. Při manipulaci se vzorky a reagensiemi soupravy používejte jednorázové nepudrované rukavice, ochranné brýle a laboratorní plášť. Po manipulaci se vzorky a reagensiemi soupravy si pečlivě omyjte ruce.
- I. Pracovní povrchy, pipety a další vybavení pravidelně dekontaminujte 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného.
- J. Všechny materiály, které přišly do kontaktu se vzorky a reagensiemi, zlikvidujte podle místních nařízení (33-36). Pečlivě očistěte a dezinfikujte všechny pracovní povrchy.
- K. Kontroly obsahují azid sodný jako konzervační látku. K přenosu reagensie nepoužívejte kovové trubky. Pokud roztoky obsahující azid sodný likvidujete do kanalizačního systému, je nutné je naředit a spláchnout velkým množstvím tekoucí vody. Tato bezpečnostní opatření by měla zabránit nahromadění látky v kovových trubkách, kde by pak hrozil výbuch.

- L. Zásady správné praxe v molekulárních laboratořích zahrnují sledování prostředí. Při sledování laboratorního prostředí doporučujeme následující postup.
1. Zajistěte si vatovou tyčinku a pár alikvotačních zkumavek na vzorky Aptima® (Specimen Aliquot Tube, SAT).
 2. Každou zkumavku SAT příslušným způsobem označte.
 3. Každou zkumavku SAT naplňte 1 ml roztoku k ředění vzorků Aptima®.
 4. Pokud chcete provést odběr povrchových vzorků, lehce navlhčete tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.
 5. Otřete požadovaný povrch vertikálním pohybem seshora dolů. Otočte tyčinku přibližně o jednu polovinu otočky a zároveň provádějte stěr z místa.
 6. Okamžitě uložte vzorek stěru do zkumavky a jemným otáčením tyčinkou v ředícím roztoku extrahujte případné materiály získané stěrem. Přitiskněte tyčinku ke straně transportní zkumavky s cílem vyextrahovat co nejvíce tekutiny. Zlikvidujte tyčinku a zkumavku uzavřete.
 7. Zopakujte kroky u zbývajících vzorků stěru.
 8. Provedte molekulární analýzu stěru.

Související se vzorky

- M. Vzorky mohou být infekční. Při provádění tohoto testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření (33-35). Zajistěte správné postupy při manipulaci a likvidaci v souladu s místními nařízeními (36). Tento test mohou používat pouze pracovníci náležitě vyškolení v používání testu Aptima HIV-1 Quant Dx a v manipulaci s infekčními materiály.
- N. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, dodržujte při přepravě vzorků řádné skladovací podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- O. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáváním aerosolů při uvolňování nebo otevírání vzorků. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.

Související s testem

- P. Kvantitativní výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx byly hodnoceny pro plazmu. Sérum se nesmí používat pro kvantitativní výsledky. Kvalitativní výsledky byly hodnoceny pro plazmu i sérum. Použití této testovací soupravy s jinými vzorky než specificky schválenými k použití s touto testovací soupravou by mohlo vést k nepřesným výsledkům testu.
- Q. Test Aptima HIV-1 Quant Dx byl klinicky validován pomocí algoritmu v systému softwaru Panther. Validovaný výsledek, který má být hlášen, zobrazí software systému Panther na obrazovce Výsledky a v hlášení Výsledky.
- R. Soupravu reagensí, kalibrátor ani kontroly nepoužívejte po datu expirace.

- S. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagenty analýzy ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kapaliny testu mohou být z různých šarží. Kontroly a kalibrátor mohou pocházet z různých šarží.
- T. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagentů.
- U. Všechny reagenty testu uzavřete a skladujte při uvedené teplotě. Při nesprávném skladování reagentů testu může být negativně ovlivněna funkční způsobilost testu. Další informace naleznete v částech *Požadavky na skladování reagentů a zacházení s nimi* a *Volitelné materiály*.
- V. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagenty ani kapaliny analýzy. Nedolévejte reagenty ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagentů.
- W. Některé reagenty v této soupravě jsou označeny symboly s informacemi o nebezpečí.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečích specifické pro váš region najdete v bezpečnostním listu specifickém pro daný region v knihovně bezpečnostních listů (Safety Data Sheet Library) na adrese www.hologicsds.com. Další informace o symbolech naleznete v legendě symbolů na internetové adrese www.hologic.com/package-inserts.

Informace o nebezpečí pro EU	
—	Amplification Reagent Magnesium Chloride 60–65 % — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Enzyme Reagent HEPES 1–5 % Triton X-100 1–5 % — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Enzyme Reconstitution Reagent Glycerol 20–25 % Triton X-100, 5–10 % HEPES 1–5 % — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
—	Promoter Reagent Magnesium Chloride 60–65 % — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

—	Target Capture Reagent HEPES 15–20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10 % Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5 % Succinic Acid 1–5 % — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.
  	HIV VL Kit Controls Human Serum/Human Plasma 95–100 % Sodium Azide < 1 % NEBEZPEČÍ H300 – Při požití může způsobit smrt. H410 – Vysoce toxický pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P264 – Po manipulaci důkladně omyjte tvář, ruce a exponované části kůže. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P301 + P310 – PŘI POŽITÍ: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. P321 – Odborné ošetření (viz dodatečné pokyny týkající se první pomoci uvedené na tomto štítku). P330 – Vypláchněte ústa. P391 – Uniklý produkt seberte.
—	HIV VL Kit Calibrators HEPES 15–20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10 % Lithium Hydroxide Monohydrate 1–5 % Succinic Acid 1–5 % — H412 – Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky. P273 – Zabraňte uvolnění do životního prostředí. P501 – Odstraňte obsah/obal ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Požadavky na skladování reagensů a zacházení s nimi

- A. V následující tabulce jsou uvedeny skladovací podmínky a stabilita reagensů, kontrol a kalibrátoru.

Reagencie	Skladování v neotevřeném stavu	Otevřená sada (po rekonstituci)	
		Skladování	Stabilita
Amplifikační reagencie qHIV-1	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro amplifikaci qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymová reagencie qHIV-1	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok pro enzymy qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Promotorová reagencie qHIV-1	2 °C až 8 °C		
Rekonstituční roztok promotoru qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Reagencie pro záchyt cíle qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
KONTROLA qHIV-1 NC – (negativní kontrola)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 20 hodin
KONTROLA qHIV-1 LPC + (slabě pozitivní kontrola)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 20 hodin
KONTROLA qHIV-1 HPC + (silně pozitivní kontrola)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 20 hodin
qHIV-1 PCAL (pozitivní kalibrátor)	–15 °C až –35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorázová lahvička Použijte do 20 hodin

^a Po vyjmutí reagensů ze systému Panther je nutné je ihned vrátit zpět do prostředí s vhodnou skladovací teplotou.

- B. Zlikvidujte veškeré nepoužité rekonstituované reagenty a reagenty pro záchyt cíle (TCR) po 30 dnech nebo po uplynutí data expirace hlavní šarže podle toho, která situace nastane dříve.
- C. Reagenty uložené v systému Panther mají stabilitu v přístroji 72 hodin. Reagenty lze vložit do systému Panther až 8krát. Systém Panther zapíše každé vložení reagensů.
- D. Po rozmrazení kalibrátoru musí být roztok čirý, tzn. nesmí být kalný a nesmí obsahovat precipitáty.
- E.  Promotorová reagenty a rekonstituovaná promotorová reagenty jsou fotosenzitivní. Při skladování a přípravě k použití chraňte tyto reagenty před světlem.

Odběr a skladování vzorků

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Přijměte univerzální bezpečnostní opatření.

Poznámka: Dávejte pozor, aby při manipulaci se vzorky nedošlo ke křížové kontaminaci. Při likvidaci například nepřenášejte použitý materiál nad otevřenými zkumavkami.

Poznámka: Ke skladování se doporučují pouze plastové sekundární zkumavky.

Je možné použít vzorky plné krve odebrané do následujících skleněných nebo plastových zkumavek:

Pro kvantitativní měření:

- Zkumavky obsahující EDTA nebo antikoagulanty založené na kyselé citrátové dextróze (ACD)
- Zkumavky pro přípravu plazmy (PPT)

Pro kvalitativní stanovení:

- Zkumavky obsahující EDTA nebo antikoagulanty ACD
- Zkumavky PPT
- Sérové zkumavky
- Zkumavky sérového separátoru (SST)

Před dalším zpracováním séra počkejte, dokud se nevytvoří sraženina.

A. Odběr vzorku

Plnou krev lze skladovat při teplotě 2 °C až 30 °C a je nutné ji centrifugovat do 24 hodin od odběru vzorků. Oddělte plazmu nebo sérum od erytrocytárního terčíku dle pokynů výrobce použité zkumavky. Plazmu nebo sérum lze v systému Panther testovat v primární zkumavce nebo přenést do sekundární zkumavky. K získání reakčního objemu 500 µl je minimální objem plazmy nebo séra 1200 µl v případě primární odběrové zkumavky a 700 µl v případě sekundární zkumavky. V následující tabulce jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky.

Zkumavka (velikost a typ)	Mrtvý objem v systému Panther
Alíkotační zkumavka Aptima (SAT)	0,2 ml
12 × 75 mm	0,5 ml
13 × 100 mm	0,5 ml
13 × 100 mm s gelem	0,3 ml
16 × 100 mm s gelem	0,7 ml

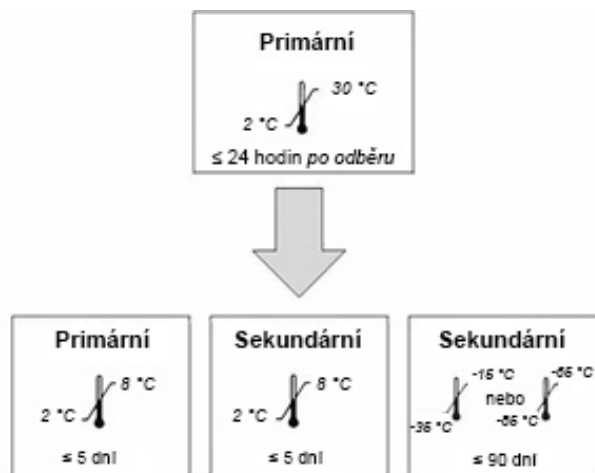
Pokud neprovedete testování ihned, plazmu nebo sérum je možné uskladnit v souladu s níže uvedenými specifikacemi. Při přenosu do sekundární zkumavky lze plazmu zmrazit při teplotě -20 °C nebo -70 °C a sérum při teplotě -20 °C. Neprovádějte více než tři cykly rozmrazování-tání, abyste neovlivnili výsledek. Nezmrazujte vzorky v EDTA, ACD ani primárních zkumavkách k odběru séra.

B. Podmínky skladování vzorků

1. Vzorky plazmy EDTA a ACD

Primární zkumavky obsahující centrifugovanou plazmu je možné uskladnit až 24 hodin po odběru vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C (Obrázek 1, horní pole). Po 24 hodinách je možné plazmu uskladnit na delší dobu za jedné z následujících podmínek (Obrázek 1, spodní pole):

- v primární odběrové zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 3 dnů,
- v sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- v sekundární zkumavce při teplotě -20 °C až -70 °C po dobu až 90 dnů.

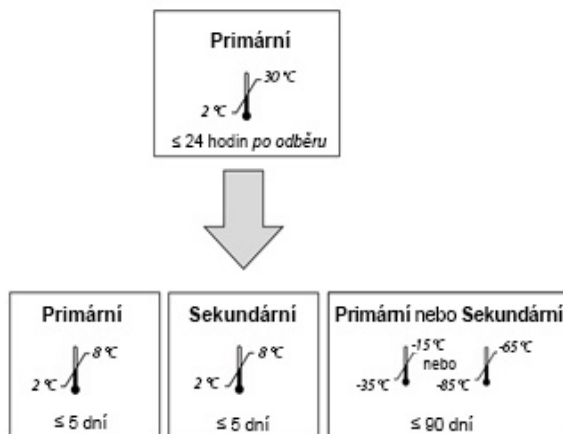


Obrázek 1. Podmínky skladování pro zkumavky EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

Zkumavky PPT obsahující centrifugovanou plazmu je možné uskladnit až 24 hodin po odběru vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C (Obrázek 2, horní pole). Po 24 hodinách je možné plazmu uskladnit na delší dobu za jedné z následujících podmínek (Obrázek 2, spodní pole):

- ve zkumavce PPT při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 3 dnů
- v sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- ve zkumavce PPT nebo sekundární zkumavce při teplotě -20 °C až -70 °C po dobu až 90 dnů.

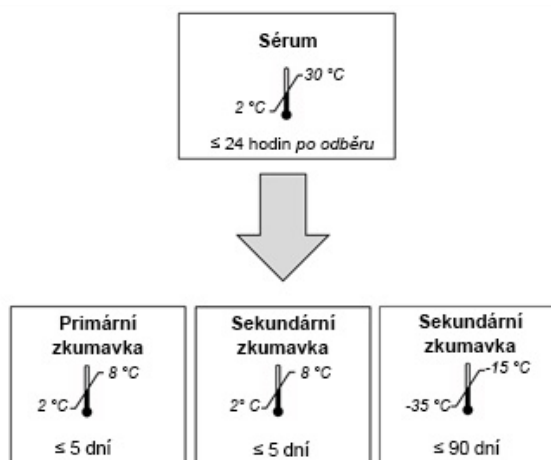


Obrázek 2. Podmínky skladování pro zkumavky PPT

3. Vzorky v sérové zkumavce

Sérové zkumavky obsahující centrifugované sérum je možné uskladnit až 24 hodin po odběru vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C (Obrázek 3, horní pole). Po 24 hodinách je možné sérum uskladnit na delší dobu za jedné z následujících podmínek (Obrázek 3, spodní pole):

- v sérové zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- v sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- v sekundární zkumavce při teplotě –20 °C po dobu až 90 dnů.

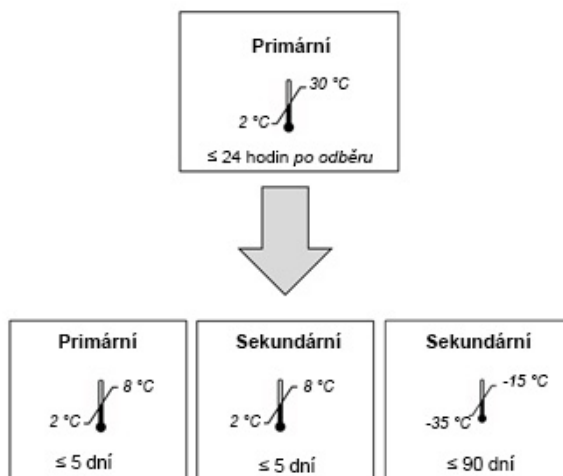


Obrázek 3. Podmínky skladování pro sérové zkumavky

4. Vzorky SST

Zkumavky SST obsahující centrifugované sérum je možné uskladnit až 24 hodin po odběru vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C (Obrázek 4, horní pole). Po 24 hodinách je možné sérum uskladnit na delší dobu za jedné z následujících podmínek (Obrázek 4, spodní pole):

- Ve zkumavce SST při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů.
- v sekundární zkumavce při teplotě 2 °C až 8 °C po dobu až 5 dnů,
- v sekundární zkumavce při teplotě –20 °C po dobu až 90 dnů.



Obrázek 4. Podmínky skladování pro zkumavky SST

C. Ředění vzorků plazmy

Poznámka: Vzorky plazmy je možné naředit ve zkumavce SAT nebo sekundární zkumavce k testování v systému Panther. Další informace najdete v části Postup testu na systému Panther, krok E.4.

Poznámka: Pokud je vzorek naředěn, měl by se otestovat ihned po ředění. Naředěný vzorek nezmrazujte.



Poznámka: Ředění vzorků plazmy se smí používat pouze pro kvantitativní výsledky. Neřed'te vzorky plazmy pro diagnostické výsledky.

Vzorky v systému Panther

Vzorky je možné ponechat v systému Panther neuzavřené celkem až 8 hodin. Vzorky je možné vyjmout ze systému Panther a otestovat, dokud doba v přístroji nepřekročí 8 hodin před pipetováním vzorku systémem Panther.

Přeprava klinických vzorků

Dodržujte podmínky uchovávání vzorků uvedené v části Odběr a skladování vzorků.

Poznámka: Vzorky musejí být přepravovány v souladu s platnými národními, mezinárodními a regionálními předpisy pro přepravu.

Systém Panther

Níže jsou uvedeny reagencie testu Aptima HIV-1 Quant Dx pro systém Panther. Vedle názvu reagencie jsou rovněž uvedeny symboly k identifikaci reagencií.

Reagencie a dodávané materiály

Souprava testu Aptima HIV-1 Quant Dx

100 testů (1 souprava testu, 1 souprava kalibrátoru a 1 souprava kontrol) (kat. č. PRD-03000)

Další kalibrátory a kontroly si můžete objednat samostatně. Příslušná katalogová čísla najdete níže.

Souprava testu Aptima HIV-1 Quant Dx

(po přijetí skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C)

Symbol	Součást	Množství
A	Amplifikační reagencie qHIV-1 <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.</i>	1 lahvička
E	Enzymová reagencie qHIV-1 <i>Vysušená reverzní transkriptáza a RNA polymeráza v roztoku pufrovaném HEPES.</i>	1 lahvička
PRO	Promotorová reagencie qHIV-1 <i>Neinfekční nukleové kyseliny vysušené v pufrovaném roztoku.</i>	1 lahvička
AR	Rekonstituční roztok pro amplifikaci qHIV-1 <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 7,2 ml
ER	Rekonstituční roztok pro enzymy qHIV-1 <i>Roztok pufrovaný HEPES obsahující surfaktant a glycerol.</i>	1 × 5,8 ml
PROR	Rekonstituční roztok promotoru qHIV-1 <i>Vodný roztok obsahující glycerol a konzervační látky.</i>	1 × 4,5 ml
TCR	Reagencie pro záchyt cíle qHIV-1 <i>Nukleové kyseliny v pufrovaném solném roztoku obsahujícím pevnou fázi, neinfekční nukleové kyseliny a vnitřní kalibrátor.</i>	1 × 72,0 ml
	Rekonstituční objímky	3
	List s čárovým kódem hlavní šarže	1 list

Souprava kalibrátoru Aptima HIV-1 Quant Dx (kat. č. PRD-03001)
(po přijetí skladujte při teplotě –15 °C až –35 °C)

Symbol	Součást	Množství
PCAL	Pozitivní kalibrátor qHIV-1 <i>Transkript v pufrovaném roztoku.</i>	5 × 2,5 ml
	Štítek s čárovým kódem kalibrátoru	—

Souprava kontroly Aptima HIV-1 Quant Dx (kat. č. PRD-03002)
(po přijetí skladujte při teplotě –15 °C až –35 °C)

Symbol	Součást	Množství
NC	Negativní kontrola qHIV-1 <i>HIV-1-negativní defibrinovaná lidská plazma obsahující gentamicin a 0,2 % azid sodný jako konzervační látky.</i>	5 × 1,5 ml
LPC	Slabě pozitivní kontrola qHIV-1 <i>Neinfekční HIV-1 armored RNA v defibrinované lidské plazmě obsahující gentamicin a 0,2 % azid sodný jako konzervační látky.</i>	5 × 1,5 ml
HPC	Silně pozitivní kontrola qHIV-1 <i>Neinfekční HIV-1 armored RNA v defibrinované lidské plazmě obsahující gentamicin a 0,2 % azid sodný jako konzervační látky.</i>	5 × 1,5 ml
	Štítek s čárovým kódem kontroly	—

Požadované materiály, které jsou dodávány samostatně

Poznámka: Materiály dostupné od společnosti Hologic mají uvedena katalogová čísla dle seznamu, pokud není uvedeno jinak.

Materiál	Kat. č.
Systém Panther	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Systém Panther, nepřetržité odvádění tekutin a odpadů (Panther Plus)	PRD-06067
Kalibrační souprava Aptima® HIV-1 Quant Dx Calibrator Kit	PRD-03001
Souprava kontrol Aptima® HIV-1 Quant Dx Controls Kit	PRD-03002
Testovací souprava Panther™ k testování v reálném čase (pouze pro testy v reálném čase)	PRD-03455 (5 000 testů)
Souprava kapalin pro test Aptima® (rovněž známá jako univerzální souprava kapalin) <i>obsahuje promývací roztok Aptima®, pufr Aptima® pro deaktivaci kapaliny a olejovou reagensii Aptima®</i>	303014 (1 000 testů)
<i>Jednotky s více zkumavkami (MTU)</i>	104772-02
Souprava vaku na odpad Panther™	902731
Víko koše na odpad Panther™	504405
Nebo testovací souprava Panther™ System Run Kit <i>(při provádění testů TMA neprobíhajících v reálném čase paralelně s testy TMA probíhajícími v reálném čase) obsahuje MTU, odpadní vaky, kryty odpadních košů, automatickou detekci a testovací kapaliny</i>	303096 (5 000 testů)
Špičky, 1 000 µl, s filtrem, vodivé, detekující kapaliny, jednorázové <i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u místního zástupce.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bélidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	—
Jednorázové rukavice bez talku	—
Náhradní uzávěry pro reagensie <i>Rekonstituční lahvičky pro amplifikační, enzymové a promotorové reagensie</i> <i>Lahvička TCR</i>	CL0041 (100 uzávěrů) CL0040 (100 uzávěrů)
Ubrusy na laboratorní stoly s plastovou vrstvou	—
Utěrky neuvolňující vlákna	—
Pipetor	—
Tips (Špičky)	—
Primární odběrová zkumavka (EDTA, ACD, PPT, SST, sérum) – možnosti: 13 mm × 100 mm 13 mm × 75 mm 16 mm × 100 mm	— — —
Odstředivka	—
Vortex	—

Volitelné materiály

Materiál	Kat. č.
Druhy sekundární zkušavky:	
12 mm × 75 mm	—
13 mm × 100 mm	—
16 mm × 100 mm	—
Zkušavky k alikvotaci vzorků Aptima (SAT) (balení po 100 ks)	FAB-18184
Uzávěr přepravní zkušavky (balení po 100 ks) <i>uzávěr pro zkušavku SAT</i>	504415
Roztok k ředění vzorků Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Souprava k ředění vzorků Aptima <i>obsahuje roztok na ředění vzorků, 100 SAT a 100 uzávěrů</i>	PRD-03478
Transferové pipety	—
Komerčně dostupné panely, například: <i>HIV-1 z kontroly kvality pro molekulární diagnostiku (Quality Control for Molecular Diagnostics – QCMD) nebo Panel průzkumu HIV virové zátěže College of American Pathologists (CAP) nebo Panely SeraCare ACCURUN HIV</i>	—
Vatové tyčinky	—
Třepačka pro zkušavky	PRD-03488

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o postupu najdete v příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion.

A. Příprava pracovní oblasti

- Očistěte pracovní povrchy tam, kde budete připravovat reagenty. Otrěte pracovní povrchy 2,5 % až 3,5 % (0,35 mol až 0,5 mol) roztokem chlornanu sodného. Roztok chlornanu sodného nechte působit na kontaktní povrchy alespoň 1 minutu a poté je opláchněte deionizovanou vodou. Roztok chlornanu sodného nenechte zaschnout. Pokryjte povrchy stolů, na kterých budou připravovány reagenty a vzorky, čistým laboratorním absorpčním ubrusem s plastovou vrstvou.
- Očistěte vyhrazený pracovní povrch, na kterém budete vzorky připravovat. Postupujte podle výše uvedeného postupu (krok A.1).
- Vyčistěte pipety. Postupujte podle výše uvedeného postupu (krok A.1).

B. Příprava kalibrátoru a kontrol

Než přistoupíte k následujícímu zpracování, zajistěte, aby se teplota kalibrátoru a kontrol ustálila na 15 °C až 30 °C:

1. Vytáhněte kalibrátor a kontroly ze skladovacího prostoru (–15 °C až –35 °C) a uložte je při teplotě 15 °C až 30 °C. Po celou dobu rozmrazování všechny zkumavky jemně převracejte, aby se dobře promíchaly. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

Volitelné. Zkumavky kalibrátoru a kontrol je možné vložit do třepačky pro zkumavky a pečlivě promíchat. Ujistěte se, že je obsah zkumavek před použitím zcela rozmrazen.

Poznámka: Při převrácení kalibrátoru a kontrol dávejte pozor, aby nevznikala přebytečná pěna. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.

2. Po rozmrazení obsahu zkumavky vysušte vnější povrch zkumavky čistým, suchým jednorázovým hadříkem.
3. V rámci prevence kontaminace zkumavky zatím neotevírejte.

C. Rekonstituce/příprava reagentie z nové soupravy

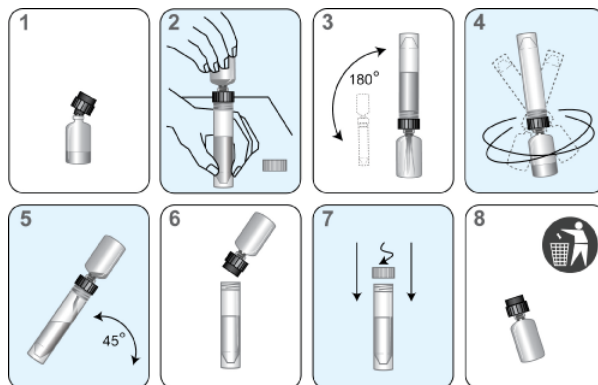
Poznámka: Rekonstituci reagentie je nutné provést před zahájením veškerých prací se systémem Panther.

1. Reagentii pro záchyt cíle (TCR) připravíte následujícím způsobem:
 - a. Vytáhněte reagentii TCR ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Zkontrolujte číslo šarže na lahvičce reagentie TCR, abyste se ujistili, že odpovídá číslu šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže.
 - b. Ihned poté 10krát důkladně protřepejte lahvičku reagentie TCR. Nechte lahvičku reagentie TCR volně zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C po dobu 45 minut. Během této doby minimálně každých 10 minut jemně otočte a převraťte lahvičku reagentie TCR.

Volitelné. Lahvičku reagentie TCR je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagentii TCR ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C) a ihned 10krát důkladně protřepejte. Uložte lahvičku reagentie TCR na třepačku pro zkumavky a nechte reagentii zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 45 minut.
 - c. Před použitím se ujistěte, že je veškerý precipitát rozpuštěný a že jsou magnetické částičky ponořeny.
2. Pokud chcete rekonstituovat amplifikační, enzymatické a promotorové reagentie, postupujte následujícím způsobem:
 - a. Vyjměte lyofilizované reagentie a odpovídající rekonstituční roztoky ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonstituční roztok spárujte s odpovídající lyofilizovanou reagentií.
 - b. Ujistěte se, že rekonstituční roztoky a reagentie mají shodné barvy štítků. Zkontrolujte čísla šarže na listu s čárovým kódem hlavní šarže, abyste zajistili správné spárování reagentií.
 - i. Odstraňte kovový uzávěr a gumovou zátku lahvičky s lyofilizovanou reagentií a otevřete ji.
 - ii. Do lahvičky pevně zasuněte vroubkovaný konec rekonstituční objímky (černý) (Obrázek 5, krok 1).

- iii. Otevřete odpovídající lahvičku s rekonstitučním roztokem a uzávěr odložte na čistý a zakrytý pracovní povrch.
- iv. Lahvičku s rekonstitučním roztokem uložte na stabilní povrch (tzn. laboratorní stůl). Poté převraťte lahvičku s lyofilizovanou reagencií přes lahvičku s rekonstitučním roztokem a pevně připojte objímku k lahvičce s rekonstitučním roztokem (Obrázek 5, krok 2).
- v. Pomalu převraťte propojené lahvičky (skleněná lahvička připojená k lahvičce s roztokem), aby roztok stekl do skleněné lahvičky (Obrázek 5, krok 3).
- vi. Zvedněte připojené lahvičky a minimálně 10 sekund je míchejte (Obrázek 5, krok 4).
- vii. Počkejte minimálně 30 minut, než se lyofilizovaná reagencie dostane do roztoku.
- viii. Po přechodu lyofilizované reagencie do roztoku minimálně 10 sekund míchejte spojené lahvičky a poté lehce protřepejte roztok ve skleněné lahvičce, aby se dobře promíchal.
- c. Pomalu znovu nakloňte připojené lahvičky, aby všechen roztok stekl zpět do lahvičky s rekonstitučním roztokem (Obrázek 5, krok 5).
- d. Opatrně odstraňte rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku (Obrázek 5, krok 6).
- e. Znovu uzavřete lahvičku uzávěrem. Na štítek запиšte iniciály obsluhy a datum rekonstituce (Obrázek 5, krok 7).
- f. Rekonstituční objímku a skleněnou lahvičku zlikvidujte (Obrázek 5, krok 8).

Varování: Při rekonstituci reagensů zabraňte tvorbě přebytečné pěny. Pěna ovlivňuje detekci hladin v systému Panther.



Obrázek 5. Proces rekonstituce reagensů

D. Příprava u dříve připravovaných reagensů

1. Vytáhněte dříve připravené reagensie ze skladovacího prostoru (2 °C až 8 °C).
2. Před zahájením testu je nutné nechat dříve připravené amplifikační, enzymové, promotorové a TCR reagensie temperovat na teplotu 15 °C až 30 °C.
3. U dříve připravené reagensie TCR před vložením do systému proveďte krok C.1 výše.
4. Protřepejte a převraťte amplifikační, enzymové a promotorové reagensie, aby se před vložením do systému dobře promíchaly. Při převrácení reagensů zabraňte tvorbě přebytečné pěny.

Volitelné: Dříve připravené reagencie je možné připravit na třepačce pro zkumavky dle následujících pokynů: Vytáhněte reagencie z prostoru pro uchovávání (2 °C až 8 °C). Uložte reagencie na třepačku zkumavek a nechte je zahřát při teplotě 15 °C až 30 °C minimálně po dobu 30 minut.

5. Lahvičky s reagenciemi nedoplňujte. Doplněné lahvičky systém Panther rozpozná a zamítne je.

E. Manipulace se vzorkem

1. Zajistěte, aby byly zpracované vzorky v primárních zkumavkách nebo nezředěné vzorky v sekundárních zkumavkách řádně skladovány v souladu s pokyny v části *Odběr a skladování vzorků*.
2. Ujistěte se, že jsou zmrazené vzorky zcela rozmrazené. Pečlivě promíchejte rozmrazené vzorky 3 až 5 sekund ve vortexu.
3. Než přikročíte ke zpracování, nechte vzorky zahřát na teplotu 15 °C až 30 °C. Další informace o stavu v přístroji najdete v části *Vzorky v systému Panther*.
4. Ujistěte se, že každá primární odběrová zkumavka obsahuje až 1 200 µl vzorku nebo každá zkumavka SAT obsahuje minimálně 700 µl vzorku. V tabulce v části *Odběr a skladování vzorků* jsou uvedeny požadavky na mrtvý objem pro jednotlivé typy primární a sekundární zkumavky. Pokud je nutné vzorek naředit, prostudujte si další informace v kroku 5 níže.
5. Vzorek plazmy nařeďte v poměru 1 : 3 ve zkumavce SAT nebo 1 : 100 v sekundární zkumavce.

Vzorky plazmy je možné naředit v sekundární zkumavce pro testování v systému Panther.



Poznámka: Ředění vzorků plazmy se smí používat pouze pro kvantitativní výsledky. Neřeďte vzorky plazmy pro diagnostické výsledky.

Poznámka: Pokud je vzorek naředěn, musí být testován ihned po naředění.

a. Ředění vzorků s nízkým objemem

Objem vzorků plazmy lze zvýšit na minimální požadovaný objem (700 µl) pomocí roztoku k ředění vzorků Aptima. Vzorky s minimálně 240 µl plazmy je možné naředit dvěma díly roztoku k ředění vzorků (1 : 3) následujícím způsobem:

- i. Do zkumavky SAT vložte 240 µl vzorku.
- ii. Přidejte 480 µl roztoku k ředění vzorků Aptima.
- iii. Uzavřete zkumavku.
- iv. Jemně ji 5krát převraťte a promíchejte.

Vzorky ředěné v poměru 1 : 3 je možné otestovat pomocí možnosti 1 : 3 v systému Panther (další informace najdete v *Příručce obsluhy systému Panther / Panther Fusion*). Software automaticky nahlásí čistý výsledek použitím faktoru ředění. Tyto vzorky budou označeny jako naředěné vzorky.

b. Ředění vzorků s vysokým titrem

Pokud výsledky překročí horní limit kvantifikace, je možné vzorky naředit 99 díly roztoku k ředění vzorků Aptima (1 : 100) následujícím postupem:

- i. Do zkumavky SAT nebo sekundární zkumavky vložte 30 µl vzorku.
- ii. Přidejte 2 970 µl roztoku k ředění vzorků Aptima.
- iii. Uzavřete zkumavku.

iv. Jemně ji 5krát převraťte a promíchejte.

Vzorky ředěné v poměru 1 : 100 je možné otestovat pomocí možnosti 1 : 100 v systému Panther (další informace najdete v *Příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion*). Software automaticky nahlásí čistý výsledek použitím faktoru ředění. Tyto vzorky budou označeny jako naředěné vzorky.

Poznámka: U ředěných vzorků s čistými koncentracemi vyššími než ULoQ budou výsledky hlášeny ve vědeckém formátu.

6. Před vložením vzorků do stojanu Stojan na vzorky, proveďte centrifugaci každého vzorku s otáčkami 1 000 až 3 000 g po dobu 10 minut. Neodstraňujte uzávěry. Bubliny ve zkumavce mohou narušit snímání hladiny systémem Panther.

Informace o vkládání stojanu a odstraňování uzávěrů naleznete v Viz *Příprava systému* v kroku F.2 uvedeném níže.

F. Příprava systému

1. Systém nastavte podle pokynů uvedených v *Příručce obsluhy k systému Panther / Panther Fusion* a v části *Poznámky k postupu*. Použijte stojany na reagenty vhodné velikosti a TCR adaptéry.
2. Vložte vzorky do stojanu na vzorky. Pro každou zkumavku na vzorky proveďte následující kroky (vzorek a v případě potřeby kalibrátor a kontroly):

- a. Uvolněte uzávěr jedné zkumavky na vzorky, neodstraňujte jej však zcela.

Poznámka: Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáním aerosolů. Jemně uvolněte uzávěry na vzorcích.

- b. Vložte zkumavku na vzorky do stojanu na vzorky.
- c. Zopakujte kroky a a b pro všechny zbývající vzorky.
- d. Po vložení vzorků do stojanu na vzorky vytáhněte a zlikvidujte uzávěry všech zkumavek na vzorky v jednom stojanu na vzorky. Nepřenášejte uzávěr nad jinými stojany na vzorky ani zkumavkami na vzorky, aby nedošlo ke kontaminaci.
- e. V případě potřeby použijte novou, jednorázovou přenosovou pipetu k odstranění případných bublin nebo pěny.
- f. Po odstranění posledního uzávěru vložte stojan na vzorky do prostoru na vzorky.

Poznámka: Pokud zpracováváte současně jiné analýzy a typy vzorků, zajistěte držák vzorku před vložením stojanu na vzorky do prostoru na vzorky.

- g. Zopakujte kroky a až f pro další stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Pozitivní kalibrátor qHIV-1, slabá pozitivní kontrola qHIV-1, silná pozitivní kontrola qHIV-1 a negativní kontrolní zkumavky qHIV-1 je možné vložit do kterékoli pozice ve stojanu na vzorky a kterékoli dráhy prostoru na vzorky v systému Panther. Pipetování vzorků bude zahájeno, jakmile bude splněna jedna z následujících dvou podmínek:
 - a. Kalibrátor a kontroly jsou aktuálně zpracovávány v systému.
 - b. V systému jsou registrovány platné výsledky kalibrátoru a kontrol.

2. Jakmile proběhne pipetování zkumavek kalibrátoru a kontroly a jejich zpracování pro soupravu reagensů testu Aptima HIV-1 Quant Dx, vzorky je možné otestovat přiřazenou, rekonstituovanou soupravou v průběhu 24 hodin, **pokud nenastane následující situace:**
 - a. Výsledky kalibrátoru nebo kontroly jsou neplatné.
 - b. Přiřazená souprava reagensů analýzy je vyjmuta ze systému.
 - c. Přiřazená souprava reagensů analýzy překročila limity stability.
 3. Kalibrátor a každou zkumavku kontroly lze použít jednou. Pokusy o vícenásobné použití zkumavky mohou vést k chybám zpracování.
- B. Pudr z rukavic
- Stejně jako u jiných systémů reagensů může nadbytek talku z rukavic způsobit kontaminaci otevřených zkumavek. Doporučujeme používat rukavice bez talku.

Kontrola kvality

Laborant může zrušit platnost výsledku zpracování nebo vzorku, pokud jsou při provádění testu zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy na straně přístroje. V takovém případě je nutné zopakovat testování vzorků.

Kalibrace analýzy

Aby byly generovány platné výsledky, musí být dokončena kalibrace testu. Při každém vložení soupravy reagensů do systému Panther se třikrát zpracuje jeden pozitivní kalibrátor. Po potvrzení bude kalibrátor platný až 24 hodin. Pokud bude nutná kalibrace, software v systému Panther upozorní obsluhu. Obsluha naskenuje kalibrační koeficient na listu s čárovým kódem hlavní šarže dodávaném s každou soupravou reagensů.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kalibrátoru. Pokud budou platné méně než dva replikáty kalibrátoru, software automaticky zruší platnost zpracování. Vzorky v neplatném zpracování bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Negativní a pozitivní kontroly

Aby byly generovány platné výsledky, musí být testována sada kontroltestu. Jeden replikát negativní kontroly, slabě pozitivní kontroly a silně pozitivní kontroly je nutné otestovat při každém vložení soupravy reagensů do systému Panther. Po stanovení jsou kontroly platné po dobu maximálně 24 hodin. Pokud budou vyžadovány kontroly, software v systému Panther upozorní obsluhu.

Během zpracování software v systému Panther automaticky ověří kritéria přijatelnosti kontrol. Aby byly výsledky platné, negativní kontrola musí poskytnout výsledek „Nedetekováno“ a výsledky pozitivních kontrol musí být v předem definovaném rozmezí (cíl LPC: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ kopie/ml, cíl HPC: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ kopie/ml). Pokud kterákoli z kontrol poskytne neplatný výsledek, software automaticky zruší platnost zpracování. Vzorky v neplatném zpracování bude nutné znovu otestovat pomocí čerstvě připraveného kalibrátoru a čerstvě připravených kontrol.

Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola

Každý vzorek obsahuje vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC). Software systému Panther během zpracování automaticky ověří kritéria přijatelnosti vnitřní kontroly. Pokud je výsledek vnitřní kontroly neplatný, výsledky vzorku budou zneplatněny. Každý vzorek s neplatným výsledkem vnitřní kontroly je nutné znovu otestovat, abyste získali platný výsledek. Software systému Panther je navržen tak, aby přesně ověřoval procesy při provádění postupů podle pokynů uvedených v této příbalové informaci a v *Příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion*.

Interpretace výsledků

Poznámka: Kvantitativní výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx byly hodnoceny pro plazmu. Sérum se nesmí používat pro kvantitativní výsledky. Kvalitativní výsledky byly hodnoceny pro plazmu i sérum.

Systém Panther automaticky stanoví koncentraci RNA HIV-1 pro vzorky a kontroly srovnáním výsledků s kalibrační křivkou. Koncentrace RNA HIV-1 jsou hlášeny v kopiích/ml a $\log_{10}$ kopií/ml. Interpretaci výsledků uvádí Tabulka 1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx má amplifikaci dvou cílů a detekční systémy, které nezávisle cílí na pol a LTR. Systém hlásí výsledek na základě primárního systému, pol, pokud je pol amplifikován. V opačném případě bude systém hlásit výsledek ze sekundárního systému, LTR.

Pokud pro naředěné vzorky použijete ředění 1 : 3 nebo 1 : 100, systém Panther automaticky vypočte koncentraci HIV-1 pro čistý vzorek vynásobením naředěné koncentrace faktorem ředění a naředěné vzorky budou označeny jako naředěné.

Poznámka: Pro naředěné vzorky mohou být výsledky uvedené jako „Nedetekováno“ nebo „< 30 detekováno“ vygenerovány naředěním vzorků s koncentrací nad LoD (limit detekce), ale v jeho blízkosti, nebo LLoQ (spodní limit kvantifikace). Pokud nebyl získán kvantitativní výsledek, doporučujeme odebrat a otestovat jiný čistý vzorek.

Systém Panther neposkytuje kvalitativní výsledek (tzn. „Reaktivní“ nebo „Nereaktivní“) pro diagnostické použití. Laborant musí interpretovat hlášenou koncentraci RNA HIV-1 do kvalitativního výsledku (Tabulka 1). Vzorky s výsledky označenými jako „Nedetekováno“ jsou nereaktivní pro RNA HIV-1. Vzorky s výsledky uvedenými jako „< 30 detekováno“ nebo vzorky s výsledky uvedenými v lineárním rozsahu a výše uvádí, že RNA HIV-1 byla detekována a tyto vzorky jsou reaktivní pro RNA HIV-1.

Tabulka 1: Interpretace výsledků

Hlášený výsledek testu Aptima HIV-1 Quant Dx		Koncentrace RNA HIV-1 Interpretace	Kvalitativní diagnostická interpretace uživatele ^c
Kopii/ml ^a	Hodnota $\log_{10}$ ^b		
Nedetekováno	Nedetekováno	RNA HIV-1 nedetekována.	Nereaktivní na RNA HIV-1
Detekováno < 30	< 1,47	RNA HIV-1 je detekována, ale hladina je pod LLoQ.	Reaktivní na RNA HIV-1
30 až 10 000 000	1,47 až 7,00	Koncentrace RNA HIV-1 je v lineárním rozsahu 30 až 10 000 000 kopií/ml.	Reaktivní na RNA HIV-1
> 10 000 000	> 7,00	Koncentrace RNA HIV-1 je nad horním limitem kvantifikace (ULoQ).	Reaktivní na RNA HIV-1
Neplatné ^d	Neplatné ^d	Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu.	Neplatné ^d

^a Konverzní faktor z kopií na mezinárodní jednotky (IU) pro 3. mezinárodní standard pro RNA HIV-1 (10/152) je 0,35 kopie/IU.

^b Hodnota je zkrácena na dvě desetinná místa.

^c Diagnostickou interpretaci nelze provést z „nereaktivních“ výsledků pro vzorky, které byly naředěny. Získejte nové neředěné vzorky a opakujte testování.

^d Neplatné výsledky se zobrazí modrým fontem.

Po zobrazení výsledků na obrazovce Výsledky lze získat přístup ke kvantitativní hodnotě pro každý cíl pomocí funkce Sample Curve Report (Hlášení s křivkou výsledků) v softwaru systému Panther. Chcete-li zobrazit hodnoty a křivky amplifikace, zvolte možnost Sample ID (ID vzorku) daného vzorku na obrazovce Results (Výsledky) softwaru systému Panther. Poté zvolte tlačítko Curve Data (Údaje křivky). Otevře se okno obsahující hlášení s křivkou výsledků, které zahrnuje fluorescenční profily a kvantitativní hodnoty pro vzorek.

Poznámka: Údaje získané z hlášení s křivkou výsledků jsou uvedeny pouze pro informační účely (např. řešení potíží a ověření křivky). Validovaný výsledek, který má být hlášen pro vzorek, zobrazí software systému Panther na obrazovce Results (Výsledky) a v hlášení Results (Výsledky).

Poznámka: Další pokyny týkající se obsluhy systému Panther najdete v Příručce k obsluze systému Panther / Panther Fusion.

Tabulka 2 uvádí kritéria přijatelnosti jednotlivých kontrol testu Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Poznámka: Níže uvedený rozsah výtěžnosti se posouvá na základě přiřazené hodnoty každé konkrétní šarže. Viz přiřazená koncentrace uvedená na listu s čárovým kódem kontroly, který se dodává s každou krabičkou kontroly.

Tabulka 2: Kritéria přijatelnosti pro rozsah výtěžnosti testu Aptima HIV-1 Quant Assay

Součást	Rozsah výtěžnosti u validovaných sérií měření
Negativní kontrola	Není k dispozici
Nízká pozitivní kontrola	+/- 0,5 log ₁₀ kopií/ml
Vysoká pozitivní kontrola	+/- 0,5 log ₁₀ kopií/ml

Omezení

- A. Test mohou používat pouze osoby vyškolené v provádění příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Spolehlivost výsledků závisí na adekvátním odběru, transportu, skladování a zpracování vzorků.
- C. Tento test byl validován k použití jako kvantitativní test pouze s lidskou EDTA a ACD plazmou.
- D. Tento test byl validován k použití jako kvalitativní test s lidskou EDTA a ACD plazmou a sérem.
- E. I když jsou mutace ve vysoce konzervativních oblastech virového genomu krytých primery a/nebo sondami v testu Aptima HIV-1 Quant Dx vzácné, mohou vést k podhodnocení nebo selhání detekce viru.
- F. Tento test nebyl validován pro použití u pacientů podstupujících terapie založené na lentivirových vektorech, jako je například terapie CAR-T-buňkami. Potenciálně překrývající se oblasti virového genomu pokryté primery a/nebo sondami v testu Aptima HIV-1 Quant Dx mohou vést k amplifikaci lentivirových vektorů používaných v terapiích založených na lentivirových vektorech.

Analytická funkční způsobilost

Limit detekce (LoD) pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO

Limit detekce (LoD) je definován jako koncentrace RNA HIV-1 detekovaná s 95 % nebo vyšší pravděpodobností dle dokumentu CLSI EP17-A2 (37). LoD byl stanoven testováním panelů, které zahrnovaly ředění 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO (subtyp B, kód NIBSC: 10/152) v HIV-1 negativní EDTA plazmě a séru. 30 replikátů každého ředění bylo zpracováno na třech systémech Panther za použití tří šarží reagensů, celkem 90 replikátů pro každé ředění. Dle dokumentu CLSI EP17-A2 byly LoD definovány pomocí výsledků ze šarže reagensů s nejvyšší koncentrací pro předvídaný limit detekce a uvádí je Tabulka 3. Dle analýzy Probit je 95 % předvídaný limit detekce pro LoD testu Aptima HIV-1 Quant Dx 12 kopií/ml (35 IU/ml) v plazmě a 8,9 kopie/ml (25 IU/ml) v séru (0,35 kopie = 1 IU).

Tabulka 3: Limit detekce testu Aptima HIV-1 Quant Dx za použití 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO

Předvídaný Limit detekce	Plazma		Sérum	
	Koncentrace (kopie/ml)	Koncentrace (IU/ml)	Koncentrace (kopie/ml)	Koncentrace (IU/ml)
10 %	1,2	3,3	0,8	2,2
20 %	1,6	4,6	1,1	3,1
30 %	2,0	5,7	1,4	4,0
40 %	2,5	7,2	1,7	4,9
50 %	3,1	8,8	2,1	5,9
60 %	3,8	11	2,5	7,2
70 %	4,8	14	3,1	8,9
80 %	6,2	18	4,0	11
90 %	9,0	26	5,8	17
95 %	12,1	35	8,9	26

Limit detekce u subtypů a skupin HIV-1

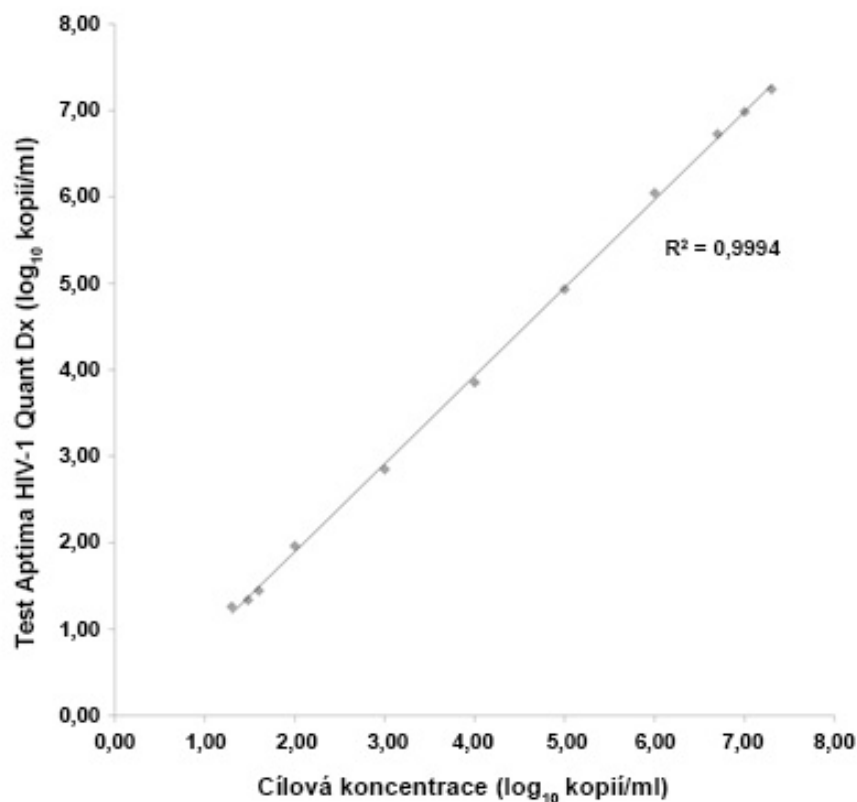
Pro skupinu M HIV-1 (subtypy A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) a skupiny N a O bylo vytvořeno šest pozitivních panelů a jeden negativní panel doplněním kultivovaného viru HIV-1 nebo pozitivních klinických vzorků do HIV-1 negativní lidské EDTA plazmy a séra (0 až 40 kopií/ml). Každý člen panelu byl testován v 30 replikátech se dvěma šaržemi reagensů, celkem 60 replikátů na člena panelu. Přiřazení koncentrace pro klinické vzorky nebo kultivované viry bylo určeno pomocí srovnávacího testu. Byla provedena analýza probit s cílem získat 50 % a 95 % předpokládaný limit detekce. Dle dokumentu CLSI EP17-A2 (37) byly výsledky ze šarže reagensů s nejvyšší koncentrací pro předvídaný limit detekce definovány jako LoD a uvádí je Tabulka 4.

Tabulka 4: Limit detekce u subtypů a skupin HIV-1

Subtyp/skupina	Předvídaná mez detekce	Plazma	Sérum
		Koncentrace (kopie/ml)	Koncentrace (kopie/ml)
A	50 %	3,0	4,0
	95 %	11,5	14,5
CRF01_AE	50 %	1,5	4,5
	95 %	4,5	15,7
CRF02_AG	50 %	3,8	4,3
	95 %	15,1	14,3
C	50 %	2,0	4,1
	95 %	9,8	16,7
D	50 %	4,2	3,7
	95 %	13,8	15,2
F	50 %	2,4	4,9
	95 %	8,9	15,0
G	50 %	3,5	2,5
	95 %	15,7	6,5
N	50 %	1,4	2,1
	95 %	6,1	5,9
O	50 %	1,9	6,5
	95 %	6,5	27,2

Lineární rozsah

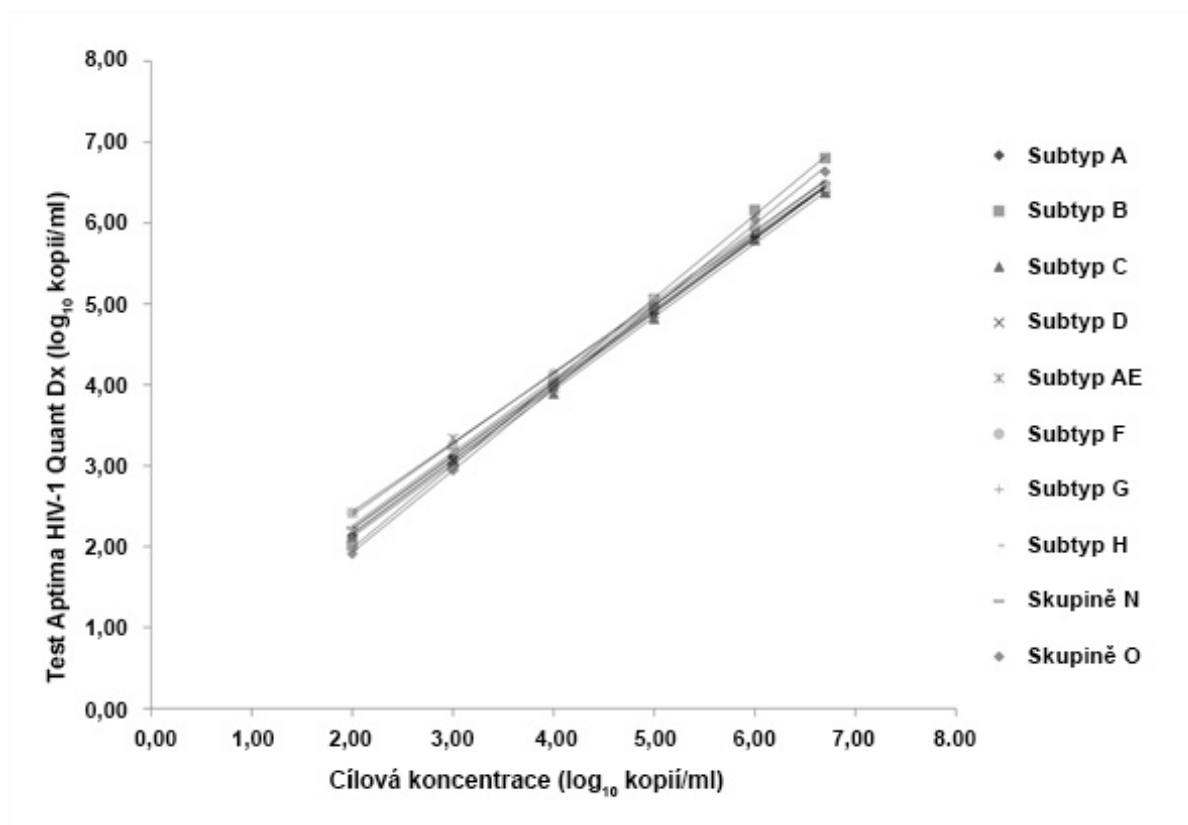
Lineární rozsah testu Aptima HIV-1 Quant Dx byl stanoven testováním panelů, které zahrnovaly kultivovaný virus HIV-1, subtyp B, ředěný v HIV-1 negativní lidské plazmě dle dokumentu CLSI EP06-A (38). Koncentrace v panelech spadaly do rozsahu 1,30 až 7,30 $\log_{10}$ kopií/ml. Testování bylo provedeno na sedmi systémech Panther s použitím dvou šarží reagensů. Jak znázorňuje Obrázek 6, test Aptima Quant HIV-1 Dx prokázal linearitu v testovaném rozsahu.



Obrázek 6. Linearita testu Aptima HIV-1 Quant Dx

Linearita u subtypů a skupin HIV-1

Lineární odpověď pro test Aptima HIV-1 Quant Dx ve skupině M (subtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) a skupinách N a O byla potvrzena testováním panelů, které zahrnovaly HIV-1 transkript naředěný v pufru v koncentracích v rozsahu 2,00 až 6,70 $\log_{10}$ kopií/ml. Testování bylo provedeno na čtyřech systémech Panther a v šesti zpracováních. Linearita byla prokázána v testovaném rozsahu (Obrázek 7).



Obrázek 7. Linearita ve skupině M (subtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) a skupinách N a O

Stanovení spodního limitu kvantifikace pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO

Spodní limit kvantifikace (LLOQ) je definován jako nejnižší koncentrace, při které je RNA HIV-1 spolehlivě kvantifikována s celkovou chybou (TE) dle dokumentu CLSI EP17-A2 (37). Chyba TE byla vypočtena za použití Westgardova modelu ($TE = |\text{zkreslení}| + 2SD$). Aby byly zajištěny přesnost a preciznost měření, byla chyba TE testu Aptima HIV-1 Quant Dx nastavena na úroveň $1 \log_{10}$ kopií/ml (tzn. LLoQ, rozdíl mezi dvěma měřeními více než $1 \log_{10}$ kopií/ml je statisticky významný).

LLOQ byl stanoven testováním panelů, které zahrnovaly ředění 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO (subtyp B, kód NIBSC: 10/152) v HIV-1 negativní lidské EDTA plazmě. Dle dokumentu CLSI EP17-A2 byly panely testovány se třemi šaržemi reagensů v replikátech po 30 pro každou šarži z 23 zpracování. Výsledky uvádí Tabulka 5. Nejvyšší limit LLoQ ve třech šaržích testovaných pomocí testu Aptima HIV-1 Quant Dx za použití 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO je 15 kopií/ml ($1,17 \log_{10}$ kopií/ml) (Tabulka 6).

Tabulka 5: Stanovení LLoQ pro test Aptima HIV-1 Quant Dx za použití 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO

Šarže reagensie	Cílová koncentrace ($\log_{10}$ kopie/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ kopie/ml)	SD ($\log_{10}$ kopie/ml)	Odchylka ($\log_{10}$ kopie/ml)	Vypočtená TE ($\log_{10}$ kopie/ml)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

SD = směrodatná odchylka, TE = celková chyba.

Tabulka 6: : Souhrn LLoQ pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO (3 šarže reagensů)

Šarže reagensie	LLoQ (log ₁₀ kopií/ml)	LLoQ (kopie/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Ověření LLoQ u subtypů a skupin HIV-1

LLoQ u různých subtypů a skupin HIV-1 byl ověřen dle dokumentu CLSI EP17-A2 (37). Byly vytvořeny panely pro každou skupinu M HIV-1 (subtypy A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) a skupiny N a O doplněním poolu HIV-1 negativní lidské EDTA plazmy o přirozeně infikované klinické vzorky nebo klinické izoláty. Testování zahrnovalo celkem 30 replikátů na člena panelu. Údaje, které uvádí Tabulka 7 představují nejnižší koncentraci pro každý subtyp nebo skupinu, kde byla chyba TE nižší než 1 log₁₀ kopií/ml. Nejvyšší LLoQ pro všechny testované subtypy a skupiny byl 30 kopií/ml. Tato vyšší hodnota byla zvolena jako limit LLoQ pro test Aptima HIV-1 Quant Dx (Tabulka 7).

Tabulka 7: Ověření LLoQ dle subtypu nebo skupiny HIV-1

Prvek	LLoQ (kopie/ml)
Subtyp A	30
Subtyp CRF01_AE	10
Subtyp CRF02_AG	30
Subtyp B	10
Subtyp C	30
Subtyp D	15
Subtyp F	15
Subtyp G	30
Skupina N	10
Skupina O	15

Preciznost

V rámci hodnocení preciznosti testu Aptima HIV-1 Quant Dx byl panel vytvořený doplněním kultivovaného viru HIV-1, subtyp B, do HIV-1 negativní EDTA plazmy testovaný třemi laboranty za použití tří šarží reagensů na třech systémech Panther během 20 dnů (Tabulka 8). Panel sestával z jednoho HIV-1 negativního člena panelu a osmi HIV-1 pozitivních členů panelu. Přiřazení koncentrace pro klinické vzorky nebo kultivované viry bylo určeno pomocí srovnávacího testu.

Tabulka 8: Preciznost testu Aptima HIV-1 Quant Dx

Počet validních replikátů	Průměrná koncentrace (log ₁₀ kopie/ml)	Mezi přístroji		Mezi operátory		Mezi šaržemi		Mezi zpracováními		V rámci zpracování		Celkem	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = variační koeficient, SD = směrodatná odchylka

^a Tento člen panelu byl naředěn v poměru 1 : 3 pomocí roztoku k ředění vzorků a otestován s cílem vyhodnotit preciznost naředěného vzorku.

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Pokud k tomu dojde, SD = 0 a CV = 0 %. Celkový počet testovaných replikátů byl 162 pro každý panel. Analyzovány byly pouze replikáty s numerickou hodnotou.

Potenciálně interferující endogenní a exogenní látky

Byla vyhodnocena citlivost testu Aptima HIV-1 Quant Dx na interferenci zvýšených hladin endogenních látek a léků běžně předepisovaných u osob infikovaných HIV-1. Testovány byly vzorky HIV-1 negativní lidské EDTA plazmy a vzorky doplněné o HIV-1 do koncentrace $3 \log_{10}$ kopií/ml RNA HIV-1.

Nebyla zjištěna žádná interference ve funkci testu Aptima HIV-1 Quant Dx v přítomnosti albuminu (90 mg/ml), hemoglobinu (5 mg/ml), triglyceridů (30 mg/ml) nebo nekonjugovaného bilirubinu (0,2 mg/ml).

Nebyla zjištěna žádná interference ve funkci testu Aptima HIV-1 Quant Dx v přítomnosti exogenních látek, které uvádí Tabulka 9, v koncentracích odpovídajících minimálně trojnásobku $C_{\max}$ (lidská plazma).

Tabulka 9: Exogenní látky

Pool exogenních látek	Testované exogenní látky
1	Lopinavir, indinavir, sachinavir, ritonavir, nelfinavir mesilát, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, klarithromycin, amfotericin B
3	Tenofovir disoproxil fumarát, adefovir dipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maravirok, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavir sulfát, didanosin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entekavir, telbivudin, emtricitabin
5	Paroxetin HCl, fluoxetin, sertralin
6	Ganciklovir, valaciklovir, aciklovir, rifampin/rifampicin, ethambutol
7	Ciprofloxacin, azithromycin, amoxicilin, cefalexin, ampicilin, trimethoprim
8	Valganciklovir hydrochlorid, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegylovaný interferon alfa -2b, interferon alfa -2a, interferon alfa -2b
10	Heparin, EDTA, citrát sodný
11	Tipranavir
12	Isoniazid

Klinické vzorky plazmy, které uvádí Tabulka 10, od pacientů se zvýšenými hladinami definovaných látek nebo od pacientů s uvedenými onemocněními byly testovány pomocí testu Aptima HIV-1 Quant Dx s přítomností 3 log₁₀ kopií RNA HIV-1 nebo bez nich. Nebyla pozorována žádná interference ve funkci.

Tabulka 10: Typy testovaných klinických vzorků

Typy klinických vzorků	
1	Revmatoidní faktor (RF)
2	Antinukleární protilátky (ANA)
3	Protilátky anti-Jo-1 (JO-1)
4	Systémový lupus erythematoses (SLE)
5	Revmatoidní artritida (RA)
6	Roztroušená skleróza (MS)
7	Hyperglobulinemie
8	Zvýšená alaninaminotransferáza (ALT)
9	Alkoholická cirhóza (AC)
10	Mnohočetný myelom (MM)
11	Lipemie (zvýšená hladina lipidů)
12	Ikterus (zvýšený bilirubin)
13	Hemolýza (zvýšený hemoglobin)
14	Zvýšený protein albumin
15	Protilátky proti HCV
16	Protilátky proti HBV
17	Protilátky proti HIV-2

Funkce s HIV-1 negativními vzorky

Specifická testu Aptima HIV-1 Quant Dx byla stanovena pomocí 120 čerstvých a 510 zmrazených vzorků HIV-1 negativní EDTA plazmy. RNA HIV-1 nebyla detekována v žádném z 630 vzorků (specifická 100 %; 95 % CI: 99,4–100 %) (Tabulka 11).

Tabulka 11: Specifická ve vzorcích plazmy

	Čerstvá plazma	Zmrazená plazma	Vše
Platných replikátů (n)	120	510	630
Nereaktivní	120	510	630
Specifická (95 % CI)	100 % (97,0–100)	100 % (99,3–100)	100 % (99,4–100)

CI = interval spolehlivosti

Potenciálně interferující mikrobiální kontaminanty

Potenciální křížová reaktivita s patogeny (Tabulka 12) byla hodnocena u testu Aptima HIV-1 Quant Dx v přítomnosti nebo nepřítomnosti 3 log₁₀ kopií/ml RNA HIV-1 v HIV-1 negativní lidské EDTA plazmě. V přítomnosti patogenů nebyla zjištěna žádná interference ve funkci testu.

Tabulka 12: Patogeny testované na křížovou reaktivitu

Patogen	Koncentrace
Virus hepatitidy A	100 000 PFU/ml ^a
Virus hepatitidy B	100 000 IU/ml ^b
Virus hepatitidy C	100 000 IU/ml
Virus hepatitidy G	100 000 kopií/ml
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	100 000 PFU/ml
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	75 000 PFU/ml
Lidský herpes virus 6	100 000 kopií/ml
Lidský herpes virus 8	42 000 PFU/ml
HIV-2	5 500 PFU/ml
Lidský T-buněčný lyfotropický virus (HTLV)	100 000 vp/ml ^c
Virus západonilské horečky	100 000 kopií/ml
Parvovirus B19	100 000 IU/ml
Cytomegalovirus	100 000 kopií/ml
Epstein-Barr virus	100 000 kopií/ml
Adenovirus typu 5	100 000 PFU/ml
Virus Dengue	100 000 kopií/ml
Virus influenzy A	100 000 PFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CFU/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 IFU/ml ^e
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CFU/ml

^a PFU/ml = jednotky tvořící plaky na ml.^b IU/ml = mezinárodní jednotky na ml.^c vp/ml = virové částičky na ml.^d CFU/ml = jednotky tvořící kolonie na ml.^e IFU/ml = jednotky tvořící inkluze na ml.

Opakovatelnost klinických vzorků

Deset klinických vzorků EDTA plazmy a deset vzorků séra bylo testováno ve třech replikátech pomocí testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Průměrnou koncentraci a směrodatnou odchylku (SD) uvádí Tabulka 13 a Tabulka 14.

Tabulka 13: Opakovatelnost klinických vzorků plazmy

Vzorek	Plazma	
	Průměrná koncentrace (log ₁₀ kopie/ml)	SD
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00

SD = směrodatná odchylka.

Tabulka 14: Opakovatelnost klinických vzorků séra

Vzorek	Sérum	
	Průměrná koncentrace (log ₁₀ kopie/ml)	SD
1	1,68	0,10
2	2,44	0,19
3	3,08	0,03
4	3,37	0,06
5	4,05	0,04
6	4,55	0,06
7	5,06	0,04
8	5,49	0,05
9	6,28	0,02
10	6,79	0,04

SD = směrodatná odchylka.

Ředění vzorků pomocí roztoku k ředění vzorků

K hodnocení ředění vzorků byl testován panel sestávající z 11 vzorků s koncentracemi v lineárním rozsahu testu Aptima HIV-1 Quant Dx zahrnující dva vzorky nad horním limitem kvantifikace testu v čisté formě a naředěné formě (1 : 3 nebo 1 : 100 v roztoku k ředění vzorků) v triplicátu (Tabulka 15).

Tabulka 15: Ředění vzorků

Ředění	Průměrná čistá koncentrace (log ₁₀ kopie/ml)	Průměrná hlášená koncentrace ^a (log ₁₀ kopie/ml)	Rozdíl
1 : 3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^b	2,19	-0,27
1 : 100	> 7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1 : 100	> 7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

^a Hlášená koncentrace je hodnota uváděná systémem Panther po použití faktoru ředění.

^b Obohacený vzorek.

^c Všechny výsledky > 7,00 log₁₀ kopií/ml byly odhadovány pomocí další analýzy.

Přenos

Aby se zjistilo, zda systém Panther minimalizuje riziko falešně pozitivních výsledků vyplývajících z přenosu kontaminace, byla provedena vícenásobná analytická studie s využitím doplněných panelů ve dvou systémech Panther. Přenos byl hodnocen pomocí doplněných vzorků s vysokým titrem HIV-1 (7 log₁₀ kopií/ml) rozdělených mezi HIV-1 negativní vzorky v šachovnicovém vzorci. Testování bylo provedeno v pěti zpracováních. Celková míra přenosu byla 0 % (n = 469).

Panel sérokonverze

19 HIV-1 souborů panelu sérokonverze zahrnujících 204 vzorků bylo testováno pomocí testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Detekce RNA HIV-1 byla srovnána s detekcí pomocí antigenových testů p24 a pomocí protilátkových testů HIV-1/2. Počet dnů do prvního reaktivního výsledku pomocí antigenových testů p24, protilátkových testů anti-HIV 1/2 a testu Aptima HIV-1 Quant Dx uvádí Tabulka 16. Test Aptima HIV-1 Quant Dx detekoval RNA HIV-1 v průměru 5,58 dne před antigenovým testem p24 a 11,16 dne před protilátkovými testy anti-HIV 1/2.

Tabulka 16: Souhrn údajů panelu sérokonverze

ID panelu	Počet testovaných členů panelu	Počet reaktivních členů panelu			Počet dnů do prvního reaktivního výsledku			Rozdíl ve dnech do prvního reaktivního výsledku (na základě data krvácení)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigen p24 HIV	Protilátka anti-HIV 1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigen p24 HIV	Protilátka anti-HIV 1/2	Počet dnů dřívější detekce před antigenem p24 HIV	Počet dnů dřívější detekce před protilátkou anti-HIV 1/2
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6 243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6 247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9 016	10	3	2	0	27	30	34a	3	7
9 018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9 020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9 021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9 023	22	5	3	0	71	78	85a	7	14
9 030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9 034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9 089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12 008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975b	5	3	1	0	7	14	14a	7	7
PRB978b	7	3	1	0	26	33	33a	7	7
Celkem	204	82	51	20			Průměr Medián	5,58 7	11,16 12

^a Všechna krvácení v tomto panelu byla nereaktivní na protilátku anti-HIV 1/2. Poslední krvácení bylo použito jako „Počet dní do prvního reaktivního výsledku“.

Testování protilátek anti-HIV 1/2 bylo provedeno pomocí testu Abbott Anti-HIV 1/2 s následujícími výjimkami:

^b Panely PRB974, PRB975 a PRB978 byly testovány pomocí testu Siemens Anti-HIV 1/2.

Antigenové testování p24 HIV-1 bylo provedeno pomocí testu Coulter HIV-1 p24 Ag s následujícími výjimkami:

^b Panely PRB974, PRB975 a PRB978 byly testovány pomocí testu BioMerieux p24 Ag.

Studie ekvivalence séra, plazmy

K vyhodnocení ekvivalence byly testovány přiřazené vzorky séra a plazmy (25 HIV-1 pozitivních a 25 HIV-1 negativních) a 40 vzorků doplněných o kultivovaný HIV-1 (50–1 000 000 kopií/ml v HIV-1 negativní plazmě a séru) pomocí testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Negativní shoda byla 100,0 % (95 % CI: 97,0 % – 100,0 %). Pozitivní shoda byla 98,4 % (95 % CI: 95,4 % – 99,5 %).

Studie reprodukovatelnosti

Reprodukovatelnost u vzorků plazmy

Reprodukovatelnost testu Aptima HIV-1 Quant Dx u vzorků plazmy byla hodnocena na 3 externích pracovištích. Na každém pracovišti testy prováděli dva laboranti. Každý laborant prováděl 2 série měření denně po dobu 3 dnů, a to se 3 šaržemi reagentů. Každá série měření zahrnovala 3 replikáty každého prvku panelu.

Reprodukovatelnost byla testována pomocí členů panelu, které obsahovaly HIV-1 negativní EDTA plazmu. Pozitivní členy panelu byly vytvořeny obohacením negativní plazmy o kultivovaný virus (HIV-1, subtyp B) v koncentracích v lineárním rozsahu testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabulka 17 ukazuje reprodukovatelnost a preciznost výsledků testu u jednotlivých pozitivních členů panelu mezi pracovišti, mezi laboranty, mezi šaržemi, mezi dny, mezi sériemi měření, v rámci série měření a celkově. Pokud byly zahrnuty pouze vzorky s výsledky nad spodním limitem kvantifikace (LLoQ) (vzorky s výsledky pod LLoQ byly vyloučeny), byla celková SD $\leq 0,2 \log_{10}$ kopií/ml pro všechny členy panelu. Pokud byly zahrnuty všechny vzorky s detekovatelnou RNA HIV-1, celkové hodnoty SD zůstaly nezměněné s výjimkou členu panelu 1, který měl celkovou SD $0,3 \log_{10}$ kopie/ml.

U všech HIV-1 pozitivních členů panelu byla shoda 100 %. U HIV-1 negativních členů panelu bylo testováno 108 replikátů a u žádného ze 108 replikátů nebyla detekována RNA HIV-1 (negativní shoda = 100 %, 95 % skóre CI: 96,6 % až 100 %).

Tabulka 17: Reprodukovatelnost a preciznost testu Aptima HIV-1 Quant Dx na systému Panther u pozitivních členů panelu v plazmě

Prvek	N ^a	Průměr Log10 kopie/ml	Mezi pracovišti		Mezi uživateli		Mezi šaržemi		Mezi dny		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
1	107	1,71 ^b	0,05	2,66	0,07	4,10	0,07	4,09	0,00	0,00	0,17	9,90	0,25	14,62	0,32	18,77
	85 ^c	1,84	0,07	3,51	0,00	0,00	0,02	0,97	0,00	0,00	0,06	3,07	0,17	8,98	0,19	10,17
2	108	2,94	0,08	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	1,49	0,00	0,00	0,11	3,69	0,14	4,83
3	108	3,84	0,07	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,95	0,04	0,98	0,06	1,62	0,11	2,75
4	108	4,94	0,08	1,52	0,00	0,00	0,03	0,57	0,03	0,50	0,05	1,01	0,06	1,18	0,11	2,30
5	108	5,71	0,07	1,26	0,00	0,00	0,01	0,22	0,05	0,85	0,04	0,77	0,07	1,23	0,12	2,11
6	108 ^d	6,71	0,05	0,80	0,00	0,00	0,02	0,32	0,03	0,43	0,07	1,03	0,06	0,85	0,11	1,65

CV = variační koeficient, SD = směrodatná odchylka.

^a Počet platných výsledků testu s detekovatelnou RNA HIV-1.

^b Zahrnuje 22 replikátů hlášených jako < 1,47 log₁₀ kopií/ml. Tento vzorek má přiřazenou hodnotu 1,176 log₁₀ kopií/ml.

^c Počet platných výsledků v lineárním rozsahu testu.

^d Zahrnuje jeden replikát hlášený jako > 7 log₁₀ kopií/ml. Tento vzorek má přiřazenou hodnotu 7,18 log₁₀ kopií/ml.

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní. To může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá (menší než 0,01). V takových případech je hodnota SD a CV uvedena jako 0.

Reprodukovatelnost u vzorků séra

Reprodukovatelnost testu Aptima HIV-1 Quant Dx u vzorků séra byla hodnocena na 3 externích pracovištích. Na každém pracovišti testy prováděli dva laboranti. Každý laborant prováděl 1 sérii měření denně po dobu 5 dnů, a to s 1 šarží reagensů. Každá série měření zahrnovala 3 replikáty každého prvku panelu.

Reprodukovatelnost byla testována pomocí členů panelu připraveného pomocí HIV-1 negativního séra. Dva pozitivní členy panelu byly vytvořeny obohacením negativní sérové matrice o 3x – 5x LoD a 10x LoD koncentrace kultivovaného viru (HIV-1, subtyp B).

Tabulka 18 ukazuje reprodukovatelnost a preciznost výsledků analýzy u jednotlivých pozitivních prvků panelu mezi pracovišti, mezi operátory, jednotlivými dny, mezi cykly, v rámci cyklů a celkově.

U všech HIV-1 pozitivních členů panelu byla shoda 100 %. U HIV-1 negativních členů panelu bylo testováno 90 replikátů a u 89/90 replikátů nebyla detekována RNA HIV-1 (negativní shoda = 98,9 %, 95 % skóre CI: 94,0 % až 99,8 %).

Tabulka 18: Reprodukovatelnost a preciznost testu Aptima HIV-1 Quant Dx na systému Panther u pozitivních členů panelu v séru

Prvek	N	Střední hodnota (log ₁₀ kopií/ml)	Mezi pracovišti		Mezi uživateli		Mezi dny		Mezi cykly		V rámci cyklu		Celkem	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
1	90	1,34	0,07	5,41	0,00	0,00	0,04	2,63	0,00	0,00	0,22	16,26	0,23	17,34
2	89	1,95	0,05	2,41	0,02	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	9,67	0,20	10,01

CV = logaritmicko-normální variační koeficient, SD = směrodatná odchylka (log₁₀ kopií/ml).

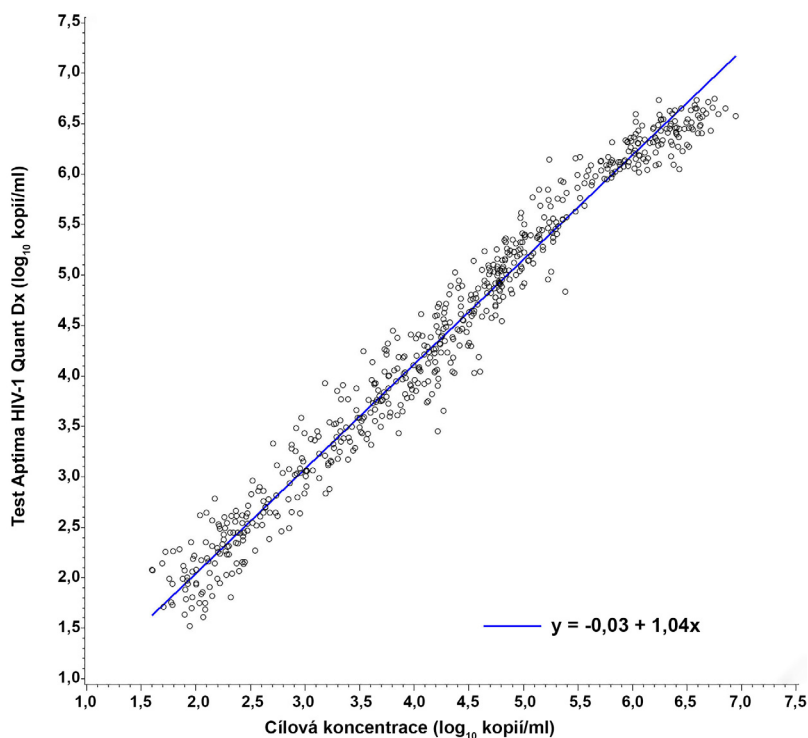
Poznámka: Variabilita některých koeficientů může dosahovat záporných číselných hodnot. K tomu dochází v případě, že je variabilita u těchto faktorů velmi nízká. V takových případech je hodnota SD a CV uvedena jako 0,00.

Klinická funkčnost

Validace kvantifikace virové nálože

Kvantifikace RNA HIV-1 byla porovnávána mezi testem Aptima HIV-1 Quant Dx a srovnávacím testem. Studie zahrnovala testování klinických vzorků EDTA plazmy (skladovaných jako čerstvé nebo zmrazené) a uměle připravených vzorků (klinické vzorky negativní plazmy obohacené o kultivovaný virus). Každý vzorek byl testován v duplikátu testem Aptima HIV-1 Quant Dx a srovnávacím testem. Test Aptima HIV-1 Quant Dx byl proveden na 3 externích pracovištích, přičemž každé pracoviště použilo 3 šarže soupravy reagensů. Srovnávací test byl proveden v 1 externí laboratoři.

Testem Aptima HIV-1 Quant Dx a srovnávacím testem bylo testováno 628 odpovídajících sad vzorků (s lineárním rozsahem obou testů) získaných od 484 zařazených subjektů a 144 uměle připravených vzorků. Obrázek 8 zobrazuje výsledky Demingovy regresní analýzy ($y = -0,03 + 1,04x$).



Obrázek 8. Korelace mezi testem Aptima HIV-1 Quant Dx a srovnávacím testem

Studie klinické specificity

Klinická specificita u HIV-1 negativních vzorků

Dříve zmrazené vzorky HIV-1 negativní EDTA plazmy získané od dobrovolných dárců plné krve byly testovány testem Aptima HIV-1 Quant Dx. Testování bylo provedeno se 3 šaržemi souprav reagensů na 3 externích pracovištích. Klinická specificita byla vypočtena jako procento HIV-1 negativních vzorků s výsledky „Nedetekováno.“ Bylo testováno 600 vzorků HIV-1 negativní plazmy a u žádného z 600 vzorků nebyla detekována RNA HIV-1. Specificita vzorků negativní plazmy byla 100 % (600/600, 95 % skóre CI: 99,4 % až 100 %).

Klinická specificita u populace s nízkým rizikem

Dříve zmrazené vzorky získané od prvdárců krve a dárců jiných složek s nízkým rizikem infekce HIV-1 byly testovány testem Aptima HIV-1 Quant Dx. Testování bylo provedeno s 1 šarží souprav reagensů na 1 externím pracovišti. Klinická specificita byla vypočtena porovnáním výsledků testu Aptima HIV-1 Quant Dx s výsledky testu NAT.

Tabulka 19: zobrazuje specificitu testu Aptima HIV-1 Quant Dx u populace s nízkým rizikem podle typu vzorku.

Tabulka 19: Klinická specificita testu Aptima HIV-1 Quant Dx u populace s nízkým rizikem podle typu vzorku

Typ vzorku	n	TP	FP	TN	FN	Specificita % (95 % CI) ^a
Vše	911	4	3	902	2	99,7 (99,0; 99,9)
Sérum	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plazma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, FP = falešně pozitivní, TN = pravdivě negativní, TP = pravdivě pozitivní.

^a Clopperův–Pearsonův CI.

^b 1 ze 2 vzorků séra s falešně pozitivními výsledky byl pozitivní při testování pomocí kombinovaného imunostanovení antigen/protilátka HIV-1/HIV-2 4. generace.

Studie klinické citlivosti

Klinická citlivost u HIV-1 pozitivních vzorků

Dříve zmrazené HIV-1 pozitivní vzorky byly testovány testem Aptima HIV-1 Quant Dx. Testování bylo provedeno se 2 šaržemi souprav reagensů na 3 pracovištích zahrnujících i 2 externí pracoviště.

Tabulka 20 zobrazuje citlivost testu Aptima HIV 1 Quant Dx u pozitivních vzorků podle typu vzorku.

Tabulka 20: Klinická citlivost testu Aptima HIV-1 Quant Dx u HIV-1 pozitivních vzorků podle typu vzorku

Typ vzorku	n	TP	FN	Citlivost % (95 % CI) ^a
Vše	1 572	1 565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Sérum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plazma	1 048	1 045	3	99,7 (99,2, 99,9)

CI = interval spolehlivosti, FN = falešně negativní, TP = pravdivě pozitivní.

^a Clopperův–Pearsonův CI.

Klinická citlivost u populace s vysokým rizikem

Byly testovány prospektivně odebrané vzorky od jedinců s vysokým rizikem infekce HIV-1 testem Aptima HIV-1 Quant Dx. Testování bylo provedeno s 1 šarží soupravy reagensů na 3 pracovištích zahrnujících i 2 externí pracoviště. Klinická citlivost byla vypočtena porovnáním výsledků testu Aptima HIV-1 Quant Dx s výsledky testu NAT.

Z 498 hodnotitelných vzorků bylo 332 vzorků plazmy a 166 vzorků séra. Klinická citlivost byla 100 % (1/1, 95 % CI: 20,7 % až 100 %) ve vzorcích séra. Citlivost nemohla být hodnocena u vzorků plazmy, protože nebyly pozorovány žádné vzorky s pravdivě pozitivními ani falešně negativními výsledky testu.

Pozitivita u sérodiskordantních vzorků

Dříve zmrazené sérodiskordantní vzorky (tj. opakovaně reaktivní na původním imunostanovení HIV a neurčité nebo negativní na doplňkovém imunostanovení) byly získány od dárců krve a dárců jiných složek a testovány testem Aptima HIV-1 Quant Dx. Ze 473 hodnotitelných vzorků bylo 76 vybráno ze sérokonverzních panelů. Testování bylo provedeno se 2 šaržemi souprav reagensů na 1 interním pracovišti. Byla vypočtena pozitivita pro sérodiskordantní vzorky testované testem Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabulka 21 zobrazuje pozitivitu testu Aptima HIV-1 Quant Dx v sérodiskordantních vzorcích podle skupiny vzorku, typu doplňkové testu na HIV a výsledku doplňkového testu na HIV.

Tabulka 21: Pozitivita testu Aptima HIV-1 Quant Dx u sérodiskordantních vzorků

Typ doplňkového testu	Typ doplňkového testu	Pozitivita % (n/N) 95 % CI ^a		
		Skupina panelu bez sérokonverzí		Skupina panelu bez sérokonverzí
		3. gen	4. gen	4. gen
HIV-1/2 imunochromatografický	Negativní	Není k dispozici	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (6/6) 61,0–100
HIV-1/2 imunochromatografický	Neurčitý	Není k dispozici	100 (1/1) 20,7–100	100 (1/1) 20,7–100
HIV-1/2 rychlý	Negativní	Není k dispozici	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (24/24) 86,2–100
HIV-1/2 rychlý	Neurčitý	Není k dispozici	0,0 (0/2) 0,0–65,8	Není k dispozici
HIV-1 WB nebo IFA	Negativní	0,4 (1/239) 0,1–2,3	100 (4/4) 51,0–100	100 (35/35) 90,1–100
HIV-1 WB nebo IFA	Neurčitý	0,0 (0/128) 0,0–2,9	100 (1/1) 20,7–100	100 (10/10) 72,2–100

3. gen = třetí generace imunostanovení, 4. gen = čtvrtá generace imunostanovení, CI = interval spolehlivosti, IFA = nepřímý imunofluorescenční test, N/A = nevztahuje se, WB = Western blot.
askóre CI.

Literatura

1. **Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziou, W. Rozenbaum, and L. Montagnier.** 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**: 868–871.
2. **Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo.** 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**: 497–500.
3. **Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham.** 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**: 500–503.
4. **Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann.** 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**: 573–579.
5. **Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo.** 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**: 506–508.
6. **Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey.** 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**: 1291–1294.
7. **Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier.** 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**: 343–346.
8. **DeCock, KM, Jaffe, HW, Curran, JW** The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
9. **Gaines, H., M. A. von Sydow, and L.V. von Stedingk.** 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**: 995–999.
10. **Tindall, B., and D. A. Cooper.** 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**: 1–14.
11. **Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho.** 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**: 961–964.
12. **Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker.** 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**: 954–960.
13. **Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo.** 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**: 107–112.
14. **Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al.** 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**: 637–640.
15. **Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci.** 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**: 305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. **Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H.C.** 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**: 438–443.
17. **Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci.** 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**: 327–335.
18. **Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson.** 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**: 1749–1754.
19. **Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo.** 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**: 678–693.
20. **Coffin, J. M.** 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**: 483–489.
21. **Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz.** 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**: 123–126.
22. **Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al.** 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**: 117–122.
23. **O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton.** 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**: 426–431.
24. **Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker.** 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**: 696–703.

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**: 704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**: 2557–2564.
27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**: 292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**: 1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**: 177–187.
31. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3): 224–243.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
33. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
34. **29 CFR Part 1910,1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Kontaktní údaje a historie revizí



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



Hologic BV
Da Vinciilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australský zadavatel
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

E-mailovou adresu a telefonní číslo oddělení technické podpory a zákaznických služeb ve vaší zemi najdete na adrese www.hologic.com/support.

Závažné události, ke kterým dojde v souvislosti s prostředkem v Evropské unii, by měly být hlášeny výrobci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém je uživatel a/nebo pacient usazen.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a související loga jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti Hologic, Inc., nebo jejích dceřiných společností v USA nebo v jiných zemích.

Armored RNA je ochranná známka společnosti Asuragen, Inc.

Veškeré ostatní ochranné známky, které se mohou vyskytnout v této příbalové informaci, jsou majetkem příslušných vlastníků.

Tento produkt může být krytý jedním či více patenty USA uvedenými na webové stránce www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-28214-2601 Revize 002

2025-10

Historie revizí	Datum	Popis
AW-28214-2601 Revize 001	Duben 2025	• První vydání pro splnění požadavků nařízení IVDR.
AW-28214-2601 Revize 002	Říjen 2025	• Tato verze je v souladu s AW-28214-001 Rev. 002 a Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).