

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Návod na použitie
Na diagnostické použitie *in vitro*
Len na export z USA

Všeobecné informácie	3
Určené použitie	3
Zhrnutie a vysvetlenie testu	3
Princípy postupu	4
Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu	5
Varovania a bezpečnostné opatrenia	5
Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensmi	9
Odber vzoriek a skladovanie	10
Vzorky v systéme Panther	13
Transport vzoriek	13
Systém Panther	14
Poskytnuté reagensie a materiály	14
Potrebné materiály, ale dostupné samostatne	16
Voliteľné materiály	17
Postup testovania v systéme Panther	17
Poznámky k postupu	21
Kontrola kvality	22
Kalibrácia testu	22
Negatívne a pozitívne kontroly	22
Interný kalibrátor/interná kontrola	22
Interpretácia výsledkov	23
Obmedzenia	24
Analytický výkon	25
Limit detekcie (LoD) podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1	25
Limit detekcie u rôznych subtypov a skupín HIV-1	26
Lineárny rozsah	27
Linearita u subtypov a skupín HIV-1	28
Stanovenie spodného limitu kvantifikácie pomocou 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1	29
Verifikácia LLoQ u rôznych subtypov a skupín HIV-1	30
Presnosť	31
Potenciálne interferujúce endogénne a exogénne látky	32
Výkon u HIV-1 negatívnych vzoriek	34
Potenciálne interferujúce mikrobiálne kontaminanty	34
Opakovateľnosť klinických vzoriek	36
Riedenie vzorky pomocou prípravku na riedenie vzoriek	37
Prenos	37
Panel sérokonverzie	38
Štúdia ekvivalencie pre sérum, plazmu	39
Štúdie reprodukovateľnosti	39

Klinický výkon	42
Validácia kvantifikácie vírusovej nálož	42
Štúdie klinickej špecificity	43
Štúdie klinickej senzitivity	43
Pozitivita v nezhodujúcich sa vzorkách séra	44
Literatúra	45
Kontaktné údaje a história revízií	47

Všeobecné informácie

Určené použitie

Test Aptima® HIV-1 Quant Dx je in vitro test založený na amplifikácii nukleových kyselín na detekciu a kvantifikáciu RNA ľudského vírusu imunodeficiencie typu 1 (HIV-1) skupín M, N a O na plne automatizovanom systéme Panther™. Je určený na použitie ako pomôcka pri diagnostike infekcie HIV-1, na potvrdenie infekcie HIV-1 a ako pomôcka pri klinickej liečbe pacientov infikovaných HIV-1.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx je možné použiť ako pomôcku pri diagnostike infekcie HIV-1 vrátane akútnej alebo primárnej infekcie. Prítomnosť HIV-1 RNA v plazme alebo sére pacientov bez protilátok proti HIV-1 svedčí o akútnej alebo primárnej infekcii HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx je možné použiť ako doplnkový test u vzoriek s opakovane reaktívnymi výsledkami získanými pomocou schválených HIV imunoanalýz. Ak je vzorka reaktívna v teste Aptima HIV-1 Quant Dx, infekcia HIV-1 je potvrdená.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx je možné použiť aj v kombinácii s klinickou prezentáciou a ďalšími laboratórnymi markermi prognózy ochorenia u jedincov infikovaných HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx je možné použiť ako pomôcku pri sledovaní účinku antiretrovírusovej terapie na meranie zmien v koncentrácii HIV-1 RNA v plazme.

Ak sa test Aptima HIV-1 Quant Dx používa ako pomôcka pri diagnostike infekcie HIV-1, výkonnosť kvalitatívnych výsledkov sa stanovuje pri vzorkách plazmy aj séra.* Ak sa používa ako pomôcka pri monitorovaní účinku antiretrovírusovej terapie, výkonnosť kvantitatívnych výsledkov je stanovená iba na základe vzoriek plazmy. Vzorky séra je zakázané používať pre kvantitatívne výsledky.

Tento test nie je určený na použitie pri screeningu darcov krvi alebo plazmy.

**S testom Aptima HIV-1 Quant Dx je možné takisto použiť vzorky suchej kvapky krvi (DBS). Kompletný opis určeného použitia a informácie o vzorkách DBS nájdete v dodatku o vzorkách suchej kvapky krvi k príbalovému letáku testu Aptima HIV-1 Quant Dx.*

Zhrnutie a vysvetlenie testu

Epidemiologické štúdie identifikovali vírus ľudskej imunodeficiencie typu 1 (HIV-1) ako etiologickú reagenziu syndrómu získanej imunodeficiencie (AIDS) (1-7). HIV sa môže prenášať sexuálnym stykom, expozíciou infikovanej krvi alebo krvným produktom alebo prenosom z matky na dieťa (8). Do 3 až 6 týždňov od expozície HIV sa u infikovaných jedincov vo všeobecnosti rozvinie krátky, akútny syndróm charakterizovaný chrípkovými príznakmi a je spojený s vysokými hladinami virémie v periférnej krvi (9-12). U väčšiny infikovaných jedincov je táto skorá fáza nasledovaná imunitnou odpoveďou špecifickou pre HIV a poklesom plazmatickej virémie, a to obvykle do 4 až 6 týždňov od rozvoja príznakov (13-14). Po sérokonverzii prechádzajú infikovaní jedinci typicky do klinicky stabilnej asymptomatickej fázy, ktorá môže trvať roky (15-17). Asymptomatické obdobie je charakterizované perzistentnou plazmatickou virémiou nízkej úrovne (18) a globálnou depléciou CD4+ T lymfocytov. Táto deplécia vedie k závažnej imunodeficiencii, niekoľkým oportúnnym infekciám, malignitám a úmrtiu (19). Aj keď sú hladiny vírusu v periférnej krvi relatívne nízke v priebehu asymptomatickej fázy infekcie, replikácia a klírens vírusu sa zdajú byť dynamickými procesmi, kedy je vysoká tvorba vírusu a miera infikovania CD4+ buniek vyvážená rovnako vysokou rýchlosťou odstraňovania vírusu, ničením infikovaných buniek a dopĺňovaním CD4+ buniek, čo vedie k relatívne stabilným hladinám plazmatickej virémie aj CD4+ buniek (20-22).

Kvantitatívne merania HIV v periférnej krvi preukázali, že vyššie hladiny vírusu môžu korelovať so zvýšeným rizikom klinickej progresie ochorenia spojeného s HIV, a bolo preukázané, že pokles plazmatických hladín vírusu môže byť spojený so zníženým rizikom klinickej progresie (23-25). Hladiny vírusu v periférnej krvi je možné kvantifikovať meraním antigénu HIV p24 v sére, kvantitatívnou kultiváciou HIV z plazmy alebo priamym meraním vírusovej RNA v plazme pomocou amplifikácie nukleových kyselín alebo technológií na amplifikáciu signálu (26-30).

Molekulárne techniky, ako amplifikácia mediovaná transkripciou (TMA), boli vo veľkej miere používané na amplifikáciu nukleových kyselín (31). TMA používa záchyt špecifického cieľa a izotermálnu amplifikáciu na detekciu nukleových kyselín u mnohých infekčných chorôb vrátane CT, NG, HPV, TV a HIV/HCV/HBV pri testovaní darcov krvi (32).

Test Aptima HIV-1 Quant Dx používa v rámci TMA niekoľko dlhých primérov zameraných proti niekoľkým oblastiam genómu HIV-1 na kompenzáciu vysokej miery mutácie HIV-1. Test zahŕňa systém amplifikácie a detekcie dvoch cieľov, ktorý sa nezávisle zameriava na dva regióny HIV-1 genómu (pol a LTR). Softvér testu nepriemeruje signály z týchto dvoch systémov.

Systém dvoch cieľov Aptima je navrhnutý tak, aby zvýšil pravdepodobnosť presnej detekcie a kvantifikácie vzoriek.

Princípy postupu

Test Aptima HIV-1 Quant Dx pozostáva z troch hlavných krokov, ktoré všetky prebiehajú v jednej skúmavke v systéme Panther: záchyt cieľa, amplifikácia cieľa pomocou amplifikácie mediovanej transkripciou (TMA) a detekcia produktov amplifikácie (amplikónov) fluorescenčne značenými sondami (horáky).

V priebehu záchytu cieľa sa zo vzoriek izolujú nukleové kyseliny vírusu. Vzorka je ošetrovaná detergentom, aby sa rozpustil obal vírusu, denaturovali proteíny a uvoľnila genómová RNA vírusu. Zachytené oligonukleotidy hybridizujú do vysoko konzervovaných oblastí genómu HIV-1 (ak sú prítomné) v testovanej vzorke. Hybridizovaný cieľ sa potom zachytí na magnetické mikročastice, ktoré sú oddelené zo vzorky v magnetickom poli. Na odstránenie cudzorodých komponentov z reakčnej skúmavky sa použijú kroky premývania.

Cieľová amplifikácia nastane prostredníctvom metódy TMA, čo je metóda amplifikácie kyseliny nukleovej prostredníctvom transkripcie, kde sa používajú dva enzýmy, reverzná transkriptáza z myšieho leukemického vírusu Moloney (MMLV) a T7 RNA polymeráza. Reverzná transkriptáza sa používa na získanie kópie DNA (obsahujúcej promotorovú sekvenciu pre T7 RNA polymerázu) cieľovej sekvencie. T7 RNA polymeráza produkuje viac kópií RNA amplikónu zo šablóny DNA kópie. Test Aptima HIV-1 Quant Dx používa metódu TMA na amplifikáciu dvoch oblastí HIV-1 RNA (pol a LTR). Nezávislý signál sa vytvorí amplifikáciou každého z regiónov pomocou špecifických primérov, ktoré sú navrhnuté na amplifikáciu HIV-1 skupín M, N a O.

Detekcia je dosiahnutá pomocou horákov z jednovláknovej nukleovej kyseliny, ktoré sú prítomné v priebehu amplifikácie každého cieľa a ktoré hybridizujú špecificky na amplikóny v reálnom čase. Každý horák má fluorofór a zhášadlo. Ak sonda nie je hybridizovaná na amplikón, zhášadlo je v tesnej blízkosti fluorofóru a potlačí fluorescenciu. Keď sa horák naviaže na amplikón, zhášadlo sa presunie do väčšej vzdialenosti od fluorofóru a bude po excitácii svetelným zdrojom vydávať signál o špecifickej vlnovej dĺžke. S hybridizáciou ďalších horákov na amplikón vznikne vyšší fluorescenčný signál. Čas, za ktorý fluorescenčný signál každého z cieľov dosiahne špecifikovaný prah („tTime“), je úmerný počiatočnej koncentrácii HIV-1. Každá reakcia má interný kalibrátor/internú kontrolu (IC) slúžiacu na kontrolu potenciálnych variácií v spracovaní vzorky, amplifikácii a detekcii. Koncentrácia vzorky sa následne vypočíta pomocou časov tTime pre amplifikácie pol a LTR v softvéri systému Panther. Pomocou algoritmu a porovnania s uloženými informáciami o kalibrácii vráti softvér systému Panther jediný, klinicky validovaný výsledok pre každú vzorku.

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu

Súhrn parametrov bezpečnosti a výkonu (Summary of Safety and Performance, SSP) je dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený s identifikátormi pomôcky (Základné UDI-DI). Dokument SSP pre test Aptima HIV-1 Quant Dx nájdete podľa základného jedinečného identifikátora pomôcky (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Varovania a bezpečnostné opatrenia

- A. Na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Na profesionálne použitie.
- C. Test Aptima HIV-1 Quant Dx nie je určený na použitie ako screeningový test na prítomnosť HIV-1 v darovanej krvi.
- D. Pred vykonaním tohto testu si pozorne prečítajte celý príbalový leták a *prevádzkovú príručku k systému Panther/Panther Fusion™*, aby ste znížili riziko neplatných výsledkov.

Súvisiace s laboratóriom

- E.  **UPOZORNENIE:** Kontroly pre tento test obsahujú ľudskú plazmu. Plazma je podľa testovania postupmi licencovanými Úradom pre kontrolu potravín a liečiv USA negatívna na povrchový antigén hepatitídy B (HBsAg), protilátky proti HCV, protilátky proti HIV-1 a HIV-2 a HIV antigén. Okrem toho je plazma nereaktívna voči HCV RNA a HIV-1 RNA pri testovaní licencovanými testmi nukleových kyselín za použitia spojených vzoriek. Všetok materiál pochádzajúci z ľudskej krvi je nutné považovať za potenciálne infekčný a pri práci s ním je nutné dodržiavať všeobecné bezpečnostné opatrenia (33-35).
- F. Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HIV-1 Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi. Ak dôjde k vyliatiu, okamžite miesto vydezinfikujte pomocou príslušných postupov pracoviska.
- G. Používajte iba dodané alebo špecifikované jednorazové laboratórne pomôcky.
- H. Dodržiavajte rutinné laboratórne opatrenia. Nepipetujte ústami. Vo vyhradených pracovných oblastiach nejedzte, nepite ani nefajčte. Pri manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí používajte jednorazové rukavice bez púdru, ochranné okuliare a laboratórne plášte. Po manipulácii so vzorkami a súpravami reagensí si dôkladne umyte ruky.
- I. Pracovné plochy, pipety a iné zariadenia sa musia pravidelne dekontaminovať 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného.
- J. Všetky materiály, ktoré prišli do kontaktu so vzorkami a reagensiami, zlikvidujte podľa regionálnych predpisov (33-36). Dôkladne vyčistite a vydezinfikujte všetky pracovné povrchy.
- K. Kontroly obsahujú azid sodný ako konzervačné činidlo. Na prenos reagensí nepoužívajte kovové skúmavky. Ak roztoky obsahujúce zlúčeniny azidu sodného likvidujete vo vodovodnom systéme, musia byť zriadené a spláchnuté hojným množstvom tečúcej vody. Tieto bezpečnostné opatrenia sa odporúčajú, aby sa zabránilo nahromadeniu usadenín v kovových potrubiach, kde by mohli vzniknúť výbušné podmienky.

- L. Zásady osvedčenej praxe pre molekulárne laboratóriá zahŕňajú sledovanie prostredia. Pri sledovaní laboratórneho prostredia odporúčame nasledujúci postup.
1. Zoberte si vatovú tyčinku a spárujte ju s alikvotačnou skúmavkou na vzorky Aptima® (SAT).
 2. Príslušným spôsobom označte každú skúmavku SAT.
 3. Naplňte každú skúmavku SAT 1 ml prípravku na riedenie vzoriek Aptima®.
 4. Pred zberom povrchových vzoriek zľahka navlhčite vatovú tyčinku deionizovanou vodou bez obsahu nukleázy.
 5. Otrite požadovaný povrch vertikálnym pohybom zhora nadol. Pri otieraní lokality otočte tyčinku približne o polovicu otočky.
 6. Okamžite vložte vzorku na vatovej tyčinke do skúmavky a jemne tyčinku premiešajte vírením v prípravku na riedenie, aby ste extrahovali potenciálne otretené materiály. Pritlačte vatovú tyčinku o bočnú stranu prepravnej skúmavky a vyextrahujte čo najviac tekutiny. Zlikvidujte vatovú tyčinku a zatvorte skúmavku uzáverom.
 7. Zopakujte kroky u zostávajúcich sterových vzoriek.
 8. Otestujte sterový materiál molekulárnym testom.

Súvisiace so vzorkami

- M. Vzorky môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite všeobecné bezpečnostné opatrenia (33-35). Správne postupy manipulácie a likvidácie je nutné stanoviť na základe platných miestnych usmernení (36). Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HIV-1 Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.
- N. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu vzorky. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, sa nehodnotila.
- O. Počas manipulácie so vzorkami sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní uzáverov zo vzoriek. Vzorky môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na vzorky sa navzájom nedotýkajú a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.

Súvisiace s testom

- P. Kvantitatívne výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx boli vyhodnotené pomocou plazmy. Sérum je zakázané používať pre kvantitatívne výsledky. Kvalitatívne výsledky boli vyhodnotené s plazmou aj sérom. Použitie tejto súpravy testu s inými vzorkami, ako sú špecificky schválené na použitie s touto súpravou testu, môže viesť k nepresným výsledkom testu.
- Q. Test Aptima HIV-1 Quant Dx bol klinicky validovaný pomocou algoritmu v softvéri systému Panther. Validovaný výsledok, ktorý sa má hlásiť, poskytuje softvér systému Panther na obrazovke Results (Výsledky) a v správe Results (Výsledky).
- R. Nepoužívajte súpravu reagensí, kalibrátor ani kontroly po dátume expirácie.

- S. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagenty na rozbor zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.
- T. Zabráňte kontaminácii reagentov mikróbmi a nukleázami.
- U. Uzavrite a uložte všetky reagenty na test pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť testu môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagentov na test. Viac informácií nájdete v časti *Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagentami a Voliteľné materiály*.
- V. Žiadne reagenty na test ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagenty ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagentov.
- W. Niektoré reagenty tejto súpravy sú označené informáciami o nebezpečenstve.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie karty bezpečnostných údajov EÚ (KBÚ). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v KBÚ pre jednotlivé regióny v knižnici kariet bezpečnostných údajov na adrese www.hologicsds.com. Bližšie informácie o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese www.hologic.com/package-inserts.

Informácie o nebezpečenstve, EÚ	
—	Amplifikačná reagentia Chlorid horečnatý 60 – 65 % — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Enzymatická reagentia HEPES 1 – 5 % Triton X-100 1 – 5 % — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Enzymová rekonštitučná reagentia Glycerol 20 – 25 % Triton X-100 5 – 10 % HEPES 1 – 5 % — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
—	Promotorová reagentia Chlorid horečnatý 60 – 65 % — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.

—	Reagencia na zachytenie cieľa HEPES 15 – 20 % Sol' laurylsulfátu lítneho 5 – 10 % Hydroxid lítny, monohydrát 1 – 5 % Kyselina jantárová 1 – 5 % — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.
  	Súprava kontrol HIV VL Ľudské sérum/ľudská plazma 95 – 100 % Azid sodný <1 % NEBEZPEČENSTVO H300 – Smrteľný po požití. H410 – Veľmi toxický pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P264 – Po manipulácii starostlivo umyte tvár, ruky a exponovanú pokožku. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P301 + P310 – PO POŽITÍ: Okamžite volajte NÁRODNÉ TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÉ CENTRUM alebo lekára. P321 – Odborné ošetrenie (pozri doplnkové pokyny prvej pomoci na etikete). P330 – Vypláchnite ústa. P391 – Zozbierajte uniknutý produkt.
—	Súprava kalibrátorov HIV VL HEPES 15 – 20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5 – 10 % Lithium Hydroxide, Monohydrate 1 – 5 % Succinic Acid 1 – 5 % — H412 – Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami. P273 – Zabráňte uvoľneniu do životného prostredia. P501 – Zneškodnite obsah/nádobu v schválenom zariadení na likvidáciu odpadov.

Požiadavky na skladovanie a manipuláciu s reagensiami

- A. Nasledujúca tabuľka uvádza podmienky skladovania a stability pre reagenty, kontroly a kalibrátor.

Reagencia	Uskladnenie neotvorených balení	Otvorená súprava (rekonštituovaná)	
		Skladovanie	Stabilita
Amplifikačná reagencia qHIV-1	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Enzymatická reagencia qHIV-1	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok na enzýmy qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Promotorová reagencia qHIV-1	2 °C až 8 °C		
Rekonštitučný roztok promotora qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
Cieľová záchytná reagencia qHIV-1	2 °C až 8 °C	2 °C až 8 °C	30 dní ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (negatívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 20 hodín
qHIV-1 LPC CONTROL + (nízka pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 20 hodín
qHIV-1 HPC CONTROL + (vysoká pozitívna kontrola)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 20 hodín
qHIV-1 PCAL (pozitívny kalibrátor)	-15 °C až -35 °C	15 °C až 30 °C	Jednorazová ampulka Použiť do 20 hodín

^a Po odstránení zo systému Panther je nutné reagenty ihneď vrátiť do príslušných skladovacích teplôt.

- B. Nepoužité rekonštituované reagenty a cieľovú záchytnú reagentiu (TCR) zlikvidujte po 30 dňoch alebo po dátume expirácie šarže matrice, podľa toho, čo nastane skôr.
- C. Reagenty uchovávané v systéme Panther majú stabilitu v prístroji 72 hodín. Reagenty je možné vložiť do systému Panther až 8-krát. Systém Panther zapisuje každé vloženie reagentov do protokolov.
- D. Po rozmrazení kalibrátora musí byť roztok priehľadný, tzn. nie zakalený a bez precipitátov.
- E.  Promotorová reagencia a rekonštituovaná aktivačná reagencia sú fotosenzitívne. Počas uskladnenia a prípravy na použitie chráňte tieto reagenty pred svetlom.

Odber vzoriek a skladovanie

Poznámka: So všetkými vzorkami zaobchádzajte tak, ako keby obsahovali potenciálne infekčné činitele. Používajte všeobecné bezpečnostné opatrenia.

Poznámka: Pri manipulácii so vzorkami je nutné predísť krížovej kontaminácii. Napríklad použitý materiál zlikvidujte bez toho, aby ste prechádzali ponad otvorené skúmavky.

Poznámka: Na skladovanie odporúčame iba plastové sekundárne skúmavky.

Je možné použiť vzorky plnej krvi odobrané do nasledujúcich sklenených alebo plastových skúmaviek:

Pre kvantitatívne merania:

- Skúmavky obsahujúce EDTA alebo antikoagulačný roztok citrátovanej dextrózy (ACD) alebo
- skúmavky na prípravu plazmy (PPT)

Pre kvalitatívne stanovenie:

- Skúmavky obsahujúce antikoagulačné prípravky EDTA alebo ACD alebo
- PPT alebo
- sérové skúmavky alebo
- skúmavky na separáciu séra (SST).

U séra nechajte pred ďalším spracovaním vytvoriť zrazeninu.

A. Odber vzoriek

Plnú krv je možné skladovať pri teplote 2 °C až 30 °C a je nutné ju centrifugovať do 24 hodín od odberu vzoriek. Separujte plazmu alebo sérum od peletovaných erytrocytov podľa pokynov výrobcu použitej skúmavky. Plazmu alebo sérum je možné otestovať v systéme Panther v primárnej skúmavke alebo preniesť do sekundárnej skúmavky. Minimálny objem plazmy alebo séra v primárnych odberových skúmavkách je až 1200 µl a v sekundárnych skúmavkách je minimálny objem 700 µl, aby ste získali reakčný objem 500 µl. Nasledujúca tabuľka identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky:

Skúmavka (veľkosť a typ)	Mŕtvy objem v systéme Panther
Alikvotačná skúmavka na vzorky Aptima (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm s gélom	0,3 ml
16 x 100 mm s gélom	0,7 ml

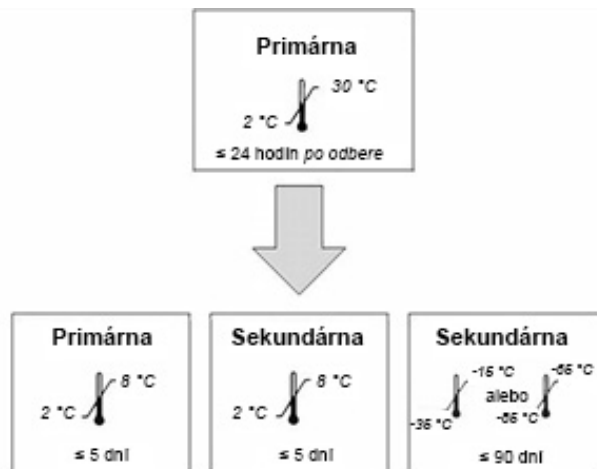
Ak nevykonáte testovanie ihneď, plazmu alebo sérum je možné skladovať v súlade s nasledujúcimi špecifikáciami. Pri prenose do sekundárnej skúmavky je možné plazmu zmraziť na teplotu -20 °C alebo -70 °C a sérum sa môže zmraziť pri teplote -20 °C. Neprekračujte tri cykly zmrazenia-rozmrazenia, aby ste neovplyvnili výsledok. Nezmrazujte vzorky v EDTA, ACD alebo sérových primárnych odberových skúmavkách.

B. Podmienky skladovania vzoriek

1. Vzorky plazmy s EDTA a ACD

Primárne skúmavky obsahujúce centrifugovanú plazmu je možné skladovať až 24 hodín po odbere vzorky pri teplote 2 °C až 30 °C (Obrázok 1, horný box). Po 24 hodinách je možné plazmu skladovať dlhší čas pri dodržaní jednej z nasledujúcich podmienok (Obrázok 1, spodné boxy):

- v primárnej odberovej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 3 dni,
- v sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote -20 °C alebo -70 °C až 90 dní.

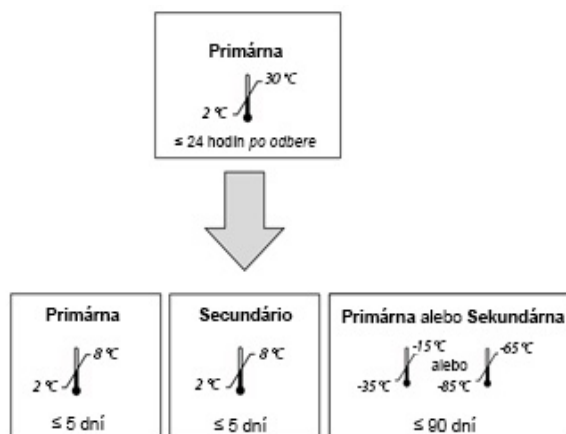


Obrázok 1. Podmienky skladovania skúmaviek s EDTA/ACD

2. Vzorky PPT

PPT obsahujúce centrifugovanú plazmu je možné skladovať až 24 hodín po odbere vzorky pri teplote 2 °C až 30 °C (Obrázok 2, horný box). Po 24 hodinách je možné plazmu skladovať dlhší čas pri dodržaní jednej z nasledujúcich podmienok (Obrázok 2, spodné boxy):

- v skúmavke s PPT pri teplote 2 °C až 8 °C až 3 dni,
- v sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v skúmavke s PPT alebo sekundárnej skúmavke pri teplote -20 °C alebo -70 °C až 90 dní.

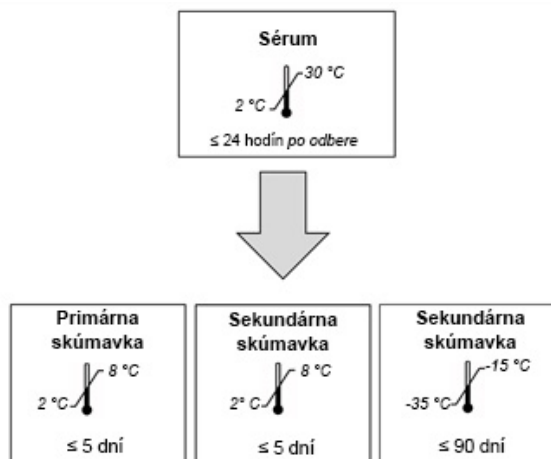


Obrázok 2. Podmienky skladovania vzoriek PPT

3. Vzorky v sérových skúmavkách

Sérové skúmavky obsahujúce centrifugované sérum je možné skladovať až 24 hodín po odbere vzorky pri teplote 2 °C až 30 °C (Obrázok 3, horný box). Po 24 hodinách je možné sérum skladovať dlhší čas pri dodržaní jednej z nasledujúcich podmienok (Obrázok 3, spodné boxy):

- v sérovej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní,
- v sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote -20 °C až 90 dní.

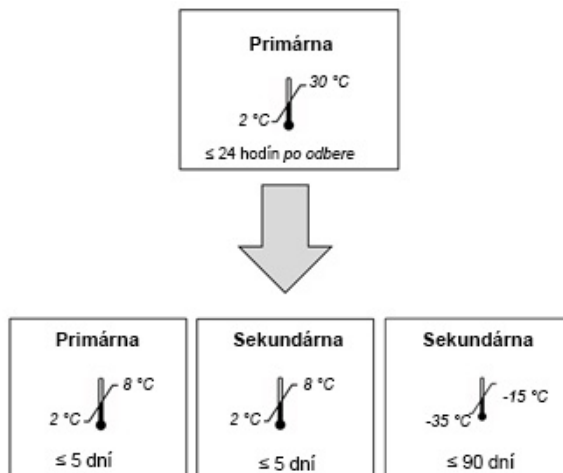


Obrázok 3. Podmienky skladovania sérových skúmaviek

4. Vzorky SST

SST obsahujúce centrifugované sérum je možné skladovať až 24 hodín po odbere vzorky pri teplote 2 °C až 30 °C (Obrázok 4, horný box). Po 24 hodinách je možné sérum skladovať dlhší čas pri dodržaní jednej z nasledujúcich podmienok (Obrázok 4, spodné boxy):

- v skúmavke so SST pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote 2 °C až 8 °C až 5 dní alebo
- v sekundárnej skúmavke pri teplote -20 °C až 90 dní.



Obrázok 4. Podmienky skladovania vzoriek SST

C. Riedenie vzoriek plazmy

Poznámka: Vzorku plazmy je možné riediť v SAT alebo sekundárnej skúmavke na testovanie na systéme Panther. Viac informácií nájdete v časti Postup testovania v systéme Panther, krok E.4.

Poznámka: Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení. Nezmrazujte nariedené vzorky.



Poznámka: Riedenie vzoriek plazmy je možné použiť iba na kvantitatívne výsledky. Neriedte vzorky plazmy, ak chcete získať diagnostické výsledky.

Vzorky v systéme Panther

Vzorky je možné ponechať v systéme Panther neuzatvorené až 8 hodín celkom. Vzorky je možné vytiahnuť zo systému Panther a otestovať, kým celková doba v prístroji neprekročí 8 hodín pred pipetovaním vzorky systémom Panther.

Transport vzoriek

Dodržiavajte podmienky pre skladovanie vzorky podľa popisu v časti *Odber vzoriek a skladovanie*.

Poznámka: Vzorky sa musia prepravovať v súlade s platnými národnými, medzinárodnými a regionálnymi usmerneniami týkajúcimi sa prepravy.

Systém Panther

Reagencie pre Aptima HIV-1 Quant Dx sú uvedené pod systémom Panther. Identifikačné symboly reagencií sú uvedené aj vedľa názvu reagencií.

Poskytnuté reagencie a materiály

Súprava testu Aptima HIV-1 Quant Dx

100 testov (1 súprava testu, 1 súprava kalibrátora a 1 súprava kontrol) (kat. č. PRD-03000)

Ďalšie kalibrátory a kontroly je možné objednať samostatne. Nižšie nájdete príslušné katalógové čísla.

Súprava testu Aptima HIV-1 Quant Dx

(po prijatí uchovávať pri teplote 2 °C až 8 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
A	Amplifikačná reagentia qHIV-1 <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
E	Enzymatická reagentia qHIV-1 <i>Reverzná transkriptáza a RNA polymeráza sušené v HEPES pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
PRO	Promotorová reagentia qHIV-1 <i>Neinfekčné nukleové kyseliny sušené v pufrovanom roztoku.</i>	1 liekovka
AR	Rekonštitučný roztok na amplifikáciu qHIV-1 <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Rekonštitučný roztok na enzýmy qHIV-1 <i>Pufrovaný roztok HEPES obsahuje povrchovo aktívnu látku a glycerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Rekonštitučný roztok promótoru qHIV-1 <i>Vodný roztok obsahujúci glycerol a konzervačné látky.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Cieľová zachytávací reagentia qHIV-1 <i>Nukleové kyseliny v pufrovanom fyziologickom roztoku obsahujúcom pevnú fázu, neinfekčné nukleové kyseliny a interný kalibrátor.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonštitučné prstence	3
	List hlavného čiarového kódu	1 list

Súprava kalibrátora Aptima HIV-1 Quant Dx (kat. č. PRD-03001)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
PCAL	Pozitívny kalibrátor qHIV-1 <i>Transkript v pufrovanom roztoku.</i>	5 x 2,5 ml
	Štítok s čiarovým kódom kalibrátora	—

Súprava kontrol Aptima HIV-1 Quant Dx (kat. č. PRD-03002)

(po prijatí uchovávať pri teplote -15 °C až -35 °C)

Symbol	Komponent	Množstvo
NC	Negatívna kontrola qHIV-1 <i>HIV-1 negatívna defibrinovaná ľudská plazma obsahujúca gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	Nízka pozitívna kontrola qHIV-1 <i>Neinfekčná HIV-1 obrnená RNA v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	Vysoká pozitívna kontrola qHIV-1 <i>Neinfekčná HIV-1 obrnená RNA v defibrinovanej ľudskej plazme obsahujúcej gentamicín a 0,2 % azid sodný ako konzervanty.</i>	5 x 1,5 ml
	Štítok s čiarovým kódom kontroly	—

Potrebné materiály, ale dostupné samostatne

Poznámka: Materiály dostupné od spoločnosti Hologic majú uvedené katalógové čísla, pokiaľ nie je uvedené inak.

Materiál	Kat. Č.
Systém Panther	303095
Systém Panther Fusion	PRD-04172
Systém Panther, kontinuálny prietok a odtok (Panther Plus)	PRD-06067
Súprava kalibračných roztokov Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Súprava kontrolných roztokov Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Súprava Panther™ pre cykly testov v reálnom čase (iba pre testy v reálnom čase)	PRD-03455 (5000 testov)
Súprava kvapalín testu Aptima® (takisto označovaná ako súprava univerzálnych kvapalín) <i>obsahuje premývací roztok Aptima®, pufor na deaktiváciu tekutinu Aptima® a olejovú reagensiu Aptima®</i>	303014 (1000 testov)
<i>Viacskúmavkové jednotky (MTU)</i>	104772-02
<i>Súprava odpadových vriec Panther™</i>	902731
<i>Kryt odpadkového koša Panther™</i>	504405
Alebo súprava cyklov systému Panther™ <i>(pri spracovávaní testov TMA nevykonávaných v reálnom čase súčasne s testami TMA v reálnom čase) obsahuje MTU, odpadové vrecia, kryty odpadkového koša, kvapaliny na automatickú detekciu a testovacie kvapaliny</i>	303096 (5000 testov)
Špičky, 1000 µl, filtrované, vodivé, so snímaním kvapaliny a jednorazové <i>Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného	—
Jednorazové rukavice bez púdra	—
Náhradné uzávery na reagensie <i>Flaše na rekonštitučný roztok pre amplifikačnú, enzýmovú a promotorovú reagensiu</i> <i>Flaša TCR</i>	CL0041 (100 uzáverov) CL0040 (100 uzáverov)
Plastové kryty na laboratórne stoly	—
Utierky neuvolňujúce vlákna	—
Pipetovač	—
Špičky	—
Možnosti pre primárnu odberovú skúmavku (EDTA, ACD, PPT, SST, sérum): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifúga	—
Vortexové miešadlo	—

Voliteľné materiály

Materiál	Kat. Č.
Možnosti pre sekundárnu skúmavku:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Alikvotačné skúmavky vzorky Aptima (SAT) (balenie po 100 kusoch)	FAB-18184
Uzáver prepravnej skúmavky (balenie po 100 kusoch) uzáver pre SAT	504415
Riediaci prípravok na vzorky Aptima	PRD-03003
Súprava prípravku na riedenie vzoriek Aptima obsahuje prípravok na riedenie vzoriek, 100 SAT a 100 uzáverov	PRD-03478
Transferové pipety	—
Komerčne dostupné panely, napr.: HIV-1 z kontroly kvality pre molekulárnu diagnostiku (QCMD) alebo Panel preskúmania vírusovej nálože HIV podľa organizácie College of American Pathologists (CAP) alebo panely SeraCare ACCURUN HIV	—
Vatové tyčinky	—
Trepačka skúmaviek	PRD-03488

Postup testovania v systéme Panther

Poznámka: Ďalšie informácie o postupoch nájdete v prevádzkovej príručke systému Panther/ Panther Fusion.

A. Príprava pracovnej oblasti

1. Vyčistite pracovné povrchy, kde budú pripravené reagenty. Pracovné plochy utrite 2,5 % až 3,5 % (0,35 M až 0,5 M) roztokom chlórnanu sodného. Roztok chlórnanu sodného nechajte minimálne 1 minútu v kontakte s povrchmi a potom opláchnite deionizovanou (DI) vodou. Nedovoľte, aby roztok chlórnanu sodného vyschol. Povrch lavice, na ktorej sa pripravujú reagenty a vzorky, prikryte čistými, absorpčnými pokrývkami laboratórnych lavíc s plastovou zadnou časťou.
2. Vyčistite samostatný pracovný povrch, kde budete pripravovať vzorky. Postupujte podľa predchádzajúcich pokynov (krok A.1).
3. Vyčistite prípadné pipety. Postupujte podľa predchádzajúcich pokynov (krok A.1).

B. Príprava kalibrátora a kontrol

Pred spracovaním ponechajte kalibrátor a kontroly dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C:

1. Vytiahnite kalibrátor a kontroly zo skladovacieho priestoru (-15 °C až -35 °C) a uložte ich do prostredia s teplotou 15 °C až 30 °C. Po celú dobu rozmrazovania jemne prevráťte každú skúmavku a starostlivo premiešajte. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Možnosť. Skúmavky kalibrátora a kontrol je možné vložiť do trepačky a nechať tak dobre premiešať. Pred použitím sa uistite, že je obsah skúmavky plne rozmrazený.

Poznámka: Pri prevracaní kalibrátora a kontrol zabráňte nadmernému peneniu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.

2. Po rozmrazení obsahu skúmavky vysušte vnútro skúmavky čistou suchou jednorazovou utierkou.
3. Zatiaľ skúmavky neotvárajte, aby nedošlo ku kontaminácii.

C. Rekonštitúcia/príprava reagensí novej súpravy

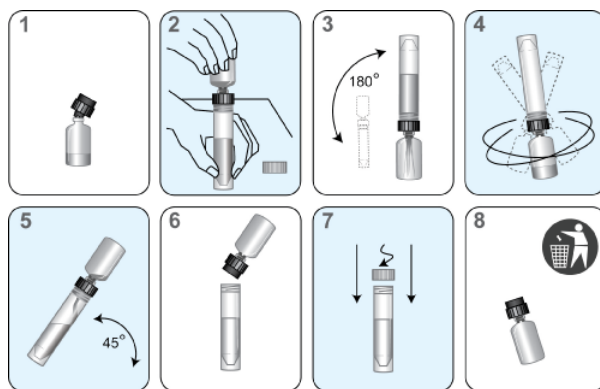
Poznámka: Rekonštitúciu reagensí je nutné vykonať pred zahájením akýchkoľvek postupov na systéme Panther.

1. Pri príprave cieľovej záchytnej reagensie (TCR) postupujte nasledujúcim spôsobom:
 - a. Vytiahnite TCR zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Skontrolujte číslo šarže na fľaši s TCR, aby ste zaistili, že sa zhoduje s číslom šarže na liste čiarových kódov hlavnej šarže.
 - b. Fľaštičku s TCR ihneď starostlivo 10-krát premiešajte. Ponechajte fľaštičku TCR v prostredí s teplotou 15 °C až 30 °C minimálne 45 minút, aby sa zahrial. Po toto obdobie miešajte fľaštičku TCR vírením a prevracaním minimálne raz za 10 minút.

Možnosť. Fľaštičku TCR je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite fľaštičku TCR zo skladovacieho prostredia (2 °C až 8 °C) a ihneď starostlivo 10-krát pretrepte. Vložte TCR fľaštičku na miešačku a ponechajte TCR pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 45 minút.
 - c. Pred použitím sa uistite, že sa všetok precipitát dostal do roztoku a že sú magnetické častice suspendované.
2. Pri rekonštitúcii amplifikačných, enzýmových a promotorových reagensí postupujte nasledujúcim spôsobom:
 - a. Vytiahnite lyofilizované reagensie a príslušné rekonštitučné roztoky zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Každý rekonštitučný roztok spárujte s príslušnou lyofilizovanou reagensiou.
 - b. Skontrolujte, že rekonštitučný roztok a lyofilizovaná reagensia majú zodpovedajúce farby štítkov. Skontrolujte čísla šarží na liste čiarových kódov hlavnej šarže, aby ste sa uistili, že sú spárované príslušné reagensie.
 - i. Otvorte ampulku lyofilizovanej reagensie odstránením kovovej pečate a gumovej zátky.
 - ii. Pevne pripojte koniec rekonštitučnej objímky so zárezom (čierny) na ampulku (Obrázok 5, krok 1).
 - iii. Otvorte príslušnú fľaštičku s rekonštitučným roztokom a nasadte uzáver na čistý, zakrytý pracovný povrch.

- iv. Uložte fľaštičku s rekonštitučným roztokom na stabilný povrch (tzn. stôl). Následne prevráťte ampulku lyofilizovanej reagentie cez fľaštičku s rekonštitučným roztokom a pevne pripojte objímku k fľaštičke s rekonštitučným roztokom (Obrázok 5, krok 2).
- v. Pomaly prevráťte prepojené fľaštičky (ampulka pripojená k fľaštičke s roztokom), aby roztok vtekol do sklenenej ampulky (Obrázok 5, krok 3).
- vi. Zdvihnite prepojené fľaštičky a vírte nimi aspoň 10 sekúnd (Obrázok 5, krok 4).
- vii. Počkajte minimálne 30 minút, než sa lyofilizovaná reagentia dostane do roztoku.
- viii. Po vstupe lyofilizovanej reagentie do roztoku vírte prepojenými fľaštičkami minimálne 10 sekúnd. Potom ľahkým nakláňaním sklenenej ampulky dopredu a dozadu dobre premiešajte roztok.
- c. Pomaly znovu nakloňte prepojené fľaštičky, aby všetok roztok stiekol späť do fľaštičky s rekonštitučným roztokom (Obrázok 5, krok 5).
- d. Opatrne odstráňte rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku (Obrázok 5, krok 6).
- e. Znovu uzatvorte fľaštičku. Na štítku zaznamenajte údaje operátora a dátum rekonštitúcie (Obrázok 5, krok 7).
- f. Zahodzte rekonštitučnú objímku a sklenenú ampulku (Obrázok 5, krok 8).

Varovanie: Pri rekonštitúcii reagentii zabráňte nadmernému peneniu. Pena interferuje so snímaním hladiny v systéme Panther.



Obrázok 5. Proces rekonštitúcie reagentie

D. Príprava reagentií pre predtým pripravené reagentie

1. Vytiahnite predtým pripravené reagentie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C).
2. Predtým pripravené amplifikačné, enzymatické a promotorové reagentie a TCR musia dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C pred začiatkom testu.
3. U predtým pripraveného TCR postupujte pred vložením do systému podľa kroku C.1.
4. Vírením a prevrátením amplifikačnej, enzýmovej a promotorovej reagentie starostlivo premiešajte pred vložením do systému. Pri prevracaní reagentií zabráňte nadmernému peneniu.

Možnosť: Predtým pripravené reagentie je možné pripraviť na trepačke nasledujúcim postupom: Vytiahnite reagentie zo skladovacieho priestoru (2 °C až 8 °C). Položte reagentie na trepačku a ponechajte pri teplote 15 °C až 30 °C zahriať minimálne 30 minút.

5. Fľašky reagentií nedoplňajte. Systém Panther rozpozná a odmietne fľaše, ktoré boli doplnené.

E. Manipulácia so vzorkami

1. Skontrolujte, že spracované vzorky v primárnych skúmavkách alebo neriedené vzorky v sekundárnych skúmavkách boli adekvátne uskladnené podľa *Odber vzoriek a skladovanie*.
2. Uistite sa, že sú zmrazené vzorky adekvátne rozmrazené. Poriadne premiešajte rozmrazené vzorky v trepačke po dobu 3 až 5 sekúnd.
3. Pred spracovaním ponechajte vzorky dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C. Ďalšie informácie o položkách v prístroji nájdete v časti *Vzorky v systéme Panther*.
4. Uistite sa, že každá primárna odberová skúmavka obsahuje až 1200 µl vzorky alebo každá SAT obsahuje minimálne 700 µl vzorky. Tabuľka v časti *Odber vzoriek a skladovanie* identifikuje požiadavky na mŕtvy objem pre každý typ primárnej a sekundárnej skúmavky. Ak je nutné riedenie vzorky, preštudujte si ďalšie informácie v kroku E.5 nižšie.
5. Nariedte vzorku plazmy v pomere 1 : 3 v SAT alebo 1 : 100 v sekundárnej skúmavke. Vzorky plazmy je možné riediť v sekundárnej skúmavke na testovanie v systéme Panther.



Poznámka: Riedenie vzoriek plazmy je možné použiť iba na kvantitatívne výsledky. Neriedte vzorky plazmy, ak chcete získať diagnostické výsledky.

Poznámka: Ak je vzorka nariedená, je nutné test vykonať ihneď po riedení.

a. Riedenie nízkoobjemových vzoriek

Objem vzoriek plazmy je možné zvýšiť na minimálny požadovaný objem (700 µl) pomocou prípravku na riedenie vzoriek Aptima. Vzorky plazmy s minimálnym objemom 240 µl je možné nariediť dvomi dielmi prípravku na riedenie vzoriek (1 : 3) nasledovne:

- i. Vložte 240 µl vzorky do SAT.
- ii. Pridajte 480 µl prípravku na riedenie vzoriek Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariedené v pomere 1 : 3 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 3 na systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*). Software automaticky nahlási čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariedené vzorky.

b. Riedenie vzoriek s vysokým titrom

Ak je výsledok vzorky nad horným limitom kvantifikácie, je ho možné nariediť 99 dielmi prípravku na riedenie vzoriek Aptima (1 : 100) nasledujúcim spôsobom:

- i. Vložte 30 µl vzorky do SAT alebo sekundárnej skúmavky.
- ii. Pridajte 2970 µl prípravku na riedenie vzoriek Aptima.
- iii. Uzatvorte skúmavku.
- iv. Premiešajte 5-násobným jemným prevrátením.

Vzorky nariedené v pomere 1 : 100 je možné testovať pomocou možnosti 1 : 100 v systéme Panther (ďalšie informácie nájdete v *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*). Software automaticky nahlási čistý výsledok po korekcii faktorom riedenia. Tieto vzorky budú označené ako nariedené vzorky.

Poznámka: U riedených vzoriek s čistou koncentráciou vyššou než ULoQ budú výsledky hlásené vo vedeckom formáte.

6. Tesne pred naložením vzoriek do vzorky Stojan, centrifugujte každú vzorku pri odstredivej sile 1000 až 3000 g počas 10 minút. Neodstraňujte uzávery. Bublíny v skúmavke môžu zhoršiť snímanie hladiny v systéme Panther.

Informácie o plnení stojana a odstraňovaní uzáverov nájdete v časti Pozri časť *Príprava systému*, krok F.2 nižšie.

F. Príprava systému

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion* a v časti *Poznámky k postupu*. Uistite sa, že sú použité reagenčné stojany s vhodnou veľkosťou a adaptéry TCR.
2. Vložte vzorky do stojana na vzorky. Vykonajte nasledujúce kroky pre každú skúmavku na vzorky (vzorka a v prípade potreby kalibrátor a kontroly):
 - a. Uvoľnite uzáver jednej skúmavky na vzorky, ale neodstraňujte ho.
Poznámka: *Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu. Jemne uvoľnite uzávery na vzorkách.*
 - b. Vložte skúmavku na vzorky do stojana na vzorky.
 - c. Zopakujte kroky a a b pre každú zostávajúcu vzorku.
 - d. Po vložení vzoriek do stojana na vzorky vytiahnite a zlikvidujte každý uzáver skúmavky na vzorky v jednom stojane na vzorky. Aby ste predišli kontaminácii, nemanipulujte uzáverom nad žiadnymi inými stojanmi na vzorky ani skúmavkami na vzorky.
 - e. V prípade potreby odstráňte prípadné bubliny alebo penu pomocou novej jednorazovej prenosovej pipety.
 - f. Po odstránení posledného uzáveru vložte stojan na vzorky do rezervoára na vzorky.
Poznámka: *Ak súčasne spracováate ďalšie testy a typy vzoriek, zaistite zachytávač vzoriek pred vložením stojana na vzorky do rezervoára na vzorky.*
 - g. Zopakujte kroky a až f pre ďalší stojan na vzorky.

Poznámky k postupu

A. Kalibrátor a kontroly

1. Skúmavky obsahujúce pozitívny kalibrátor qHIV-1, nízku pozitívnu kontrolu qHIV-1, vysokú pozitívnu kontrolu qHIV-1 a negatívnu kontrolu qHIV-1 je možné v systéme Panther vložiť do akejkoľvek polohy v stojane na vzorky a do akejkoľvek dráhy rezervoára na vzorky. Pipetovanie vzorky sa začne, keď je splnená jedna z nasledujúcich dvoch podmienok:
 - a. Kalibrátor a kontroly sú v súčasnosti spracovávané systémom.
 - b. Platné výsledky pre kalibrátor a kontroly sú zaregistrované v systéme.
2. Po pipetovaní skúmaviek s kalibrátorom a kontrolou a ich spracovaní pre súpravu reagensí na rozbor testu Aptima HIV-1 Quant Dx je možné vzorky testovať pomocou spojenej rekonštitučnej súpravy až 24 hodín, **pokiaľ nenastane nasledujúce:**
 - a. Výsledky kalibrátora alebo kontroly sú neplatné.
 - b. Príslušná súprava reagensí na analýzu sa odstráni zo systému.
 - c. Súprava pridruženej reagensie na test prekročila limity stability.
3. Kalibrátor a každú skúmavku kontroly je možné použiť iba raz. Pokusy o opakované použitie skúmavky môžu viesť k chybám spracovania.

B. Prášok rukavíc

Tak ako v každom reagenčnom systéme, prebytočný púder na niektorých rukaviciach môže spôsobiť kontamináciu otvorených skúmaviek. Odporúčajú sa rukavice bez púdra.

Kontrola kvality

Operátor môže zrušiť platnosť cyklu alebo výsledku vzorky v prípade zdokumentovaných problémov technického charakteru, s operátorom alebo prístrojom pri vykonávaní testu. V takom prípade je nutné vzorky znovu otestovať.

Kalibrácia testu

Je nutné ukončiť kalibráciu testu, aby ste získali platné výsledky. Jeden pozitívny kalibrátor sa spracuje trikrát pri vložení každej súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení bude kalibrácia platná až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď bude nutné vykonať kalibráciu. Operátor naskenuje kalibračný koeficient uvedený na liste čiarových kódov hlavnej šarže dodávanom s každou súpravou reagensí.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kalibrátora. Ak sú platné menej než dva replikáty kalibrátora, softvér cyklus automaticky vyhlási za neplatný. Vzorky v neplatnom cykle je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Negatívne a pozitívne kontroly

Aby sa vygenerovali platné výsledky, musí sa otestovať súprava kontrol testu. Jednu replikáciu negatívnej kontroly, nízkej pozitívnej kontroly a vysokej pozitívnej kontroly je nutné otestovať pri každom vložení súpravy reagensí do systému Panther. Po ukončení budú kontroly platné až 24 hodín. Softvér v systéme Panther upozorní operátora, keď bude nutné spracovať kontroly.

V priebehu spracovania sú softvérom systému Panther automaticky overované kritériá pre prijateľnosť kontrol. Aby boli výsledky platné, negatívna kontrola musí poskytnúť výsledok „Not Detected“ (Nedetegované) a pozitívne kontroly výsledky v rámci vopred definovaných parametrov (cieľ LPC: $\sim 3 \log_{10}$ kópií/ml, cieľ HPC: $\sim 5 \log_{10}$ kópií/ml). Ak majú akékoľvek kontroly neplatný výsledok, softvér automaticky zruší platnosť cyklu. Vzorky v neplatnom cykle je nutné znovu otestovať pomocou čerstvo pripraveného kalibrátora a čerstvo pripravených kontrol.

Interný kalibrátor/interná kontrola

Každá vzorka obsahuje interný kalibrátor/internú kontrolu (IC). V priebehu spracovania softvér systému Panther automaticky overí kritériá prijateľnosti IC. Ak je výsledok IC neplatný, výsledok vzorky bude neplatný tiež. Každú vzorku s neplatným výsledkom IC je nutné znovu otestovať, aby ste dostali platný výsledok. Softvér systému Panther je navrhnutý na presnú verifikáciu procesov, keď sa vykonávajú postupy podľa pokynov poskytnutých v tomto príbalovom letáku a *prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion*.

Interpretácia výsledkov

Poznámka: Kvantitatívne výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx boli vyhodnotené pomocou plazmy. Sérum je zakázané používať pre kvantitatívne výsledky. Kvalitatívne výsledky boli vyhodnotené s plazmou aj sérom.

Systém Panther automaticky stanoví koncentráciu HIV-1 RNA pre vzorky a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Koncentrácie HIV-1 RNA sú hlásené v jednotkách kópie/ml a $\log_{10}$ kópií/ml. Interpretáciu výsledkov uvádza Tabuľka 1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx má amplifikačný a detekčný systém dvoch cieľov, ktorý sa nezávisle zameriava na pol a LTR. Výsledok hlásený systémom bude založený na primárnom systéme pol, okrem prípadov, keď sa pol neamplifikoval. V týchto prípadoch systém hlási výsledok zo sekundárneho systému LTR.

Ak je pre riedené vzorky použité riedenie v pomere 1 : 3 alebo 1 : 100, systém Panther automaticky vypočíta koncentráciu HIV-1 pre čistú vzorku vynásobením riedenej koncentrácie faktorom riedenia. Riedené vzorky budú označené ako riedené.

Poznámka: U riedených vzoriek sa môžu objaviť výsledky „Not Detected“ (Nedetegované) alebo „<30 detected“ (Detegované <30) v dôsledku nariedenia vzorky na koncentráciu vyššiu, ale blízku LoD (limit detekcie) alebo LLoQ (spodný limit kvantifikácie). Ak ste nezískali kvantitatívny výsledok, odporúčame odobrať a otestovať inú čistú vzorku.

Systém Panther neposkytuje v rámci diagnostického použitia kvalitatívny výsledok (tzn. „Reactive“ (Reaktívny) alebo „Non-reactive“ (Nereaktívny)). Operátor musí interpretovať hlásenú koncentráciu HIV-1 RNA do kvalitatívneho výsledku (Tabuľka 1). Vzorky s výsledkami uvádzanými ako „Not Detected“ (Nedetegované) sú pre HIV-1 RNA nereaktívne. Vzorky s výsledkami uvádzanými ako „<30 detected“ (Detegované <30) alebo vzorky s výsledkami v rámci lineárneho rozsahu a nad ním znamenajú, že sa detegovala HIV-1 RNA a tieto vzorky sú reaktívne voči HIV-1 RNA.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov

Hlásený výsledok testu Aptima HIV-1 Quant Výsledok testu Dx		Koncentrácia HIV-1 RNA Interpretácia	Diagnostická kvalitatívna interpretácia používateľa ^c
Kópií/ml ^a	Hodnota $\log_{10}$ ^b		
Nedetegovaný	Nedetegovaný	HIV-1 RNA nedetegovaná.	Nereaktívne voči HIV-1 RNA
<30 detegovaných	<1,47	HIV-1 RNA je detegovaná, ale na úrovni nižšej ako LLoQ.	Reaktívne voči HIV-1 RNA
30 až 10 000 000	1,47 až 7,00	Koncentrácia HIV-1 RNA je v lineárnom rozsahu 30 až 10 000 000 kópií/ml.	Reaktívne voči HIV-1 RNA
> 10 000 000	> 7,00	Koncentrácia HIV-1 RNA je nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ).	Reaktívne voči HIV-1 RNA
Neplatný ^d	Neplatný ^d	Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Vzorku je nutné opätovne otestovať.	Neplatný ^d

^a Konverzný faktor pre kópie na medzinárodné jednotky (IU) pre 3. medzinárodný štandard pre HIV-1 RNA (10/152) je 0,35 kópií/IU.

^b Hodnota je skrátená na dve desatinné hodnoty.

^c Diagnostická interpretácia sa u vzoriek, ktoré boli nariedené, nemá vyvodzovať z výsledku „non-reactive“ (nereaktívny). Získajte novú neriedenú vzorku a zopakujte testovanie.

^d Neplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

Keď sú výsledky dostupné na obrazovke Results (Výsledky), hodnotu kvantifikácie pre každý cieľ môžete získať v softvéri systému Panther pomocou funkcie Sample Curve Report (Správa o krivke vzorky). Ak si chcete prezrieť hodnoty a amplifikačné krivky, vyberte položku Sample ID (ID vzorky) pre vzorku na obrazovke Results (Výsledky) softvéru systému Panther. Následne vyberte tlačidlo „Curve Data“ (Údaje krivky). Otvorí sa okno obsahujúce položku Sample Curve Report (Správa o krivke vzorky), ktorá obsahuje profily fluorescence a hodnoty kvantifikácie pre vzorku.

Poznámka: Údaje získané z položky Sample Curve Report (Správa o krivke vzorky) slúžia len na informačné účely (napr. riešenie problémov a verifikácia krivky). Validovaný výsledok, ktorý sa má pre vzorku hlásiť, poskytuje softvér systému Panther na obrazovke Results (Výsledky) a v správe Results (Výsledky).

Poznámka: Ďalšie pokyny týkajúce sa prevádzky systému Panther nájdete v prevádzkovej príručke systému Panther/Panther Fusion.

Kritériá prijateľnosti pre jednotlivé kontroly testu Aptima HIV-1 Quant Dx uvádza Tabuľka 2.

Poznámka: Rozsah zachytenia uvedený nižšie sa posúva na základe pridelennej hodnoty jednotlivých šarží. Pozrite si priradenú koncentráciu uvedenú na vloženom liste kontrolného čiarového kódu, ktorý sa poskytuje s každým kontrolným balením.

Tabuľka 2: Kritériá prijateľnosti rozsahu zachytenia pre test Aptima HIV-1 Quant Dx

Komponent	Rozsah zachytenia pre platné cykly
Negatívna kontrola	Nevzťahuje sa
Nízka pozitívna kontrola	+/- 0,5 log ₁₀ kópií/ml
Vysoká pozitívna kontrola	+/- 0,5 log ₁₀ kópií/ml

Obmedzenia

- Použitie tohto testu je obmedzené na personál, ktorý je vyškolený v danom postupe. Nedodržanie pokynov uvedených v tomto príbalovom letáku môže viesť k chybným výsledkom.
- Spolahlivé výsledky závisia od adekvátneho odberu, transportu, uchovávaní a spracovania vzoriek.
- Tento test bol validovaný na použitie ako kvantitatívny rozbor iba s ľudskou EDTA a ACD plazmou.
- Tento test bol validovaný na použitie ako kvalitatívny rozbor s ľudskou EDTA a ACD plazmou a sérom.
- Mutácie vo vysoko konzervovaných oblastiach vírusového genómu krytých primermi a/alebo sondami v teste Aptima HIV-1 Quant, aj keď vzácné, môžu viesť k zníženej identifikácii alebo nedetegovaniu vírusu.
- Tento test nebol validovaný na použitie u pacientov podstupujúcich terapiu založenú na lentivírusových vektoroch, ako je napríklad CAR-T bunková terapia. Potenciálne prekryvajúce sa oblasti vírusového genómu pokryté primermi a/alebo sondami v teste Aptima HIV-1 Quant Dx môžu mať za následok amplifikáciu lentivírusových vektorov používaných v terapiách založených na lentivírusových vektoroch.

Analytický výkon

Limit detekcie (LoD) podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1

Limit detekcie (LoD) je definovaný ako koncentrácia HIV-1 RNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa štandardu CLSI EP17-A2 (37). LoD bol stanovený testovaním panelov, ktoré pozostávali z riedení 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1 (subtyp B, kód NIBSC: 10/152) v HIV-1 negatívnej EDTA plazme a sére. Bolo spracovaných tridsať replikátov každého riedenia na troch systémoch Panther za použitia troch šarží reagensí, celkom 90 replikátov pre každé riedenie. Podľa štandardu CLSI EP17-A2 sa LoD definovali pomocou výsledkov zo šarže reagensí s najvyššou koncentráciou pre predikovaný limit detekcie LoD a uvádza ich Tabuľka 3. Podľa analýzy Probit je 95 % predikovaný limit detekcie pre LoD testu Aptima HIV-1 Quant Dx 12 kópií/ml (35 IU/ml) v plazme a 8,9 kópií/ml (25 IU/ml) v sére (0,35 kópií = 1 IU).

Tabuľka 3: Limit detekcie testu Aptima HIV-1 Quant Dx podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1

Predikované Limit detekcie	Plazma		Sérum	
	Koncentrácia (kópií/ml)	Koncentrácia (IU/ml)	Koncentrácia (kópií/ml)	Koncentrácia (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 detekcie u rôznych subtypov a skupín HIV-1

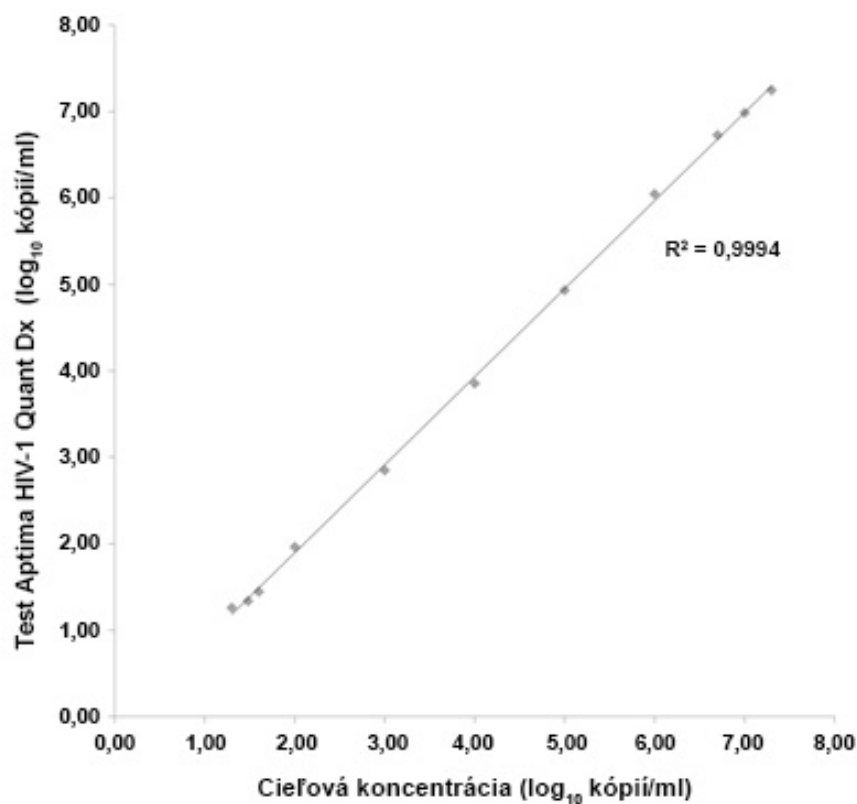
U skupiny M HIV-1 (subtypy A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) a skupín N a O bolo vytvorených šesť pozitívnych panelov a jeden negatívny panel doplnením kultivovaného HIV-1 vírusu alebo pozitívnych klinických vzoriek do HIV-1 negatívnej ľudskej plazmy s EDTA a séra (0 až 40 kópií/ml). Každý člen panelu bol testovaný v 30 replikátoch s dvomi šaržami reagensií, celkom 60 replikátov na člen panelu. Priradenie koncentrácie pre klinické vzorky alebo kultivované zásobné vírusy boli stanovené pomocou porovnávacieho testu. Bola vykonaná probitová analýza s cieľom získať predikované limity detekcie na úrovni 50 % a 95 %. Podľa štandardu CLSI EP17-A2 (37) sú LoD definované pomocou výsledkov zo šarže reagensií s najvyššou koncentráciou pre predikovaný limit detekcie definovaný ako LoD, ako uvádza Tabuľka 4.

Tabuľka 4: Limit detekcie u rôznych subtypov a skupín HIV-1

Subtyp/skupina	Predikovaný limit detekcie	Plazma	Sérum
		Koncentrácia (kópie/ml)	Koncentrácia (kópie/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

Lineárny rozsah

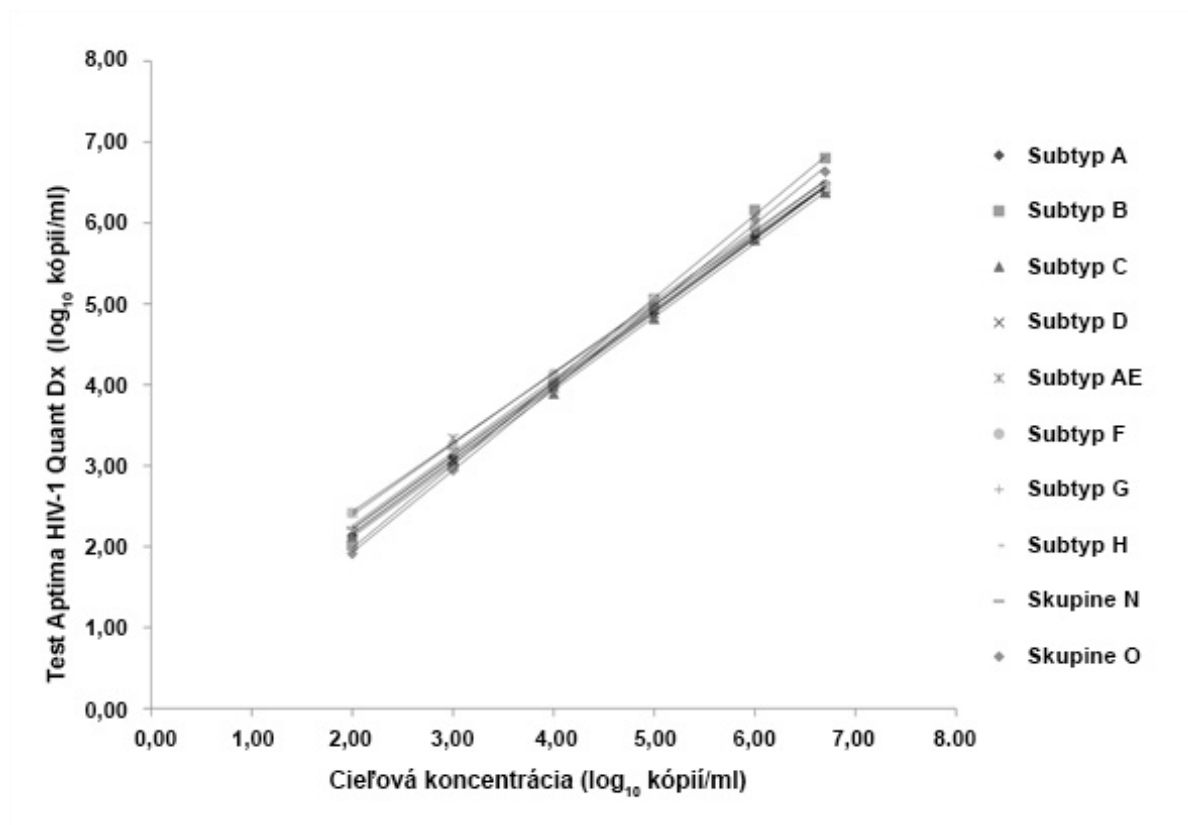
Lineárny rozsah pre test Aptima HIV-1 Quant Dx sa stanovil pomocou testovacích panelov, ktoré pozostávali z kultivovaného vírusu HIV-1 subtypu B nariedeného v HIV-1 negatívnej ľudskej plazme s EDTA podľa štandardu CLSI EP06-A (38). Koncentrácie v paneloch spadali do rozmedzia 1,30 až 7,30 $\log_{10}$ kópií/ml. Testovanie sa vykonalo na siedmych systémoch Panther s dvoma šaržami reagensí. Ako uvádza Obrázok 6, test Aptima HIV-1 Quant Dx preukázal linearitu v testovanom rozsahu.



Obrázok 6. Linearita testu Aptima HIV-1 Quant Dx

Linearita u subtypov a skupín HIV-1

Lineárna odozva testu Aptima HIV-1 Quant Dx u skupiny M (subtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) a skupín N a O sa potvrdila testovacími panelmi, ktoré pozostávali z HIV-1 transkriptu nariedeného v pufri v koncentráciách v rozmedzí 2,00 až 6,70 $\log_{10}$ kópií/ml. Testovanie sa vykonalo v štyroch systémoch Panther a v šiestich cykloch. Linearita bola preukázaná v testovanom rozsahu (Obrázok 7).



Obrázok 7. Linearita v skupine M (subtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) a skupinách N a O

Stanovenie spodného limitu kvantifikácie pomocou 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1

Spodný limit kvantifikácie (LLOQ) je definovaný ako najnižšia koncentrácia, pri ktorej je HIV-1 RNA spoľahlivo kvantifikovaná v rámci celkovej chyby (TE) podľa štandardu CLSI EP17-A2 (37). TE bola vypočítaná pomocou Westgardovho modelu ($TE = |\text{systémová chyba}| + 2 \text{ SD}$). TE testu Aptima HIV-1 Quant Dx bola nastavená na úrovni $1 \log_{10}$ kópií/ml (tzn. pri LLOQ je rozdiel medzi dvomi meraniami vyšší než $1 \log_{10}$ kópií/ml štatisticky významný) s cieľom zaistiť správnosť a presnosť meraní.

LLOQ bol stanovený testovaním panelov, ktoré pozostávali z riedení 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1 (subtyp B, kód NIBSC: 10/152) v HIV-1 negatívnej ľudskej plazme s EDTA. V súlade so štandardom CLSI EP17-A2 boli panely testované s tromi šaržami reagensov v replikátoch po 30 pre každú šaržu z 23 spracovaní. Výsledky uvádza Tabuľka 5. Najvyšší LLOQ v troch testovaných šaržach testu Aptima HIV-1 Quant Dx za použitia 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1 je 15 kópií/ml ($1,17 \log_{10}$ kópií/ml) (Tabuľka 6).

Tabuľka 5: Stanovenie LLOQ testu Aptima HIV-1 Quant Dx podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1

Šarža reagensie	Cieľová koncentrácia ($\log_{10}$ kópií/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ kópií/ml)	SD ($\log_{10}$ kópií/ml)	Systémová chyba ($\log_{10}$ kópií/ml)	Vypočítaná hodnota TE ($\log_{10}$ kópií/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 = smerodajná odchýlka, TE = celková chyba.

Tabuľka 6: : Súhrn LLoQ za použitia 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1 (3 šarže reagencií)

Šarža reagencie	LLoQ (log ₁₀ kópií/ml)	LLoQ (kópií/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verifikácia LLoQ u rôznych subtypov a skupín HIV-1

LLoQ u subtypov HIV-1 a skupín bol verifikovaný podľa štandardu CLSI EP17-A2 (37). Panely boli vyrobené pre každú skupinu M (subtypy A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) a skupiny N a O HIV-1 doplnením spojenej HIV-1 negatívnej ľudskej plazmy s EDTA s prirodzene infikovanými klinickými vzorkami alebo klinickými izolátmi. Testovanie pozostávalo celkovo z 30 replikátov na člena panelu. Údaje v Tabuľka 7 uvádzajú najnižšiu koncentráciu pre každý subtyp alebo skupinu, pri ktorej bola TE nižšia než 1 log₁₀ kópií/ml. Najvyšší LLoQ pre všetky testované subtypy a skupiny bol 30 kópií/ml; táto vyššia hodnota bola teda zvolená ako LLoQ pre test Aptima HIV-1 Quant Dx (Tabuľka 7).

Tabuľka 7: Verifikácia LLoQ podľa subtypu alebo skupiny HIV-1

Panel	LLoQ (kópií/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

Presnosť

Na vyhodnotenie presnosti testu Aptima HIV-1 Quant Dx bol vytvorený panel doplnením kultivovaného vírusu HIV-1 subtyp B do HIV-1 negatívnej plazmy s EDTA a testovaný tromi pracovníkmi obsluhy za použitia troch šarží reagensí na troch systémoch Panther v priebehu 20 dní (Tabuľka 8). Panel pozostával z jedného HIV-1 negatívneho člena panelu a ôsmich HIV-1 pozitívnych členov panelu. Priradenie koncentrácie pre klinické vzorky alebo kultivované zásobné vírusy boli stanovené pomocou porovnávacieho testu.

Tabuľka 8: Presnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx

Počet platných replikátov	Priemerná koncentrácia (log ₁₀ kópií/ml)	Medzi prístrojmi		Medzi operátormi		Medzi šaržami		Medzi cyklami		V rámci cyklov		Spolu	
		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 = variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka.

^a Tento člen panelu bol nariadený prípravkom na riedenie v pomere 1 : 3 a otestovaný na vyhodnotenie presnosti nariadenej vzorky.

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna, k čomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá. Keď k tomu dôjde, SD = 0 a CV = 0 %. Celkový počet testovaných replikátov bol 162 pre každý panel; boli analyzované iba replikáty s numerickou hodnotou.

Potenciálne interferujúce endogénne a exogénne látky

Bola hodnotená náchylnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx na interferenciu spôsobenú zvýšenými hladinami endogénnych látok a liečiv bežne predpisovaných pacientom infikovaným HIV-1. Boli testované HIV-1 negatívne ľudské vzorky plazmy s EDTA a vzorky doplnené o HIV-1 do koncentrácie $3 \log_{10}$ kópií/ml HIV-1 RNA.

Na výkone testu Aptima HIV-1 Quant Dx sa neprejavila interferencia prítomnosti albumínu (90 mg/ml), hemoglobínu (5 mg/ml), triglyceridov (30 mg/ml) ani nekonjugovaného bilirubínu (0,2 mg/ml).

Nebola pozorovaná žiadna interferencia s výkonom testu Aptima HIV-1 Quant Dx v prítomnosti exogénnych látok uvedených v Tabuľka 9 pri koncentráciách na úrovni minimálne trojnásobku $C_{\max}$ (ľudská plazma).

Tabuľka 9: Exogénne látky

Zoskupenie exogénnych látok	Testované exogénne látky
1	Lopinavir, indinavir, sachinavir, ritonavir, nelfinavir mesylát, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapín, efavirenz, rilpivirín, klaritromycín, amfotericín B
3	Tenofovir-dizoproxilfumarát, adefovir-dipivoxil, ribavirín, enfuvirtid, maravirok, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavir sulfát, didanozín, zidovudín, lamivudín, stavudín, entekavir, telbivudín, emtricitabín
5	Paroxetín HCl, fluoxetín, sertralin
6	Ganciklovir, valaciklovir, acyklovir, rifampin/rifampicin, etambutol
7	Ciprofloxacín, azitromycín, amoxicilín, cefalexín, ampicilín, trimetoprim
8	Valganciclovir hydrochlorid, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegylovaný interferón alfa -2b, interferón alfa -2a, interferón alfa -2b
10	Heparín, EDTA, citrát sodný
11	Tipranavir
12	Izoniazid

Klinické vzorky plazmy s EDTA (pozri Tabuľka 10) od pacientov so zvýšenými hladinami definovaných látok alebo od pacientov s ochoreniami boli hodnotené pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx s kópiami 3 log₁₀ HIV-1 RNA a bez nich. Nebola pozorovaná žiadna interferencia vo výkone.

Tabuľka 10: Testované typy klinických vzoriek

Typy klinických vzoriek	
1	Reumatoidný faktor (RF)
2	Antinukleárne protilátky (ANA)
3	Protilátka anti-Jo-1 (JO-1)
4	Systémový lupus erythematosus (SLE)
5	Reumatoidná artritída (RA)
6	Roztrúsená skleróza (MS)
7	Hyperglobulinémia
8	Zvýšená hladina alanínaminotransferázy (ALT)
9	Alkoholická cirhóza (AC)
10	Mnohopočetný myelóm (MM)
11	Lipemická (zvýšený lipid)
12	Ikterická (zvýšený bilirubín)
13	Hemolyzovaná (zvýšený hemoglobín)
14	Zvýšená hladina albumínu
15	Protilátky proti HCV
16	Protilátky proti HBV
17	Protilátky proti HIV-2

Výkon u HIV-1 negatívnych vzoriek

Špecifita testu Aptima HIV-1 Quant Dx sa stanovila pomocou 120 čerstvých a 510 zamrazených HIV-1 negatívnych vzoriek plazmy s EDTA. HIV-1 RNA sa nedetegovala v žiadnej zo 630 vzoriek (špecifita 100 %; 95 % CI: 99,4 – 100 %) (Tabuľka 11).

Tabuľka 11: Špecifita vo vzorkách plazmy

	Čerstvá plazma	Zmrazená plazma	Všetko
Platné opakovania (n)	120	510	630
Nereaktivne	120	510	630
Špecifita (95 % CI)	100 % (97,0 – 100)	100 % (99,3 – 100)	100 % (99,4 – 100)

CI = interval spoľahlivosti

Potenciálne interferujúce mikrobiálne kontaminanty

Potenciálna krížová reaktivita voči patogénom (Tabuľka 12) bola hodnotená v teste Aptima HIV-1 Quant Dx v prítomnosti alebo neprítomnosti 3 log₁₀ kópií/ml HIV-1 RNA v HIV-1 negatívnej ľudskej plazme s EDTA. V prítomnosti patogénov nebola pozorovaná žiadna interferencia vo výkone testu.

Tabuľka 12: Patogény testované z hľadiska skríženej reaktivity

Patogén	Koncentrácia
Vírus hepatitídy A	100 000 PFU/ml ^a
Vírus hepatitídy B	100 000 IU/ml ^b
Vírus hepatitídy C	100 000 IU/ml
Vírus hepatitídy G	100 000 kópií/ml
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000 PFU/ml
Herpes simplex vírus 2 (HSV-2)	75 000 PFU/ml
Ľudský herpes vírus 6	100 000 kópií/ml
Ľudský herpes vírus 8	42 000 PFU/ml
HIV-2	5500 PFU/ml
Ľudský T-bunkový lyfotropný vírus (HTLV)	100 000 vp/ml ^c
Západonílsky vírus	100 000 kópií/ml
Parvovirus B19	100 000 IU/ml
Cytomegalovírus	100 000 kópií/ml
Vírus Epstein a Barrovej	100 000 kópií/ml
Adenovírus typ 5	100 000 PFU/ml
Vírus dengue	100 000 kópií/ml
Vírus 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 = počet jednotiek tvoriacich plak na ml.^b IU/ml = medzinárodné jednotky na ml.^c vp/ml = viriónov na ml.^d CFU/ml = počet jednotiek tvoriacich kolónie na ml.^e IFU/ml = počet jednotiek tvoriacich inklúzie na ml.

Opakovateľnosť klinických vzoriek

Bolo testovaných desať klinických vzoriek plazmy s EDTA a desať vzoriek séra v troch replikátoch pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Priemernú koncentráciu a smerodajnú odchýlku (SD) uvádzajú Tabuľka 13 a Tabuľka 14.

Tabuľka 13: Opakovateľnosť klinických vzoriek plazmy

Vzorka	Plazma	
	Priemerná koncentrácia (log ₁₀ kópií/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 = smerodajná odchýlka

Tabuľka 14: Opakovateľnosť klinických vzoriek séra

Vzorka	Sérum	
	Priemerná koncentrácia (log ₁₀ kópií/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 = smerodajná odchýlka

Riedenie vzorky pomocou prípravku na riedenie vzoriek

Na zhodnotenie riedenia vzoriek bol testovaný panel pozostávajúci z 11 vzoriek s koncentráciami v lineárnom rozsahu testu Aptima HIV-1 Quant Dx, ktorý pozostával z dvoch vzoriek nad ULoQ testu, v čistej a nariedenej forme (1 : 3 alebo 1 : 100 v prípravku na riedenie vzoriek), a to triplicitne (Tabuľka 15).

Tabuľka 15: Riedenie vzorky

Riedenie	Priemerná čistá koncentrácia (log ₁₀ kópií/ml)	Priemerná hlásená koncentrácia ^a (log ₁₀ kópií/ml)	Rozdiel
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 Hlásená koncentrácia je hodnota uvádzaná systémom Panther po uplatnení faktora riedenia.

^b Doplnená vzorka.

^c Všetky výsledky > 7,00 log₁₀ kópií/ml boli odhadované pomocou ďalšej analýzy.

Prenos

Bola vykonaná analytická štúdia s viacerými spracovaniami za použitia doplnených panelov na dvoch systémoch Panther s cieľom potvrdiť, že systém Panther minimalizuje riziko falošne pozitívnych výsledkov vznikajúcich kontamináciou v dôsledku prenosu. Prenos bol hodnotený pomocou doplnených vzoriek s vysokým titrom HIV-1 (7 log₁₀ kópií/ml), ktoré sa striedali s negatívnymi vzorkami HIV-1 v šachovnicovom usporiadaní. Testovanie prebehlo v piatich cykloch. Celková miera prenosu bola 0 % (n=469).

Panel sérokonverzie

Pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx bolo testovaných devätnásť súprav panelov sérokonverzie HIV-1 pozostávajúcich z 204 vzoriek. Detekcia HIV-1 RNA bola porovnaná s detekciou pomocou testov na antigén p24 a testov na protilátky proti HIV-1/2. Počet dní do prvého reaktívneho výsledku testov na antigén p24, testov na protilátky proti HIV-1/2 a testu Aptima HIV-1 Quant Dx uvádza Tabuľka 16. Test Aptima HIV-1 Quant Dx detegoval HIV-1 RNA v priemere 5,58 a 11,16 dní pred testami na antigén p24, resp. protilátky proti HIV-1/2.

Tabuľka 16: Súhrn údajov panelu sérokonverzie

ID panelu	Počet testovaných členov panelu	Počet reaktívnych členov panelu			Dni do prvého reaktívneho výsledku			Rozdiel v dňoch do prvého reaktívneho výsledku (na základe dátumu odberu krvi)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigén HIV p24	Protilátka proti HIV-1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigén HIV p24	Protilátka proti HIV-1/2	Počet dní, o ktorý sa urýchlila detekcia oproti testu na antigén HIV p24	Počet dní, o ktorý sa urýchlila detekcia oproti testu na protilátku Anti-HIV 1/2
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Spolu	204	82	51	20			Priemer Medián	5,58 7	11,16 12

^a Všetky odbery v tomto paneli boli nereaktívne na protilátky proti HIV-1/2. Posledný deň odberu bol použitý ako hodnota „Dni do prvého reaktívneho výsledku“.

Testovanie na protilátky proti HIV-1/2 prebehlo pomocou testu Abbott Anti-HIV 1/2 s nasledujúcimi výnimkami:

^b Panely PRB974, PRB975 a PRB978 boli testované pomocou testu Siemens Anti-HIV 1/2.

Testovanie na antigén HIV-1 p24 bolo vykonané pomocou testu Coulter HIV-1 p24 Ag, s nasledujúcimi výnimkami:

^b Panely PRB974, PRB975 a PRB978 boli testované pomocou testu BioMerieux p24 Ag.

Štúdia ekvivalencie pre sérum, plazmu

Na vyhodnotenie ekvivalencie boli otestované zodpovedajúce súbavy séra a plazmy (25 HIV-1 pozitívnych a 25 HIV-1 negatívnych) a 40 vzoriek doplnených o kultivovaný HIV-1 (50 – 1 000 000 kópií/ml v HIV-1 negatívnej plazme a sére) pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Negatívna zhoda bola 100,0 % (95 % CI: 97,0 % – 100,0 %). Pozitívna zhoda bola 98,4 % (95 % CI: 95,4 % – 99,5 %).

Štúdie reprodukovateľnosti

Reprodukovateľnosť vo vzorkách plazmy

Reprodukovateľnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx vo vzorkách plazmy sa hodnotila na 3 externých pracoviskách. Testovanie vykonali na každom pracovisku dvaja operátori. Počas testovania vykonával každý operátor 2 cykly za deň v priebehu 3 dní pomocou 3 šarží reagensov. Každý cyklus mal 3 replikáty každého člena panelu.

Reprodukovateľnosť sa testovala pomocou členov panelu, ktorý pozostával z plazmy s EDTA negatívnej na HIV-1. Pozitívne členy panelu sa vytvorili pridaním kultivovaného vírusu (HIV-1 subtyp B) do negatívnej plazmy v koncentráciách, ktoré sa pohybovali v lineárnom rozsahu testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabuľka 17 znázorňuje reprodukovateľnosť a presnosť výsledkov testu pre každý pozitívny člen panelu medzi pracoviskami, medzi operátormi, medzi šaržami, medzi dňami, medzi cyklami, v rámci cyklov a celkovo. Keď sa zahrnuli iba vzorky s výsledkami nad spodným limitom kvantifikácie (LLOQ) (vzorky s výsledkami pod LLOQ boli vylúčené), celková SD bola $\leq 0,2 \log_{10}$ kópií/ml pre všetky členy panelu. Keď sa zahrnuli všetky vzorky s detegovateľnou HIV-1 RNA, celkové hodnoty SD zostali nezmenené okrem 1. člena panelu, ktorý mal celkovú SD $0,3 \log_{10}$ kópií/ml.

Pre všetky členy panelu pozitívne na HIV-1 boli hodnoty zhody 100 %. Pre člena panelu negatívneho na HIV-1 sa testovalo 108 replikátov a HIV-1 RNA nebola detegovaná v žiadnom zo 108 replikátov (negatívna zhoda = 100 %, 95 % skóre CI: 96,6 % až 100 %).

Tabuľka 17: Reprodukovateľnosť a presnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx v systéme Panther u členov panelu pozitívnej plazmy

Panel	N ^a	Priemer Log ₁₀ kópií/ml	Medzi pracoviskami		Medzi operátormi		Medzi šaržami		Medzi dňami		Medzi cyklami		V rámci cyklov		Spolu	
			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 = variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka

^a Počet platných výsledkov testov s detegovateľnou HIV-1 RNA.

^b Zahŕňa 22 replikátov hlásených ako <1,47 log₁₀ kópií/ml. Táto vzorka mala priradenú hodnotu 1,176 log₁₀ kópií/ml.

^c Počet platných výsledkov v lineárnom rozsahu testu.

^d Zahŕňa jednu replikáciu hlásenú ako <7 log₁₀ kópií/ml. Táto vzorka mala priradenú hodnotu 7,18 log₁₀ kópií/ml.

Poznámka: Variabilita spojená s niektorými faktormi môže byť numericky negatívna. K tomu môže dôjsť, ak je variabilita v dôsledku týchto faktorov veľmi malá (menej ako 0,01). V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako 0.

Reprodukovateľnosť vo vzorkách séra

Reprodukovateľnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx vo vzorkách séra sa hodnotila na 3 externých pracoviskách. Testovanie vykonali na každom pracovisku dvaja operátori. Počas testovania vykonal každý operátor 1 cyklus za deň v priebehu 5 dní pomocou 1 šarže reagencií. Každý cyklus mal 3 replikáty každého člena panelu.

Reprodukovateľnosť sa testovala pomocou členov panelu pripravených zo séra negatívneho na HIV-1. Dva pozitívne členy panelu sa vytvorili pridaním koncentrácií 3X – 5X LoD a 10X LoD kultivovaného vírusu (HIV-1 subtyp B) do matrice negatívneho séra.

Tabuľka 18 znázorňuje reprodukovateľnosť a presnosť výsledkov testu pre každý pozitívny člen panelu medzi miestami, medzi operátormi, medzi dňami, medzi cyklami, v rámci cyklov a celkovo.

Pre všetky členy panelu pozitívne na HIV-1 boli hodnoty zhody 100 %. Pre člena panelu negatívneho na HIV-1 sa testovalo 90 replikátov a HIV-1 RNA nebola detegovaná v 89/90 replikátov (negatívna zhoda = 98,9 %, 95 % skóre CI: 94,0 % až 99,8 %),

Tabuľka 18: Reprodukovateľnosť a presnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx v systéme Panther u členov panelu pozitívneho séra

Panel	N	Priemerný log ₁₀ kópií/ml	Medzi pracoviskami		Medzi operátormi		Medzi dňami		Medzi cyklami		V rámci cyklov		Spolu	
			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 = log-normálny variačný koeficient, SD = smerodajná odchýlka (log₁₀ kópií/ml).

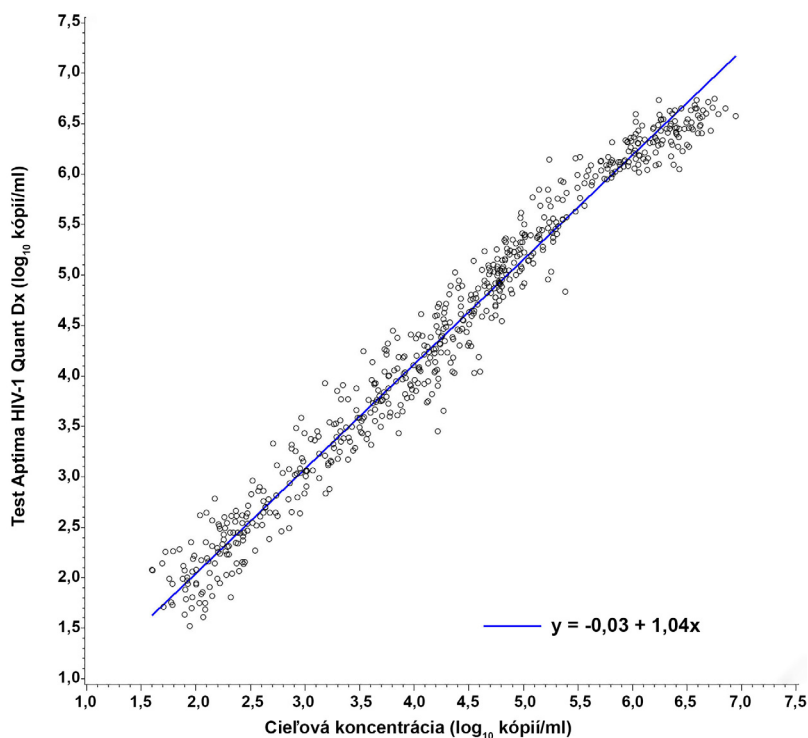
Poznámka: Variabilita niektorých faktorov môže byť číselne negatívna. Môže sa to stať, ak je variabilita spôsobená týmito faktormi veľmi malá. V týchto prípadoch sú SD a CV zobrazené ako 0,00.

Klinický výkon

Validácia kvantifikácie vírusovej nálože

Kvantifikácia HIV-1 RNA sa porovnávala medzi testom Aptima HIV-1 Quant Dx a porovnávacím testom. Štúdia zahŕňala testovanie klinických vzoriek plazmy s EDTA (skladovaných čerstvých alebo zamrazených) a umelo vytvorených vzoriek (kultivovaný vírus pridaný do negatívnych klinických vzoriek plazmy). Každá vzorka sa testovala v duplikáte pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx a porovnávacieho testu. Testovanie testu Aptima HIV-1 Quant Dx sa uskutočnilo na 3 externých pracoviskách, pričom každé pracovisko použilo 3 šarže súpravy reagentov. Testovanie porovnávacieho testu sa uskutočnilo v 1 externom laboratóriu.

Testom Aptima HIV-1 Quant Dx a porovnávacím testom sa testovalo 628 spárovaných súprav vzoriek (v lineárnom rozsahu oboch testov) vytvorených zo 484 zaradených účastníkov a 144 umelých vzoriek. Obrázok 8. znázorňuje výsledky Demingovej regresnej analýzy ($y = -0,03 + 1,04x$).



Obrázok 8. Korelácia medzi testom Aptima HIV-1 Quant Dx a porovnávacím testom

Štúdie klinickej špecificity

Klinická špecificita u vzoriek negatívnych na HIV-1

Predtým zamrazené vzorky plazmy s EDTA negatívne na HIV-1 získané od dobrovoľných darcov plnej krvi sa testovali pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Testovanie sa vykonalo s 3 šaržami súpravy reagensí na 3 externých pracoviskách. Klinická špecificita bola vypočítaná ako percentuálny pomer HIV-1 negatívnych vzoriek s výsledkom „Not Detected“ (Nedetegované). Testovalo sa šesťsto (600) vzoriek plazmy negatívnych na HIV-1 a HIV-1 RNA sa nezistila v žiadnej z 600 vzoriek. Špecificita v negatívnych vzoriek plazmy bola 100 % (600/600, 95 % interval spoľahlivosti (CI): 99,4 % až 100 %).

Klinická špecificita v populácii s nízkym rizikom

Predtým zamrazené vzorky získané od prvodarcov krvi a osôb, ktoré nie sú darcovia krvi, s nízkym rizikom infekcie HIV-1, sa testovali pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Testovanie sa vykonalo s 1 šaržou súpravy reagensí na 1 externom pracovisku. Klinická špecificita sa vypočítala porovnaním výsledkov testu Aptima HIV-1 Quant Dx s výsledkami testu nukleových kyselín (NAT).

Tabuľka 19 ukazuje špecificitu testu Aptima HIV-1 Quant Dx v populácii s nízkym rizikom podľa typu vzorky.

Tabuľka 19: Klinická špecificita testu Aptima HIV-1 Quant Dx v populácii s nízkym rizikom podľa typu vzorky

Typ vzorky	n	TP	FP	TN	FN	Špecificita % (95 % CI) ^a
Všetko	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 spoľahlivosti, FN = falošne negatívny, FP = falošne pozitívny, TN = skutočne negatívny, TP = skutočne pozitívny.

^a CI podľa Clopper-Pearsona.

^b 1 z 2 vzoriek séra s falošne pozitívnymi výsledkami bola pozitívna pri testovaní pomocou 4. generácie kombinovanej imunoanalýzy HIV-1/HIV-2 antigénu/protilátky.

Štúdie klinickej senzitivity

Klinická senzitivita u vzoriek pozitívnych na HIV-1

Predtým zamrazené vzorky pozitívne na HIV-1 sa testovali pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Testovanie sa vykonalo s 2 šaržami súpravy reagensí na 3 pracoviskách vrátane 2 externých pracovísk.

Tabuľka 20 ukazuje senzitivitu testu Aptima HIV 1 Quant Dx u pozitívnych vzoriek podľa typu vzorky.

Tabuľka 20: Klinická senzitivita testu Aptima HIV-1 Quant Dx u vzoriek pozitívnych na HIV-1 podľa typu vzorky

Typ vzorky	n	TP	FN	Senzitivita % (95 % CI) ^a
Všetko	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Sérum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plazma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

CI = interval spoľahlivosti, FN = falošne negatívny, TP = skutočne pozitívny.

^a CI podľa Clopper-Pearsona.

Klinická senzitivita v populácii s vysokým rizikom

Prospektívne zbierané vzorky od jedincov s vysokým rizikom infekcie HIV-1 sa testovali pomocou testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Testovanie sa vykonalo s 1 šaržou súpravy reagensií na 3 pracoviskách vrátane 2 externých pracovísk. Klinická senzitivita sa vypočítala porovnaním výsledkov testu Aptima HIV-1 Quant Dx s výsledkami testu nukleových kyselín (NAT).

Z hodnotiteľných 498 vzoriek bolo 332 vzoriek plazmy a 166 vzoriek séra. Klinická senzitivita bola u vzoriek séra 100 % (1/1, 95 % CI: 20,7 % až 100 %). Senzitivita u vzoriek plazmy nemohla byť hodnotená, pretože sa nepozorovali žiadne skutočne pozitívne alebo falošne negatívne výsledky testu.

Pozitivita v nezhodujúcich sa vzorkách séra

Predtým zamrazené, nezhodujúce sa vzorky séra (t. j. opakovane reaktívne v úvodnej imunoanalýze HIV a neurčité alebo negatívne v doplnkovej imunoanalýze) sa získali od darcov krvi a osôb, ktoré nie sú darcovia krvi, a testovali sa testom Aptima HIV-1 Quant Dx. Zo 473 hodnotiteľných vzoriek sa zvolilo 76 z panelov sérokonverzie. Testovanie sa vykonalo s 2 šaržami súpravy reagensií na 1 internom pracovisku. Vypočítala sa pozitivita pre nezhodujúce sa vzorky séra testované testom Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabuľka 21 ukazuje pozitivitu testu Aptima HIV-1 Quant Dx v nezhodujúcich sa vzorkách séra podľa skupiny vzoriek, typu doplnkového testu na HIV a výsledku doplnkového testu na HIV.

Tabuľka 21: Pozitivita testu Aptima HIV-1 Quant Dx v nezhodujúcich sa vzorkách séra

Typ doplnkového testu	Výsledok doplnkového testu	Pozitivita % (n/N) 95 % CI ^a		
		Skupina panelu bez sérokonverzie		Skupina panelu sérokonverzie
		3. gen.	4. gen.	4. gen.
HIV-1/2 imunochromatografický	Negatívny	Nevzťahuje sa	0,0 (0/11) 0,0 – 25,9	100 (6/6) 61,0 – 100
HIV-1/2 imunochromatografický	Neurčitý	Nevzťahuje sa	100 (1/1) 20,7 – 100	100 (1/1) 20,7 – 100
HIV-1/2 rýchly	Negatívny	Nevzťahuje sa	0,0 (0/11) 0,0 – 25,9	100 (24/24) 86,2 – 100
HIV-1/2 rýchly	Neurčitý	Nevzťahuje sa	0,0 (0/2) 0,0 – 65,8	Nevzťahuje sa
HIV-1 WB alebo IFA	Negatívny	0,4 (1/239) 0,1 – 2,3	100 (4/4) 51,0 – 100	100 (35/35) 90,1 – 100
HIV-1 WB alebo IFA	Neurčitý	0,0 (0/128) 0,0 – 2,9	100 (1/1) 20,7 – 100	100 (10/10) 72,2 – 100

3. gen. = imunoanalýza tretej generácie, 4. gen. = imunoanalýza štvrtej generácie, CI = interval spoľahlivosti, IFA = nepriamy imunofluorescenčný test, N/A = nevzťahuje sa, WB = Western blot.

^a Skóre CI.

Literatura

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daugey, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, 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. Daugey, 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, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W. 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. Lane. 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):224-43.
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.

Kontaktné údaje a história revízií



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



Hologic BV
Da Vinci laan 5
1930 Zaventem
Belgium

Austrálsky zadávateľ
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis špecifické pre vašu krajinu nájdete na stránkach www.hologic.com/support.

Závažné udalosti, ktoré sa vyskytli v Európskej únii v súvislosti s pomôckou, sa musia hlásiť výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom používateľ a/alebo pacient sídli.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion a príslušné logá sú ochranné známky alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

Armored RNA je ochranná známka spoločnosti Asuragen, Inc.

Akékoľvek ďalšie ochranné známky, ktoré môžu byť vyobrazené na tomto príbalovom letáku, sú majetkom príslušných vlastníkov.

Výrobok je chránený jedným alebo viacerými patentmi Spojených štátov amerických, ktoré sú uvedené na stránkach www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-28214-3201 Rev. 002

2025-10

História revízií	Dátum	Opis
AW-28214-3201 Rev. 001	Apríl 2025	• Úvodné vydanie na splnenie požiadaviek IVDR.
AW-28214-3201 Rev. 002	Október 2025	• Táto verzia je v súlade s AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).