

Supplemento DBS al test Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*.
Solo per l'esportazione dagli USA

Informazioni generali	2
Introduzione	2
Uso previsto	2
Riepilogo e spiegazione del test per il campione di DBS	2
Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione clinica	3
Avvertenze e precauzioni	3
Raccolta e conservazione dei campioni biologici per DBS	5
Campioni caricati sul Panther System	6
Trasporto dei campioni biologici	6
Panther System	7
Materiali richiesti ma disponibili a parte per il tipo di campione DBS	7
Procedura di analisi del Panther System	8
Note procedurali per calibratori e controlli	11
Controllo della qualità	12
Calibrazione del test	12
Controlli positivi e negativi	12
Calibratore interno/Controllo interno	12
Interpretazione dei risultati per il DBS	13
Limiti	15
Prestazioni per DBS	16
Limite di rilevamento (LoD) utilizzando il 3° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1	16
Range lineare	17
Precisione	19
Sostanze potenzialmente interferenti	19
Specificità	19
Specificità analitica	20
Prestazioni cliniche	20
Concordanza diagnostica per diagnosi infantile precoce	20
Correlazione fra metodi	20
Bibliografia	24
Recapiti e Cronologia delle revisioni	25

Informazioni generali

Introduzione

Questo foglietto illustrativo è un supplemento al foglietto illustrativo del test *Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay*. Questo documento fornisce spiegazioni, avvertenze e precauzioni e istruzioni per la preparazione e l'analisi del tipo di campione DBS (Dried Blood Spot, gocce di sangue secco) in relazione al test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* per il monitoraggio della carica virale (CV) dell'HIV-1 e la diagnosi precoce neonatale (EID). Per avvertenze e precauzioni generali, nonché per la preparazione dei reagenti per il test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*, fare riferimento al foglietto illustrativo del test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*.

Uso previsto

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è un test di amplificazione dell'acido nucleico *in vitro* per il rilevamento e la quantificazione del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1), gruppi RNA M, N e O sullo strumento interamente automatizzato Panther® System. È destinato all'uso come supporto nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, come conferma dell'infezione da HIV-1 e come supporto nella gestione clinica dei pazienti affetti da HIV-1.

Inoltre, *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* può essere utilizzato come supporto nella diagnosi di infezione acuta o primaria da HIV-1. La presenza dell'RNA dell'HIV-1 nel plasma, nel siero o nel sangue dei pazienti senza anticorpi all'HIV-1 è indicativa dell'infezione acuta o primaria da HIV-1. Il test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* può essere utilizzato come test supplementare per i campioni che mostrano risultati reattivi ripetuti con immunodosaggi HIV approvati. Se il campione è reattivo nel test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*, l'infezione da HIV-1 è confermata.

Il test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* può inoltre essere utilizzato in combinazione con la presentazione clinica e altri marker di laboratorio per la prognosi della malattia nelle persone affette da HIV-1. *HIV-1 Quant Dx Assay* può essere utilizzato anche come supporto nella diagnosi EID dell'infezione da HIV-1 nei neonati al di sotto di 18 mesi mediante DBS. Il test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* può essere utilizzato come supporto nel monitoraggio dell'effetto del trattamento antiretrovirale mediante la misurazione delle modifiche nella concentrazione di RNA dell'HIV-1 nei campioni di plasma e DBS.

Quando *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* viene utilizzato come supporto nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, le prestazioni per i risultati qualitativi vengono stabilite con campioni di plasma e siero nonché campioni di DBS di neonati al di sotto di 18 mesi. Quando utilizzato come supporto nel monitoraggio dell'effetto della terapia antiretrovirale, le prestazioni per i risultati quantitativi vengono stabilite esclusivamente con campioni di plasma e DBS. I campioni di siero non possono essere utilizzati per risultati quantitativi.

Questo esame non è destinato all'uso nello screening dei donatori di sangue o plasma.

Riepilogo e spiegazione del test per il campione di DBS

I campioni di DBS possono essere utilizzati per il monitoraggio del carico virale e per rilevare l'insufficienza virologica a un cut-off di 1.000 copie/mL (1). I campioni di DBS possono anche essere utilizzati come supporto nell'EID dell'infezione da HIV-1 nei neonati al di sotto dei 18 mesi (2).

I neonati affetti da HIV sono ad alto rischio di decesso nel primo anno di vita e l'avvio tempestivo del trattamento antiretrovirale riduce la morbilità e la mortalità in modo significativo.

Il test sierologico dell'HIV per l'EID non è consigliato a causa degli anticorpi IgG materni che possono essere trasferiti attraverso la placenta e persistono in un neonato non infetto fino a 18 mesi di età, condizione che potrebbe condurre a risultati del test dell'anticorpo HIV falsi positivi. Per la diagnosi di infezione da HIV-1 nei bambini al di sotto di 18 mesi, sono necessari esami che rilevino componenti del virus dell'HIV-1, ad esempio l'RNA dell'HIV-1 o l'antigene p24. L'OMS raccomanda l'analisi virologica dei neonati al di sotto di 18 mesi mediante esami del DNA dell'HIV-1, esami dell'RNA dell'HIV-1 o dell'antigene p24 dell'HIV-1. Il DBS è il tipo di campione consigliato per l'EID quando si utilizzano i metodi di rilevamento dell'RNA dell'HIV. (2,3)

Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione clinica

L'SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione clinica) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegato agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare l'SSP relativa al test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, fare riferimento all'identificativo unico del dispositivo di base (Basic Unique Device Identifier - BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB.

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Al fine di ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Panther/Panther Fusion® System Operator's Manual* (Manuale per l'operatore del Panther/Panther® Fusion System) prima di eseguire questo test.

Informazioni pertinenti ai campioni di DBS

- D. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo esame, adottare le precauzioni universali (4,5,6). È necessario stabilire metodi di manipolazione e smaltimento adeguati in conformità alle normative locali (6). Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura.
- E. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.
- F. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol quando si allentano o si tolgono i tappi dei contenitori dei campioni biologici e si elaborano campioni di DBS. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.
- G. Raccogliere e maneggiare il sangue venoso (EDTA) e il sangue prelevato dal polpastrello o dal tallone e utilizzato per preparare il DBS nonché le schede DBS in base alle linee guida locali per la prevenzione della trasmissione di agenti patogeni ematici.
- H. È consigliabile preparare almeno tre gocce di DBS su ciascuna cartina DBS.
- I. La preparazione inappropriata, l'asciugatura, la conservazione e la manipolazione del DBS può portare a risultati del test non accurati.

- J. Verificare che le cartine del DBS siano completamente asciutte prima di conservarle in un sacchetto con chiusura a zip insieme all'essiccante. Campioni di DBS non asciutti a sufficienza possono avere una ridotta stabilità e portare a risultati non precisi.
- K. Verificare che le cartine di DBS inutilizzate vengano conservate e maneggiate in base alle istruzioni del produttore di cartine di DBS.
- L. Per ulteriori dettagli sulla preparazione e la gestione del DBS, consultare le istruzioni del produttore di cartine di DBS.
- M. Per evitare la contaminazione crociata, verificare che gli strumenti utilizzati per tagliare e maneggiare i dischetti contenenti il sangue essiccato vengano decontaminati prima e dopo il contatto con il campione.
- N. Utilizzare il tampone di estrazione DBS solo per l'estrazione dei campioni di DBS. Non utilizzare il diluente dei campioni Aptima o altri tamponi per estrarre i campioni di DBS.
- O. Per ulteriori avvertenze e precauzioni correlate al laboratorio, consultare il foglietto illustrativo del test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*.

Pertinenti al test

- P. Risultati quantitativi del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sono stati valutati con il DBS e il plasma. Il siero non può essere utilizzato per ottenere risultati quantitativi. Sono stati valutati i risultati qualitativi per plasma, siero e DBS. Non utilizzare il kit di reagenti, il calibratore o i controlli dopo la data di scadenza.
- Q. Non utilizzare le cartine di DBS dopo la data di scadenza specificata dal produttore. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti del test provenienti da kit con numeri di lotto master diversi. I liquidi dell'esame possono avere numeri di lotto diversi. I controlli e il calibratore possono avere numeri di lotto diversi.
- R. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- S. Tappare e conservare tutti i reagenti dell'esame alle temperature specificate. Le prestazioni dell'esame possono essere compromesse dall'uso di reagenti di test conservati in modo inappropriato. Consultare *Procedura di analisi del Panther System* per maggiori informazioni.
- T. Non combinare reagenti o liquidi dell'esame senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.
- U. Per informazioni sulla comunicazione dei pericoli, consultare il foglietto illustrativo del test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*.

Nota: le informazioni relative alle comunicazioni in merito alle indicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza UE (SDS). Per le informazioni sulle indicazioni di pericolo specifiche per la propria area geografica, fare riferimento alle SDS specifiche per regione nella libreria delle schede di dati di sicurezza, all'indirizzo www.hologicsds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli alla pagina <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici per DBS

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

È possibile utilizzare campioni di sangue intero raccolti in EDTA o di sangue capillare raccolti dalla puntura di polpastrelli o talloni.

A. Raccolta del campione e preparazione del DBS

- Il sangue intero raccolto in provette di raccolta appropriate può essere conservato fino a 24 ore a una temperatura tra 2 °C e 30 °C prima dell'aggiunta alle cartine di DBS. Prima dell'aggiunta alla cartina di DBS, miscelare con cura. Il sangue capillare può essere raccolto utilizzando la puntura di polpastrelli o talloni in base alla procedura standard e alla prassi locale.
- Aggiungere circa 70 µL di sangue intero al centro dei dischetti di mezzo pollice (12 millimetri) delle cartine Ahlstrom/Munktel TFN o equivalenti, (ad esempio, Whatman 903). Se si utilizza il sangue da puntura al polpastrello o al tallone, aggiungere circa 3-5 gocce (circa 70 µL) in ciascun dischetto, verificando che tutta la superficie del dischetto (entrambi i lati della cartina di DBS) sia satura.
- Asciugare le cartine di DBS all'aria a temperatura ambiente (tra 15 °C e 30 °C) per un periodo di tempo compreso tra 4 e 24 ore. Verificare che le cartine di DBS vengano tenute lontane dalla luce solare diretta, non siano a contatto tra loro e siano completamente asciutte prima di confezionarle, conservarle e spedirle.

Nota: il DBS preparato con sangue non sufficiente, asciugatura insufficiente e/o manipolazione o conservazione inappropriata delle cartine di DBS può causare risultati del test non accurati.

B. Campioni di DBS

Per un massimo di 24 ore dopo la raccolta del campione, le provette di raccolta primarie contenenti sangue intero possono essere conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C, prima della preparazione del DBS (Figura 1, riquadro superiore).

Il DBS preparato può essere conservato in una delle seguenti condizioni (Figura 1, riquadri inferiori):

- Cartina di DBS a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C per un massimo di 12 settimane a temperatura ambiente o
- Cartina DBS a una temperatura compresa tra -15 °C e -35 °C per un massimo di 12 settimane o
- Cartina DBS a 40°C per un massimo di 2 settimane all'85% di umidità.

Prima del test, il DBS estratto nelle SAT può essere conservato tra 15 °C e 30 °C per un massimo di 24 ore.

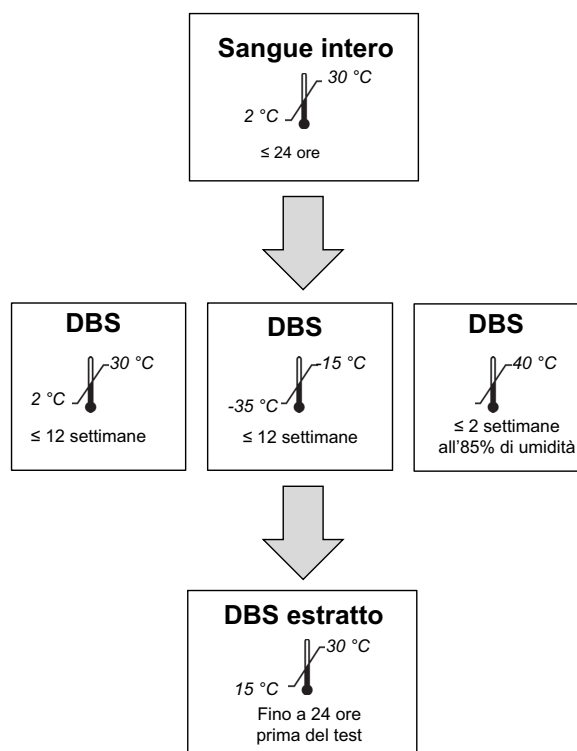


Figura 1. Condizioni di conservazione per il DBS

Campioni caricati sul Panther System

Il DBS estratto può essere lasciato sul Panther System senza tappo per un periodo massimo totale di 8 ore. I campioni possono essere rimossi dal Panther System ed essere analizzati a condizione che il tempo totale di permanenza sullo strumento non superi le 8 ore prima del pipettaggio del campione da parte del Panther System.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni come descritto in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici per DBS*.

Nota: *i campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.*

Panther System

I reagenti del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay per l'uso sul Panther System sono forniti nel foglietto illustrativo del test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*.

Materiali richiesti ma disponibili a parte per il tipo di campione DBS

Nota: salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. cat.
Tampone di estrazione del DBS Aptima® (100 mL)	PRD-04772
Provette per aliquote di campioni SAT Aptima® (confezione da 100)	FAB-18184
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther System, Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti (Panther Plus)	PRD-06067
Tappo per provette di trasporto (confezione da 100)	504415
<i>Tappo per SAT</i>	
Cartine di DBS disponibili in commercio:	—
<i>Cartine Ahlstrom/Munktel TFN o equivalenti (ad esempio, Whatman 903)</i>	
Forbici, forcipi o altri strumenti per staccare la goccia di DBS dalla cartina di DBS.	—
Puntali da 1.000 µL con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le aree geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sull'area geografica.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Tappi di ricambio per reagenti	
<i>Flaconi di ricostituzione dei reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori</i>	CL0041 (100 tappi)
<i>Flacone TCR</i>	CL0040 (100 tappi)
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Puntali	—
Opzioni provetta di raccolta primaria (ACD, EDTA, PPT):	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuga	—
Agitatore oscillante per provette	—

Procedura di analisi del Panther System

Nota: per ulteriori informazioni procedurali, consultare il *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System)*.

A. Estrazione di campioni di DBS

1. Lasciare che campioni biologici raggiungano una temperatura tra 15 °C e 30° C prima di sottoporli al trattamento.
2. Aggiungere 1 mL di tampone di estrazione del DBS nella SAT.
3. Utilizzando uno strumento decontaminato (vale a dire, un puntale per pipette, forcipi o forbici), trasferire il campione di DBS in una SAT contenente il tampone di estrazione del DBS. Ciascun campione di DBS deve essere di circa 12 mm di diametro.

Nota: per le cartine DBS non perforate, verificare che il campione di DBS aderisca al lato della SAT.

4. Chiudere le SAT contenenti il tampone di estrazione del DBS e il DBS completamente, utilizzando i tappi per le provette di trasporto.
5. Agitare delicatamente a temperatura ambiente per 30 minuti. Verificare il tampone di estrazione del DBS venga versato sul campione di DBS durante l'oscillazione. Evitare la formazione di schiuma eccessiva.

Nota: il DBS estratto nella SAT può essere conservato fino a 24 ore a una temperatura tra 15 °C e 30 °C prima del test.

6. Prima del caricamento sul Panther System, centrifugare la SAT contenente il DBS estratto per 2 minuti a 3.000 g.
7. Caricare la SAT contenente il DBS sul Panther System (il DBS estratto può essere conservato sul Panther System per un massimo di 8 ore).

Nota: per evitare la contaminazione crociata, verificare che gli strumenti utilizzati per la preparazione e la manipolazione dei campioni vengano decontaminati tra più campioni.

Nota: le 8 ore di tempo a bordo non si aggiungono al periodo di conservazione di 24 ore dopo l'estrazione.

B. Preparazione del sistema per i campioni di DBS

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Manuale per l'operatore del Panther System)*.
2. Caricare la rastrelliera dei campioni biologici.
3. **Applicare il fattore di conversione goccia di sangue secco** agli ordini di analisi dei test per i campioni di DBS.

Per applicare il fattore di conversione goccia di sangue secco a un'intera rastrelliera di campioni di DBS:

- a. Nella schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera dei campioni), selezionare **Dilute All (Diluisci tutto)**.

Viene visualizzata la finestra *Dilution Factor* (Fattore di diluizione).

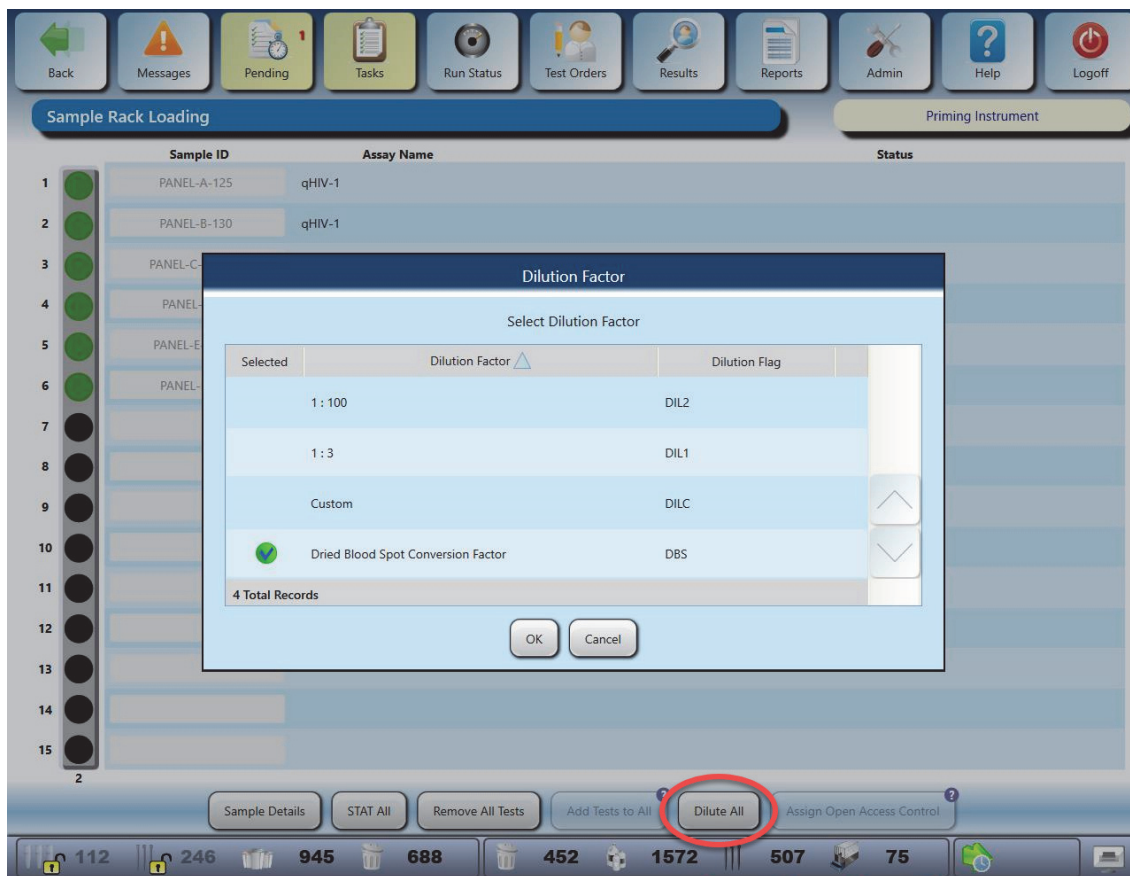


Figura 2. Finestra Dilution Factor (Fattore di diluizione) della schermata Sample Rack Loading (Carico rastrelliera dei campioni)

- b. Selezionare **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco)**.

- c. Selezionare **OK**.

Viene visualizzata una finestra *Set Dilution Factor for Rack* (Imposta fattore di diluizione per la rastrelliera).

- d. Selezionare **Yes (Sì)** per applicare la segnalazione Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) all'intera rastrelliera di campioni di DBS.

Per applicare Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) a un solo ordine di analisi (ad esempio, terzo campione della rastrelliera, vedere la figura di seguito):

- a. Nella schermata *Sample Details* (Dettagli campione), selezionare l'ordine di analisi da trattare e selezionare **Apply Dilution (Applica diluizione)**.

Viene visualizzata la finestra *Dilution Factor* (Fattore di diluizione).

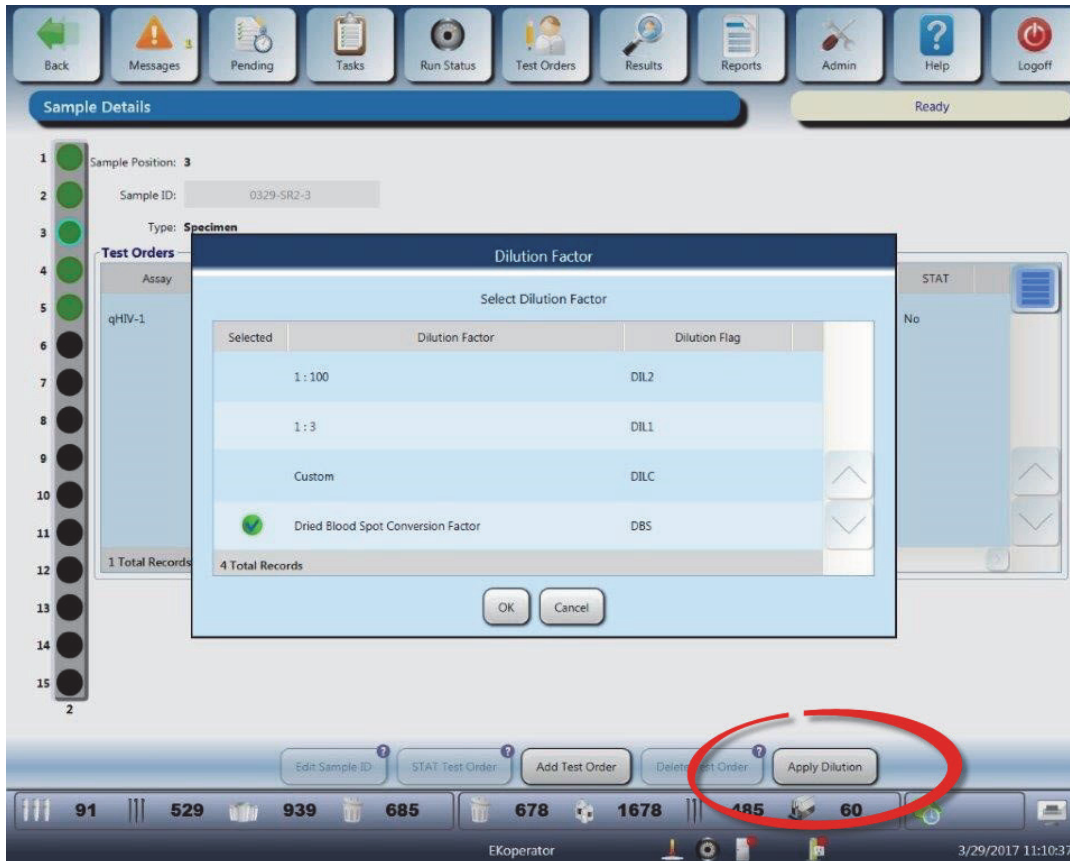


Figura 3. Finestra Dilution Factor (Fattore di diluizione) della schermata Sample Details (Dettagli campione)

- b. Selezionare **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco)**.
- c. Selezionare **OK** per applicare la segnalazione Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) a tutti gli ordini di analisi selezionati.

Se necessario, il Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) può essere rimosso dagli ordini di analisi prima di iniziare il trattamento.

Per eliminare il Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) da un'intera rastrelliera:

1. Nella schermata *Sample Rack Bay* (Scomparto rastrelliera campioni) fare doppio clic sulla rastrelliera caricata d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera campioni) relativa alla rastrelliera selezionata.

2. Selezionare **Dilute All (Diluisci tutti)**.
3. Dalla finestra *Dilution Factor* (Fattore di diluizione), deselezionare **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco)**.
4. Selezionare **OK**.

Viene visualizzata una finestra *Set Dilution Factor for Rack* (Imposta fattore di diluizione per la rastrelliera).

5. Selezionare **Yes (Sì)** per eliminare il Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) da un'intera rastrelliera.

Per eliminare gli ordini di analisi dell'esame Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco):

1. Nella schermata *Sample Rack Bay* (Scomparto rastrelliera campioni), fare doppio clic sulla rastrelliera caricata con i campioni biologici d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera campioni) relativa alla rastrelliera di campioni selezionata.

2. Nella schermata *Sample Rack Loading* (Carico rastrelliera campioni) fare doppio clic sul campione biologico d'interesse.

Viene visualizzata la schermata *Sample Details* (Dettagli campione) con gli ordini di analisi correnti per il campione biologico selezionato.

3. Selezionare l'ordine di analisi di interesse dal pannello *Test Orders* (Ordini di analisi).
4. Selezionare **Apply Dilution (Applica diluizione)**.
5. Dalla finestra *Dilution Factor* (Fattore di diluizione), deselezionare **Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco)**.
6. Selezionare **OK** per eliminare il Dried Blood Spot Conversion Factor (Fattore di conversione goccia di sangue secco) dall'ordine di analisi.

Note procedurali per calibratori e controlli

Per i campioni di DBS non vengono forniti controlli DBS positivi e negativi. I campioni di DBS richiedono gli stessi calibratori e controlli utilizzati per i tipi di campione siero e plasma. Fare riferimento al foglietto illustrativo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Controllo della qualità

Il risultato di una sessione analitica o di un campione può essere annullato da un operatore se durante l'esecuzione dell'esame si riscontrano problemi tecnici o difficoltà riconducibili all'operatore o allo strumento e tali difficoltà vengono documentate. In questo caso, i campioni biologici devono essere ritestati.

Calibrazione del test

I campioni di DBS richiedono gli stessi calibratori utilizzati per i tipi di campione siero e plasma. Fare riferimento al foglietto illustrativo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Controlli positivi e negativi

I campioni di DBS richiedono gli stessi controlli utilizzati per i tipi di campione siero e plasma. Fare riferimento al foglietto illustrativo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Calibratore interno/Controllo interno

Ciascun campione contiene un calibratore interno/controllo interno (IC). Fare riferimento al foglietto illustrativo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Interpretazione dei risultati per il DBS

Il Panther System determina automaticamente la concentrazione di RNA dell'HIV-1 nei campioni biologici e nei controlli mettendo a confronto i risultati con una curva di calibrazione. Per i campioni di DBS analizzati, il Panther System referta automaticamente le copie/mL e il \log_{10} copie/mL dell'RNA dell'HIV-1 in base al fattore di conversione del DBS. La conversione log per il valore LoD DBS di 883 copie/mL è 2,95 log copie/mL. L'interpretazione della carica virale dei risultati è fornita nella Tabella 1.

Il Panther System non fornisce un risultato qualitativo (vale a dire, "Reattivo" oppure "Non reattivo") per uso diagnostico (EID). L'operatore deve interpretare in un risultato qualitativo la concentrazione di RNA dell'HIV-1 riportata (vedere la Tabella 2). I campioni biologici con risultati elencati come "Non rilevato" sono non reattivi per l'RNA dell'HIV-1. I campioni biologici con risultati elencati come "<883 rilevati" o i campioni biologici con risultati che rientrano nel range lineare indicano il rilevamento dell'RNA dell'HIV-1 e questi campioni sono reattivi per l'RNA dell'HIV-1. I campioni con risultati <1.900 copie/mL devono essere rianalizzati per confermare la reattività per la diagnosi dell'HIV.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati per i campioni con carico virale DBS

Risultato Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Riportato		Interpretazione della concentrazione di RNA dell'HIV-1
Copie/mL	Valore ^a Log ₁₀	
Non rilevato	Non rilevato	RNA dell'HIV-1 non rilevato.
< 883 rilevate	< 2,95	L'RNA dell'HIV-1 è stato rilevato, ma a un livello al di sotto del limite inferiore di quantificazione per il DBS (LLoQ DBS 883 copie/mL)
Da 883 a 10.000.000	Da 2,95 a 7,00	La concentrazione di RNA dell'HIV-1 è nel range lineare dell'esame per il DBS (da 883 copie/mL a 10.000.000)
> 10.000.000	> 7,00	La concentrazione di RNA dell'HIV-1 è al di sopra del limite superiore di quantificazione (ULoQ).
Non valido ^c	Non valido ^c	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere rianalizzato.

^aIl valore viene troncato a due cifre decimali.

^bI risultati non validi vengono visualizzati in blu.

Tabella 2: Interpretazione dei risultati per i campioni diagnostici di DBS

Risultato Aptima HIV-1 Quant Dx Assay riportato		Interpretazione diagnostica qualitativa dell'utilizzatore
Copie/mL	Valore ^a Log ₁₀	
Non rilevato	Non rilevato	RNA dell'HIV-1 non rilevato.
< 883 rilevate oppure Da 883 a 1900	< 2,95 oppure da 2,95 a 3,28	Eeguire nuovamente l'analisi per confermare i risultati diagnostici reattivi. Solo i positivi confermati sono considerati reattivi. ^b
Da 1901 a 10.000.000	Da 3,28 a 7,00	Reattivo per l'RNA dell'HIV-1
> 10.000.000	> 7,00	Reattivo per l'RNA dell'HIV-1
Non valido ^c	Non valido ^c	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere rianalizzato.

^aIl valore viene troncato a due cifre decimali.

^bWorld Health Organization, Policy Brief. July 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Geneva, Switzerland (7).

^cI risultati non validi vengono visualizzati in blu.

Limiti

- A. L'uso di questo test va limitato al personale che è stato addestrato all'esecuzione della procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. Verificare che l'esame venga utilizzato con il software del Panther System versione 6.2 o successiva.
- C. Metodologie di analisi diverse possono dare valori riportati differenti. Per ridurre il rischio di errata interpretazione dei risultati nella fase di passaggio all'utilizzo di un nuovo saggio, è raccomandata la validazione delle metodiche per stabilire e valutare le differenze ottenute nei risultati.
- D. Raccolta, trasporto, conservazione e trattamento dei campioni inadeguati possono dar luogo a risultati non accurati.
- E. Questo esame è stato approvato per l'uso con le cartine DBS Ahlstrom/Munktel TFN e Whatman 903. Verificare che le cartine di DBS siano approvate per soddisfare requisiti specifici di laboratorio.
- F. Verificare che le cartine di DBS siano maneggiate e conservate in conformità alle istruzioni del produttore.

Prestazioni per DBS

Limite di rilevamento (LoD) utilizzando il 3° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Si definisce limite di rilevamento (LoD) la concentrazione di RNA dell'HIV-1 rilevata con una probabilità del 95% o maggiore in conformità al CLSI EP17-A2 (8). Il valore LoD è stato determinato analizzando i gruppi composti da diluizioni del 3° standard internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (sottotipo B, codice NIBSC: 10/152) nel sangue intero negativo all'HIV-1. Trenta replicati per ogni diluizione sono stati eseguiti su tre Panther System utilizzando tre lotti di reagente, per un totale di 90 replicati per ciascuna diluizione. In base al CLSI EP17-A2, i risultati del lotto di reagente con la concentrazione più elevata per il limite di rilevamento previsto sono definiti come LoD e sono visualizzati nella Tabella 3. Tramite l'analisi Probit, il valore LoD per l'Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è di 848,4 copie/mL (intervallo di confidenza del 95% 660,7–1.208,8 copie/mL) o 2424,0 UI/mL (intervallo di confidenza del 95% 1887,8–3453,8 UI/mL, 0,35 copie = 1 UI).

Tabella 3: LoD dell'Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con DBS utilizzando il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Limite di rilevamento previsto	Concentrazione (copie/mL)	Concentrazione (UI/mL)
10%	34,4	98,3
20%	68,7	196,3
30%	105,7	302,0
40%	147,2	420,6
50%	194,9	556,9
60%	251,9	719,8
70%	323,9	925,5
80%	423,1	1208,9
90%	625,4	1786,9
95%	848,4	2424,0

Range lineare

Il range lineare del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stato stabilito mediante l'analisi di pannelli composti da virus del sottotipo B dell'HIV-1 in coltura diluito in sangue intero negativo all'HIV-1 in base al CLSI EP06-A (9). Gruppi con range di concentrazione da 2,70 a 7,60 log copie/mL. L'analisi è stata eseguita su quattro strumenti Panther System con due lotti di reagenti di Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Come mostrato nella Figura 4, il test Aptima Quant Dx Assay ha dimostrato linearità nel range analizzato.

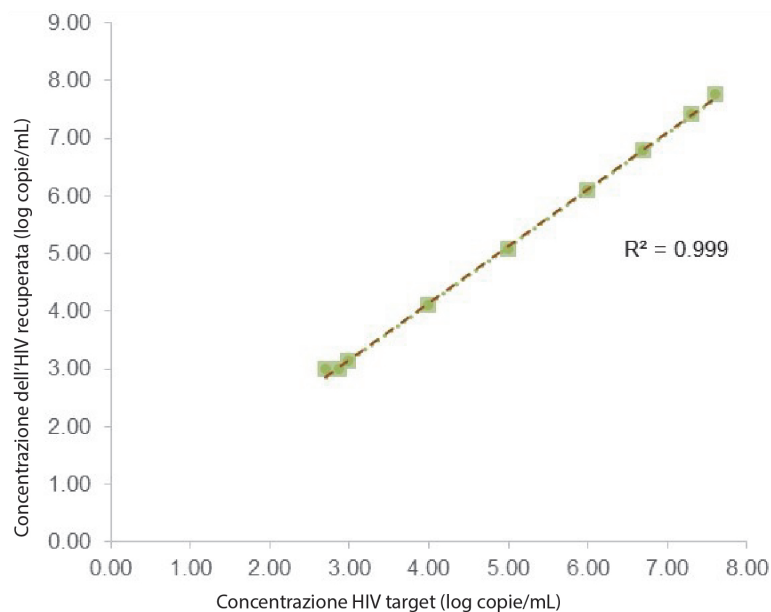


Figura 4. Linearità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con il DBS

Limite inferiore di quantificazione utilizzando il 3° standard internazionale dell'OMS HIV-1

Il limite inferiore di quantificazione (LLoQ) è di 883 copie/mL. Tale limite LLoQ è stato definito e descritto nel CLSI EP-17-A2 per soddisfare i requisiti di LLoQ di reattività >95% e un errore totale di ≤1 log copie/mL.

Tabella 4: Determinazione del Limite inferiore di quantificazione con il tipo di campione DBS utilizzando il 3° standard internazionale dell'OMS dell'HIV-1 con 3 lotti di reagenti

Lotto di reagenti	% positivi	Concentrazione target (log copie/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log copie/mL)	DS (log copie/mL)	Bias (log copie/mL)	TE calcolato con Westgard (log copie/mL)
1	90%	2,78	2,61	0,60	0,17	1,37
	93%	2,85	2,66	0,54	0,18	1,26
	93%	2,90	2,83	0,40	0,07	0,87
	97%	2,95	2,90	0,18	0,06	0,43
	100%	3,00	2,98	0,22	0,02	0,46
	100%	3,08	3,03	0,22	0,05	0,48
2	93%	2,78	2,57	0,59	0,20	1,38
	97%	2,85	2,76	0,44	0,09	0,97
	93%	2,90	2,66	0,54	0,24	1,32
	97%	2,95	2,79	0,47	0,17	1,10
	97%	3,00	2,78	0,46	0,22	1,15
	97%	3,08	2,91	0,37	0,17	0,91
3	100%	2,78	2,80	0,52	0,02	1,05
	100%	2,85	2,83	0,36	0,01	0,74
	100%	2,90	2,89	0,36	0,02	0,74
	100%	2,95	2,94	0,50	0,02	1,01
	100%	3,00	2,95	0,23	0,05	0,51
	97%	3,08	3,07	0,16	0,01	0,33

Tabella 5: Riepilogo dell'LLoQ

Lotto di reagenti	LLoQ (log copie/mL)	LLoQ (copie/mL)
1	2,90	787
2	2,91	817
3	2,95	883

Precisione

Per valutare la precisione del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, è stato eseguito un pannello aggiungendo il virus del sottotipo B dell'HIV-1 nel sangue intero negativo all'HIV-1. Tre operatori hanno analizzato i pannelli su tre strumenti Panther System utilizzando tre differenti lotti di reagenti nel corso di 20 giorni (vedere la Tabella 6). Il pannello era composto da un membro del pannello negativo all'HIV-1 e da cinque membri del panel positivi all'HIV-1. L'assegnazione della concentrazione per i campioni clinici o stock di virus in coltura è stata determinata analizzando il tipo di campione di DBS nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabella 6: Precisione del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con DBS

Numero di replicati validi	Concentrazione media (log copie/mL)	Tra strumenti (DS)	Tra operatori (DS)	Tra lotti (DS)	Tra sessioni analitiche (DS)	Nella sessione analitica (DS)	Totale (DS)
78	3,46	0,00	0,00	0,07	0,00	0,19	0,19
81	3,94	0,00	0,00	0,07	0,08	0,13	0,13
81	4,81	0,01	0,01	0,01	0,07	0,07	0,07
81	5,89	0,00	0,03	0,01	0,07	0,05	0,05
81	6,72	0,00	0,02	0,02	0,06	0,05	0,05

DS = deviazione standard

Nota: la variabilità di alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, DS = 0. I replicati totali analizzati per ciascun membro del panel sono stati 81; per la valutazione della precisione sono stati utilizzati solo i replicati con risultati quantificabili.

Sostanze potenzialmente interferenti

La suscettibilità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay all'interferenza da parte di livelli elevati di emoglobina e DNA umano è stata valutata analizzando il DBS preparato da sangue intero in assenza di HIV-1 e presenza di 3,42 e 4,7 log copie/mL di HIV-1. Non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni in presenza di emoglobina (5 mg/mL) e DNA genomico umano (2 µg/mL).

Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stato inoltre valutato per l'interferenza per i campioni di plasma e non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni in presenza di sostanze esogene ed endogene. Per l'elenco completo delle sostanze potenzialmente interferenti che sono state valutate per il tipo di campione del plasma, consultare il foglietto illustrativo del test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*.

Specificità

La specificità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stata determinata analizzando i campioni di DBS preparati con sangue di 500 donatori negativi all'HIV-1 su tre lotti di reagenti. La specificità dell'esame con DBS è stata del 99,6% (intervallo di confidenza del 95% tra 98,6% e 99,9%).

Specificità analitica

La reattività crociata potenziale ai patogeni presenti nel sangue intero è stata valutata nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay analizzando il DBS preparato da sangue intero al quale sono state aggiunte 1e6 cellule/mL di ciascun organismo in assenza di HIV-1 e presenza di 3,42 e 4,7 log copie/mL di HIV-1. Nessuna interferenza nelle prestazioni è stata osservata analizzando il DBS contenente *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti Gray*, *Plasmodium falciparum* e *Toxoplasma gondii* in presenza e in assenza di HIV-1.

Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stato inoltre valutato per la reattività crociata per i campioni di plasma e non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni in presenza di patogeni. Per l'elenco completo dei patogeni valutati per il tipo di campione del plasma, consultare il foglietto illustrativo del test *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay*.

Prestazioni cliniche

Concordanza diagnostica per diagnosi infantile precoce

Per valutare la concordanza diagnostica, sono stati preparati dei campioni di DBS dalla puntura del tallone o del polpastrello di neonati ≤ 18 mesi nati da madri positive all'HIV-1 in Kenya, Africa. Tali neonati sono stati analizzati utilizzando un singolo DBS per test nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e un esame di confronto qualitativo dell'HIV-1 con marchio CE. Come mostrato nella Tabella 7, 1975 i campioni hanno avuto risultati validi in entrambi gli esami. Per l'esame di confronto qualitativo con marchio CE, tutti i campioni con risultati positivi sono stati analizzati nuovamente e solo i risultati di reattività confermata sono stati categorizzati come "Reattivo". Tutti i risultati di campione non reattivi sono stati categorizzati come "Target Not Detected" (Target non rilevato). Per Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, i risultati del test interpretati come equivoci (vedere la Tabella 2), sono stati analizzati nuovamente. La concordanza diagnostica per diagnosi infantile precoce tra i due esami è stata del 99,6%.

Tabella 7: Concordanza diagnostica fra il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e il test di confronto

		Esame di confronto con marchio CE	
		Target non rilevato	Rilevato
Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	Target non rilevato	1888	4
	Rilevato	3	80

Correlazione fra metodi

Le prestazioni del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay per il tipo di campione DBS sono state valutate confrontando i risultati DBS con il risultato del plasma del test Aptima. In questo studio è stato arruolato un totale di 258 pazienti affetti da HIV-1 provenienti da 5 siti di raccolta in Kenya, Africa. Da ciascun paziente, i campioni di DBS sono stati utilizzati preparando sia il sangue capillare (puntura del polpastrello) sia il sangue venoso. Dallo stesso paziente è stato ottenuto anche il plasma. Tutte le analisi del test Aptima per i campioni di DBS e plasma sono state condotte con un solo lotto di reagenti. I risultati dei campioni che sono stati quantificati con ciascun tipo di campione sono stati analizzati mediante regressione lineare con minimi quadrati come mostrato nelle Figure 5, 6 e 7.

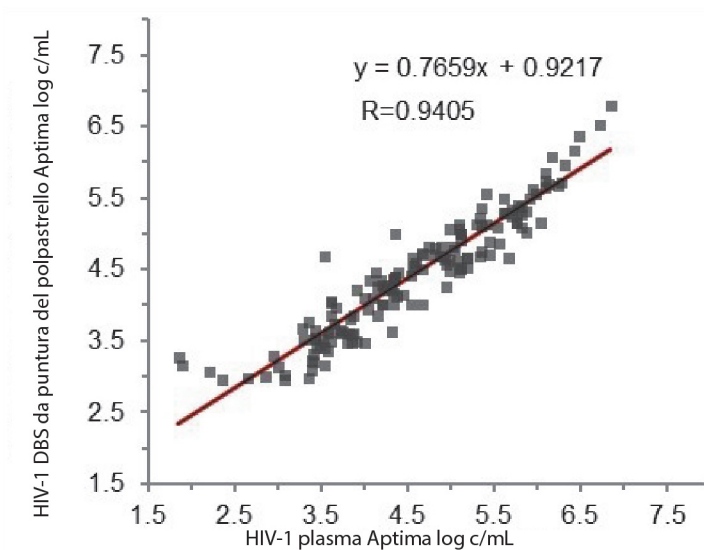


Figura 5. Correlazione tra DBS da puntura del polpastrello e plasma

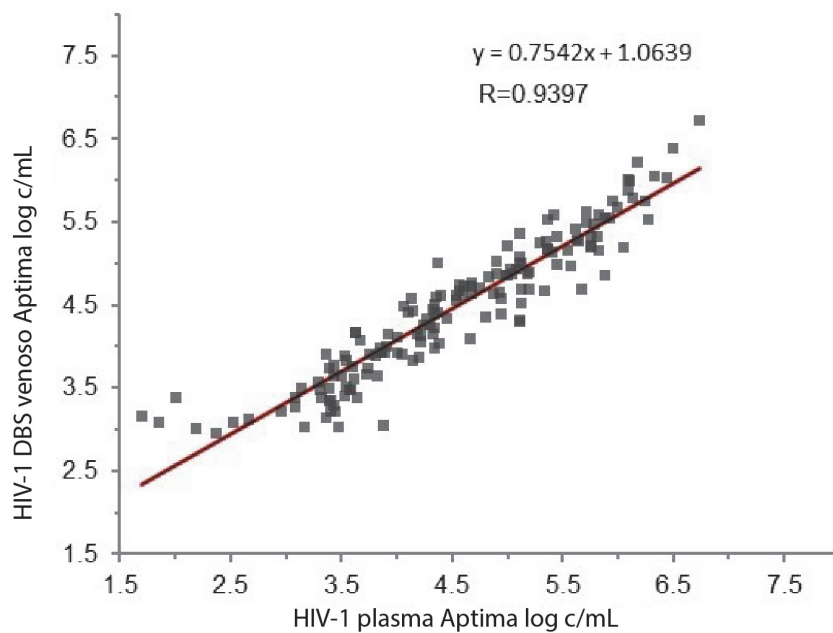


Figura 6. Correlazione tra DBS venoso e plasma

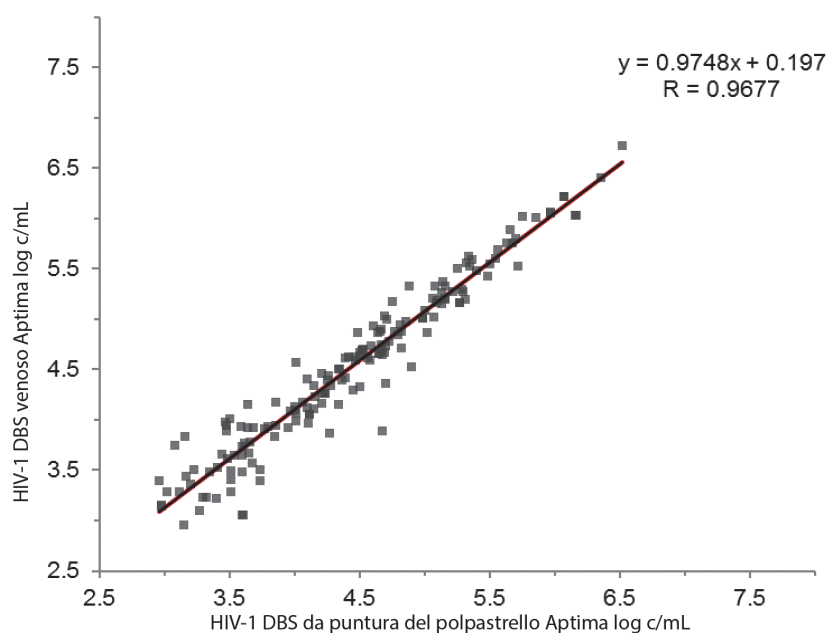


Figura 7. Correlazione tra DBS da puntura del polpastrello e DBS venoso

I risultati della concordanza di DBS e plasma sono stati valutati anche a una soglia di 1.000 copies/mL. (Tabelle 8 e 9). I risultati della concordanza positiva e negativa tra DBS da puntura del polpastrello e plasma sono stati rispettivamente di 92,95% e 93,14%. I risultati della concordanza positiva e negativa tra DBS venoso e plasma sono stati rispettivamente di 96,15% e 90,20%. I risultati della concordanza positiva e negativa tra DBS venoso e DBS da puntura del polpastrello sono stati rispettivamente di 91,25% e 93,88% (Tabella 10). La concordanza totale dei risultati HIV-1 per il plasma con i risultati HIV-1 della DBS da puntura del polpastrello e DBS venoso sono stati rispettivamente di 93,02% e 93,80%.

Tabella 8: Concordanza tra DBS da puntura del polpastrello e plasma nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Plasma Aptima	
		< 1.000	> 1.000
Aptima DBS da puntura del polpastrello	< 1.000	95	11
	> 1.000	7	145

Tabella 9: Concordanza tra DBS venoso e plasma nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Plasma Aptima	
		< 1.000	> 1.000
Aptima DBS venoso	< 1.000	92	6
	> 1.000	10	150

Tabella 10: Concordezza tra DBS venoso e DBS da puntura del polpastrello nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		DBS venoso Aptima	
		< 1.000	> 1.000
Aptima DBS da puntura del polpastrello	< 1.000	92	14
	> 1.000	6	146

Bibliografia

1. **World Health Organization, Access to HIV Diagnostics.** July 2014. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing: Interim Technical Update. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/HIV>.
2. **World Health Organization and Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS).** 2010. WHO Recommendations on the Diagnosis of HIV Infection in Infants and Children. Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/HIV>.
3. **Marston M et al.** Net Survival of Perinatally and Postnatally HIV-infected Children: a Pooled Analysis of Individual Data from Sub-Saharan Africa. *International Journal of Epidemiology* 2011; 40:385-396.
4. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline. Documento CLSI MM13-A. Wayne, PA. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
5. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
6. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2011. Clinical Laboratory Waste Management. Documento CLSI GP05-A3. Wayne, PA.
7. **World Health Organization, Policy Brief.** July 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis. HIV Treatment—Interim Guidance. Geneva, Switzerland.
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. Documento CLSI EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline. Documento CLSI EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Recapiti e Cronologia delle revisioni



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australian Sponsor
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'Assistenza tecnica e del servizio di Assistenza clienti specifici del Paese, visitare il sito web www.hologic.com/support.

Incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo nell'Unione europea devono essere segnalati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Hologic, Aptima, Panther e Panther Fusion e i relativi loghi sono marchi commerciali e/o marchi commerciali registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli Stati Uniti e/o in altri paesi.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

© 2018-2025 Hologic, Inc. Tutti i diritti riservati.

AW-29377-701 Rev. 001

2025-08

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-29377-701 Rev. 001	Agosto 2025	• Versione iniziale