

Dodatok o suchej kvapky krvi (DBS) k testu Aptima® HIV-1 Quant Dx

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

| | |
|---|-----------|
| Všeobecné informácie | 2 |
| Úvod | 2 |
| Určené použitie | 2 |
| Súhrn a vysvetlenie testu pre vzorku DBS | 2 |
| Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti | 3 |
| Výstrahy a bezpečnostné opatrenia | 3 |
| Odber a skladovanie preparátov na DBS | 5 |
| Vzorky v systéme Panther | 6 |
| Preprava preparátov | 6 |
| Panther System | 7 |
| Potrebne materiály, ktoré sú k dispozícii samostatne pre typ vzorky DBS | 7 |
| Postup testovania v systéme Panther | 8 |
| Poznámky k postupu pre kalibrátory a kontroly | 11 |
| Kontrola kvality | 12 |
| Kalibrácia testu | 12 |
| Negatívne a pozitívne kontroly | 12 |
| Interný kalibrátor/interná kontrola | 12 |
| Interpretácia výsledkov pre DBS | 13 |
| Obmedzenia | 15 |
| Výkonnosť DBS | 16 |
| Limit detekcie (LoD) podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1 | 16 |
| Lineárny rozsah | 17 |
| Presnosť | 19 |
| Potenciálne interferujúce látky | 19 |
| Špecifita | 19 |
| Analytická špecifita | 20 |
| Klinický výkon | 21 |
| Diagnostická zhoda pre skorú diagnostiku dojčiat | 21 |
| Korelácia metód | 21 |
| Literatúra | 24 |
| Kontaktné údaje a história revízií | 25 |

Všeobecné informácie

Úvod

Tento príbalový leták je dodatkom k príbalovému letáku k testu *Aptima® HIV-1 Quant Dx*. Tento dokument obsahuje vysvetlenia, výstrahy, bezpečnostné opatrenia a pokyny na prípravu a testovanie vzorky suchej kvapky krvi (dried blood spot, DBS) v teste *Aptima HIV-1 Quant Dx* na monitorovanie vírusovej záťaže (viral load, VL) HIV-1 a na skorú diagnostiku dojčiat (early infant diagnosis, EID). Všeobecné výstrahy a bezpečnostné opatrenia, ako aj prípravu reagensí v teste *Aptima HIV-1 Quant Dx* nájdete v príbalovom letáku testu *Aptima® HIV-1 Quant Dx*.

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.

Okrem toho je možné test *Aptima HIV-1 Quant Dx* použiť ako pomôcku pri diagnostike akútnej alebo primárnej infekcie HIV-1. Prítomnosť HIV-1 RNA v plazme, sére alebo krvi pacientov bez protilátok proti HIV-1 svedčí pre akútnu alebo primárnu infekciu HIV-1. Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* je možné použiť ako doplnkový test u preparátov s opakovane reaktívnymi výsledkami získanými pomocou schválených HIV imunoanalýz. Ak je preparát reaktívny v teste *Aptima HIV-1 Quant Dx*, infekcia HIV-1 je potvrdená.

Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* je možné takisto použiť v kombinácii s klinickou prezentáciou a ďalšími laboratórnymi známkami prognózy ochorenia u jedincov infikovaných HIV-1. Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* sa môže používať ako pomôcka pri EID infekcie HIV-1 u dojčiat vo veku menej ako 18 mesiacov pomocou DBS. Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* je možné použiť ako pomôcku pri sledovaní efektu antiretrovírusovej terapie na meranie zmien v koncentrácii HIV-1 RNA vo vzorkách plazmy a DBS.

Pri použití testu *Aptima HIV-1 Quant Dx* ako pomôcky v diagnostike infekcie HIV-1 je výkon pre kvalitatívne výsledky stanovený s preparátmi plazmy aj séra, ako aj so vzorkami DBS od dojčiat vo veku menej ako 18 mesiacov. Pri použití ako pomôcka pri sledovaní efektu antiretrovírusovej terapie je výkon pre kvantitatívne výsledky stanovený iba pre preparáty plazmy a DBS. Preparáty séra je zakázané používať pre kvantitatívne výsledky.

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

Súhrn a vysvetlenie testu pre vzorku DBS

Preparáty DBS sa môžu použiť na monitorovanie vírusovej záťaže a na detekciu virologického zlyhania pri limite 1000 kópií/ml (1). Preparáty DBS sa môžu použiť aj ako pomôcka pri EID infekcie HIV-1 u dojčiat vo veku menej ako 18 mesiacov (2).

Dojčatá infikované vírusom HIV sú v prvom roku života vystavené vysokému riziku úmrtnia a včasné začatie antiretrovírusovej liečby (ART) významne znižuje chorobnosť a úmrtnosť. Sérologické testovanie na HIV pre EID sa neodporúča z dôvodu materských protilátok IgG, ktoré sa môžu preniesť cez placentu a pretrvávajú v neinfikovanom dieťati až do 18 mesiacov života, čo môže viesť k falošne pozitívnemu výsledku testov na HIV protilátky. Pri diagnostike

infekcie HIV-1 u detí vo veku menej ako 18 mesiacov sú potrebné testy, ktoré zisťujú komponenty vírusu HIV-1, napríklad HIV-1 RNA alebo antigén p24. Svetová zdravotnícka organizácia (World Health Organization, WHO) odporúča virologické testovanie dojčiat vo veku menej ako 18 mesiacov pomocou testov na HIV-1 DNA, testov na HIV-1 RNA alebo testovania na HIV-1 antigén p24. Pri použití metód detekcie HIV RNA pri EID je odporúčaným typom vzorky DBS (2,3).

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti

Súhrn údajov o bezpečnosti a účinnosti (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.

Výstrahy a bezpečnostné opatrenia

- A. Len na diagnostické použitie *in vitro*.
- B. Na profesionálne použitie.
- C. Pred vykonaním tohto testu si pozorne prečítajte celý príbalový leták a *prevádzkovú príručku systému Panther/Panther Fusion®*, aby ste znížili riziko neplatných výsledkov.

Súvisiace s preparátom DBS

- D. Preparáty môžu byť infekčné. Pri vykonávaní tohto testu použite univerzálne bezpečnostné opatrenia (4,5,6). Správne metódy manipulácie a likvidácie nájdete v miestnych predpisoch(6). Tento postup smie vykonávať len personál adekvátne vyškolený v práci s testom Aptima HIV-1 Quant Dx a v manipulácii s potenciálne infekčnými materiálmi.
- E. Počas prepravy zachovajte príslušné podmienky na uchovávanie, aby ste zaistili integritu preparátu. Stabilita vzoriek za prepravných podmienok iných, ako sú odporúčané, nebola hodnotená.
- F. Počas manipulácie s preparátmi sa vyhnite krížovej kontaminácii. Zvláštnu pozornosť venujte prevencii šírenia kontaminácie formou aerosólu pri uvoľňovaní alebo odstraňovaní viečok z preparátov a pri spracovávaní vzoriek DBS. Preparáty môžu obsahovať extrémne vysoké hladiny organizmov. Uistite sa, že nádoby na preparáty sa navzájom nedotýkajú, a použité materiály zlikvidujte bez toho, aby prešli cez otvorené nádoby. Vymeňte si rukavice, ak sa dostanú do kontaktu so vzorkou.
- G. Odber venóznej krvi (EDTA) a krvi z vpichu do prsta alebo päty použitej na prípravu DBS, ako aj s kariet DBS, a manipuláciu s nimi vykonávajte v súlade s miestnymi usmerneniami na prevenciu prenosu krvných patogénov.
- H. Na každú kartu DBS sa odporúča pripraviť aspoň tri škrvny DBS.
- I. Nevhodná príprava, sušenie, skladovanie kariet DBS a manipulácia s nimi môžu viesť k nepresným výsledkom testu.
- J. Uistite sa, že karty DBS sú pred uschovaním do vreciek na zips s vysúšadlom úplne vyschnuté. Nedostatočne vyschnuté vzorky DBS môžu mať nižšiu stabilitu a môžu viesť k nepresným výsledkom.

- K. Uistite sa, že skladovanie nepoužitých kariet DBS a manipulácia s nimi sú v súlade s pokynmi výrobcu karty DBS.
- L. Ďalšie podrobnosti o príprave kariet DBS a manipulácii s nimi nájdete v pokynoch výrobcu karty DBS.
- M. Aby sa zabránilo kontaminácii prenosom, zabezpečte, aby sa nástroje používané na rezanie a manipuláciu s kruhmi obsahujúcimi zaschnutú krv dekontaminovali pred kontaktom so vzorkou aj po ňom.
- N. Na extrakciu vzoriek DBS používajte iba extrakčný pufer na DBS Aptima. Na extrakciu preparátov DBS nepoužívajte riedidlo na preparáty Aptima ani iné pufre.
- O. Ďalšie výstrahy a bezpečnostné opatrenia súvisiace s laboratóriom nájdete v príbalovom letáku testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Súvisiace s testom

- P. Kvantitatívne výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx boli vyhodnotené pomocou DBS a plazmy. Sérum je zakázané používať pre kvantitatívne výsledky. Vyhodnotili sa kvalitatívne výsledky pre plazmu, sérum a DBS. Nepoužívajte súpravu reagensí, kalibrátor ani kontroly po dátume expirácie.
- Q. Nepoužívajte karty DBS, ktorým uplynula doba použiteľnosti stanovená výrobcom. Nezamieňajte, nemiešajte ani nekombinujte reagensie zo súprav s rôznymi číslami hlavnej šarže. Testové kvapaliny môžu pochádzať z rôznych šarží. Kontroly a kalibrátor môžu pochádzať z rôznych šarží.
- R. Zabráňte kontaminácii reagensí mikróbmi a nukleázami.
- S. Uzavrite a uložte všetky reagensie na test pri špecifikovaných teplotách. Výkonnosť rozboru môže byť ovplyvnená použitím nesprávne uskladnených reagensí na rozbor. Ďalšie informácie uvádza časť *Postup testovania v systéme Panther*.
- T. Žiadne reagensie na rozbor ani kvapaliny nekombinujte bez konkrétnych pokynov. Reagensie ani kvapaliny nedolievajte. Systém Panther overuje hladiny reagensí.
- U. Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve nájdete v príbalovom letáku testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Poznámka: Oznámenie o nebezpečenstve odráža klasifikácie bezpečnostných údajov EÚ (SDS). Informácie o oznámeniach o nebezpečenstve, ktoré sú špecifické pre váš región, nájdete v SDS pre jednotlivé regióny v knižnici bezpečnostných údajov na adrese www.hologic.com. Viac informácií o symboloch nájdete vo vysvetlení symbolov na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Odber a skladovanie preparátov na DBS

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

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

Je možné použiť preparáty plnej krvi odobrané do EDTA alebo kapilárnu krv odobratú z vpichu do prsta alebo päty.

A. Odber a príprava preparátov DBS

- Vzorky plnej krvi odobraté do vhodných odberných skúmaviek možno pred aplikáciou na karty DBS skladovať až 24 hodín pri teplote 2 °C až 30 °C. Krv pred aplikáciou na kartu DBS dôkladne premiešajte. Odber kapilárnej krvi sa môže vykonať z vpichu do prsta alebo päty v súlade so štandardnými postupmi a miestnou praxou.
- Do stredu 12 mm (pol palca) kruhov na kartách Ahlstrom/Munktel TFN alebo ekvivalentných (napríklad Whatman 903) naneste približne 70 µl plnej krvi. Ak sa používa vpich do prsta alebo päty, naneste do každého kruhu približne 3 – 5 kvapiek (približne 70 µl) a uistite sa, že celý povrch kruhu (obe strany karty DBS) je nasiaknutý krvou.
- Karty DBS nechajte schnúť na vzduchu pri okolitej teplote (15 °C až 30 °C) po dobu 4 až 24 hodín. Dbajte na to, aby sa karty DBS nenachádzali na priamom slnku, nedotýkali sa navzájom a aby boli pred zabalením, uschovaním a odoslaním úplne suché.

Poznámka: DBS pripravené s nedostatočným množstvom krvi, nedostatočné vysušenie a/alebo nevhodná manipulácia s kartami DBS alebo ich skladovanie môžu viesť k nepresným výsledkom testu.

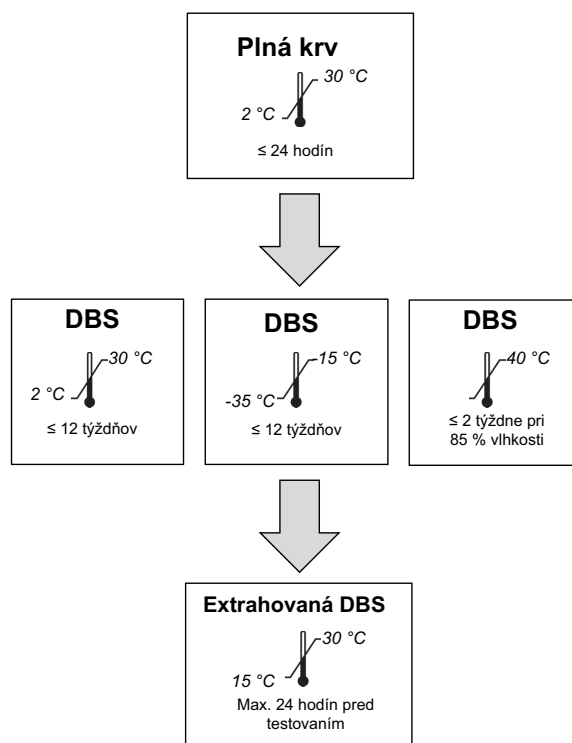
B. Preparáty DBS

Pred prípravou DBS je možné primárne odberné skúmavky obsahujúce plnú krv skladovať až 24 hodín po odbere preparátu pri teplote 2 °C až 30 °C (Obrázok 1, horné pole).

Pripravené DBS možno skladovať pri jedných z nasledujúcich podmienok (Obrázok 1, spodné polia):

- karta DBS pri teplote 2 °C až 30 °C po dobu až 12 týždňov pri okolitej vlhkosti alebo
- karta DBS pri teplote -15 °C až -35 °C po dobu až 12 týždňov alebo
- karta DBS pri teplote 40 °C po dobu až 2 týždňov pri 85 % vlhkosti.

Pred testovaním je možné extrahované DBS v SAT uchovávať pri teplote 15 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín.



Obrázok 1. Podmienky skladovania pre DBS

Vzorky v systéme Panther

Extrahované DBS 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.

Preprava preparátov

Udržujte podmienky pre skladovanie vzoriek podľa popisu v časti *Odber a skladovanie preparátov na DBS*.

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

Panther System

Reagencie pre test Aptima HIV-1 Quant Dx na použitie v systéme Panther sú k dispozícii v príbalovom letáku testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Potrebné materiály, ktoré sú k dispozícii samostatne pre typ vzorky DBS

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

| Materiál | Kat. č. |
|---|--|
| Extrakčný pufer na DBS Aptima® (100 ml) | PRD-04772 |
| Aptima® skúmavky na odber vzoriek (SAT) (balenie po 100 kusoch) | FAB-18184 |
| Panther® System | 303095 |
| Systém Panther Fusion® | PRD-04172 |
| Systém Panther, kontinuálny prietok a odtok (Panther Plus) | PRD-06067 |
| Uzáver prepravnej skúmavky (balenie po 100 kusoch) <i>Uzáver pre SAT</i> | 504415 |
| Komerčne dostupné karty DBS: <i>Karty Ahlstrom/Munktel TFN alebo ekvivalentné (napr. Whatman 903)</i> | — |
| Nožničky, pinzety alebo ďalšie nástroje na uvoľnenie škrvny DBS z karty DBS | — |
| Špičky, 1000 µl, filtrované, vodivé, so snímaním kvapaliny a jednorazové | 901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) |
| <i>Nie všetky produkty sú dostupné vo všetkých oblastiach. Informácie špecifické pre danú oblasť vám poskytne váš zástupca.</i> | MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128 |
| Bielidlo, 5 % až 8,25 % (0,7 M až 1,16 M) roztok chlórnanu sodného | — |
| Jednorazové bezpráškové rukavice | — |
| Náhradné uzávery na reagencie <i>Fľaše na rekonštitučný roztok pre amplifikačnú, enzymatickú a promotorovú reagenciu</i> <i>Fľaštička TCR</i> | CL0041 (100 uzáverov) CL0040 (100 uzáverov) |
| Plastové kryty na laboratórne stoly | — |
| Utierky nepúšťajúce vlas | — |
| Pipetovač | — |
| Špičky | — |
| Možnosti pre primárnu odberovú skúmavku (ACD, EDTA, PPT): <i>13 mm x 100 mm</i> | — |
| <i>13 mm x 75 mm</i> | — |
| <i>16 mm x 100 mm</i> | — |
| Centrifúga | — |
| Trepačka skúmaviek | — |

Postup testovania v systéme Panther

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

A. Extrakcia preparátov DBS

1. Pred spracovaním ponechajte preparáty dosiahnuť teplotu 15 °C až 30 °C.
2. Pridajte do SAT 1 ml extrakčného pufru na DBS.
3. Pomocou dekontaminovaného nástroja (napr. špička pipety, pinzeta alebo nožničky) preneste preparát DBS do SAT obsahujúceho extrakčný pufer na DBS. Každý preparát DBS by mal mať v priemere približne 12 mm.

Poznámka: *Pri neperforovaných kartách DBS zaistite, aby preparát DBS prilnul k bočnej strane SAT.*

4. Pomocou uzáverov prepravných skúmaviek úplne uzavrite SAT s extrakčným pufrom na DBS.
5. Nechajte jemne pretrepávať pri okolitej teplote po dobu 30 minút. Uistite sa, že sa extrakčný pufer na DBS počas pretrepávania prelieva cez preparát DBS. Nevytvárajte nadmernú penu.

Poznámka: *Extrahované DBS v SAT sa môžu pred testovaním skladovať pri teplote 15 °C až 30 °C po dobu až 24 hodín.*

6. Pred vložením do systému Panther centrifugujte SAT s extrahovanými DBS po dobu 2 minút pri 3000 g.
7. Vložte SAT obsahujúce DBS do systému Panther (extrahované DBS možno uchovávať v systéme Panther po dobu až 8 hodín).

Poznámka: *Aby ste zabránili kontaminácii prenosom, zaistite dekontamináciu nástrojov používaných na prípravu preparátov a manipuláciu s nimi medzi jednotlivými preparátmi.*

Poznámka: *8 hodín času v prístroji sa nesčítava s 24-hodinovým obdobím skladovania po extrakcii.*

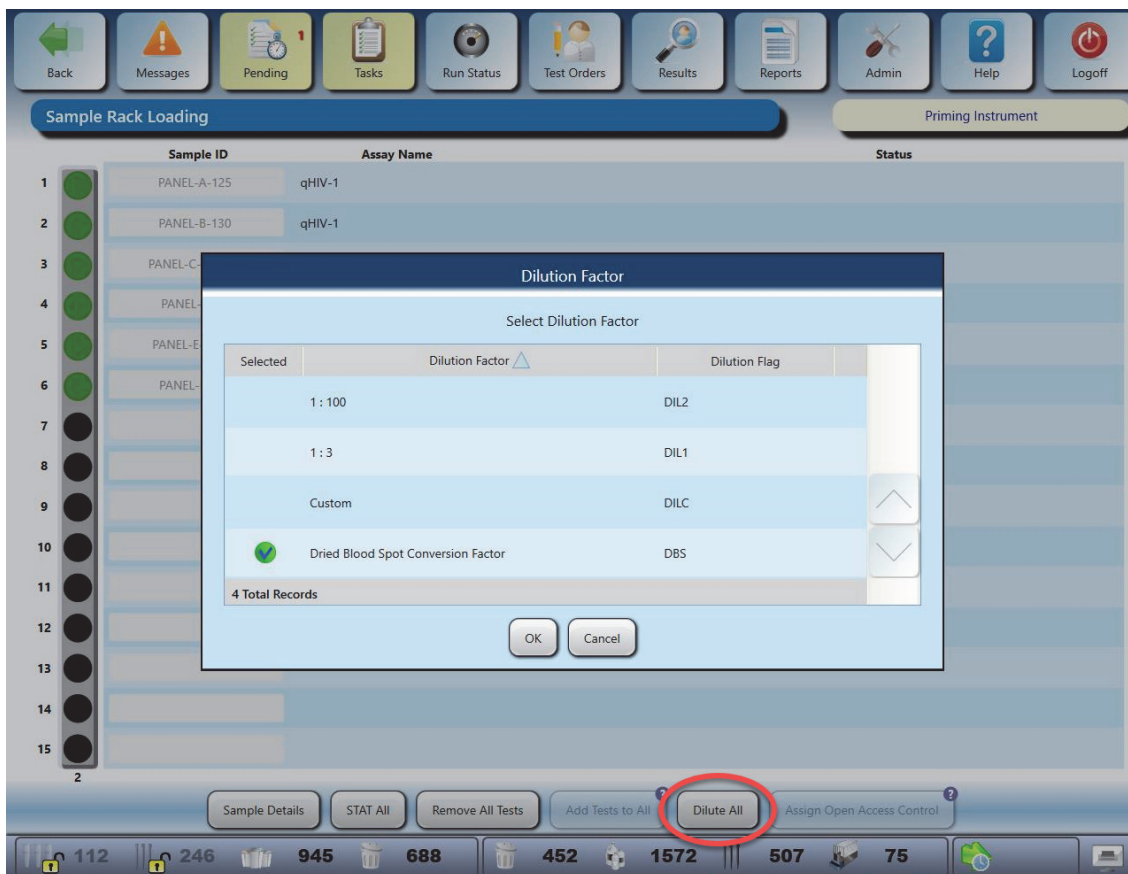
B. Príprava systému na preparáty DBS

1. Nastavte systém podľa pokynov uvedených v príručke pre operátora systému Panther/ Panther Fusion.
2. Vložte stojan na preparáty.
3. Použite **Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi)** na testové príkazy testu na preparáty DBS.

Použitie konverzného faktora suchej kvapky krvi na celý stojan preparátov DBS:

- a. Na obrazovke *Sample Rack Loading* (Vkladanie stojana na vzorky) zvolíte tlačidlo **Dilute All (Riediť všetky)**.

Objaví sa okno *Dilution Factor* (Faktor riedenia).



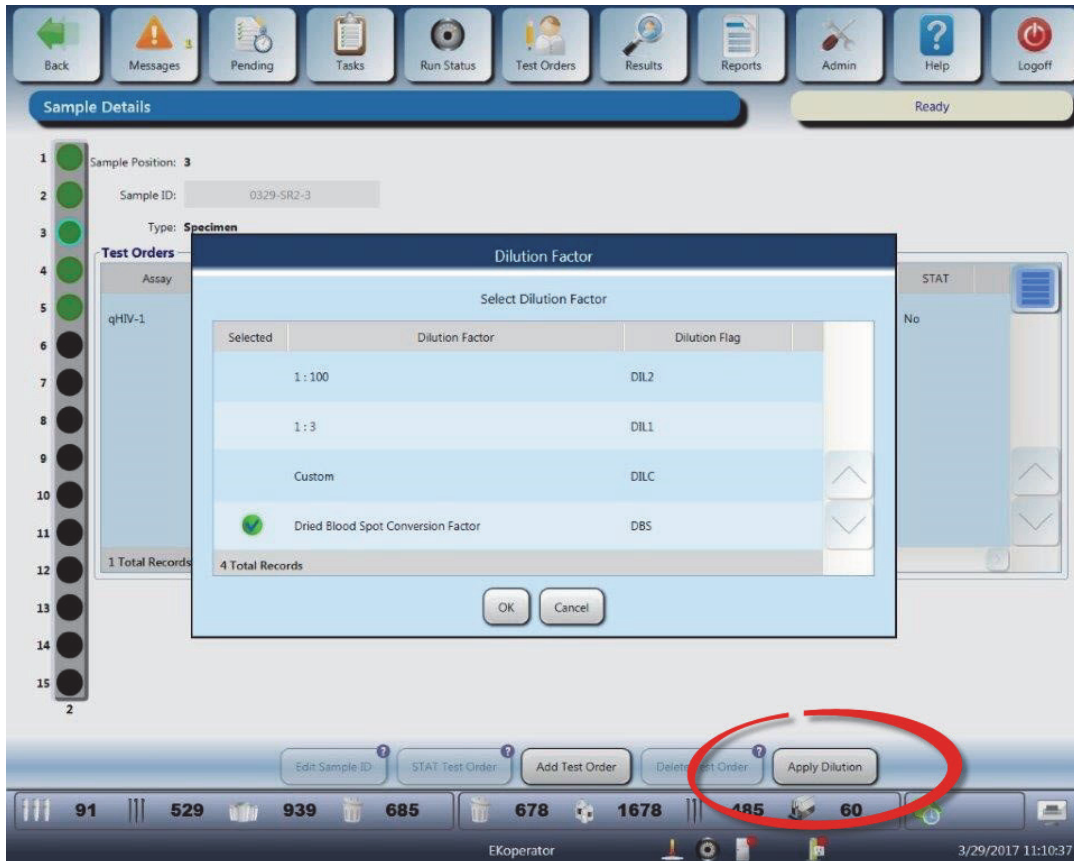
Obrázok 2. Okno Dilution Factor (Faktor riedenia) na obrazovke Sample Rack Loading (Vkladanie stojana na vzorky)

- b. Zvoľte možnosť **Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi)**.
- c. Zvoľte tlačidlo **OK**.
Objaví sa okno *Set Dilution Factor for Rack* (Nastaviť faktor riedenia pre stojan).
- d. Výberom možnosti **Yes (Áno)** použijete konverzný faktor suchej kvapky krvi na celý stojan preparátov DBS.

Postup na použitie Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi) na jeden testový príkaz (napríklad na tretiu skúmavku v stojane, pozrite obrázok nižšie):

- a. Na obrazovke *Sample Details* (Podrobnosti o vzorke) vyberte testový príkaz, ktorý sa má spracovať, a zvolte možnosť **Apply Dilution (Použiť riedenie)**.

Objaví sa okno *Dilution Factor* (Faktor riedenia).



Obrázok 3. Okno *Dilution Factor* (Faktor riedenia) na obrazovke *Sample Details* (Podrobnosti o vzorke)

- b. Zvolte možnosť **Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi)**.
- c. Výberom možnosti **OK** použijete príznak Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi) na všetky zvolené testové príkazy.

V prípade potreby je možné pred spustením spracovania odstrániť konverzný faktor suchej kvapky krvi z testového príkazu.

Vymazanie konverzného faktoru suchej kvapky krvi z celého stojana:

1. Na obrazovke *Sample Rack Bay* (Rezervoár na stojan na vzorky) dvakrát kliknite na vložený stojan záujmu.

Objaví sa obrazovka *Sample Rack Loading* (Vkladanie stojana na vzorky) pre zvolený stojan.

2. Zvolte možnosť **Dilute All (Riediť všetky)**.

3. Z okna *Dilution Factor* (Faktor riedenia) zrušte označenie možnosti **Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi)**.
4. Zvoľte tlačidlo **OK**.
Objaví sa okno *Set Dilution Factor for Rack* (Nastaviť faktor riedenia pre stojan).
5. Výberom možnosti **Yes (Áno)** vymažete konverzný faktor suchej kvapky krvi z celého stojana.

Vymazanie testových príkazov s konverzným faktorom suchej kvapky krvi:

1. Z obrazovky *Sample Rack Bay* (Rezervoár na stojan na vzorky) dvakrát kliknite na vložený stojan s preparátom (preparátmi) záujmu.
Objaví sa obrazovka *Sample Rack Loading* (Vkladanie stojana na vzorky) pre zvolený stojan na vzorky.
2. Na obrazovke *Sample Rack Loading* (Vkladanie stojana na vzorky) dvakrát kliknite na preparát záujmu.
Objaví sa obrazovka *Sample Details* (Podrobnosti o vzorke) s aktuálnymi testovými príkazmi pre zvolený preparát.
3. Z panela *Test Orders* (Testové príkazy) zvoľte testový príkaz záujmu.
4. Zvoľte možnosť **Apply Dilution (Použiť riedenie)**.
5. Z okna *Dilution Factor* (Faktor riedenia) zrušte označenie možnosti **Dried Blood Spot Conversion Factor (Konverzný faktor suchej kvapky krvi)**.
6. Výberom možnosti **OK** vymažete konverzný faktor suchej kvapky krvi z testového príkazu.

Poznámky k postupu pre kalibrátory a kontroly

Pre vzorky DBS sa dodávajú pozitívne a negatívne kontroly DBS. Vzorky DBS vyžadujú pri vzorkách séra a plazmy rovnaké kalibrátory a kontroly. Pozrite si príbalový leták testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Kontrola kvality

Obsluha môže zrušiť platnosť chodu alebo výsledku preparátu v prípade zdokumentovaných problémov technického charakteru, s obsluhou alebo prístrojom pri vykonávaní testu. V takom prípade je nutné preparáty znovu otestovať.

Kalibrácia testu

Vzorky DBS vyžadujú pri vzorkách séra a plazmy rovnaké kalibrátory. Pozrite si príbalový leták testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Negatívne a pozitívne kontroly

Vzorky DBS vyžadujú pri vzorkách séra a plazmy rovnaké kontroly. Pozrite si príbalový leták testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interný kalibrátor/interná kontrola

Každá vzorka obsahuje interný kalibrátor/internú kontrolu (IC). Pozrite si príbalový leták testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interpretácia výsledkov pre DBS

Systém Panther automaticky stanoví koncentráciu HIV-1 RNA pre preparáty a kontroly porovnaním výsledkov s kalibračnou krivkou. Pri otestovaných preparátoch DBS systém Panther automaticky nahlási počet kópií/ml a \log_{10} kópií/ml HIV-1 RNA založený na konverznom faktore DBS. Konverzia log pre LoD DBS v hodnote 883 kópií/ml je 2,95 log kópií/ml. Interpretáciu vírusovej záťaže výsledkov uvádza Tabuľka 1.

Systém Panther neposkytuje kvalitatívny výsledok (tzn. „Reactive“ (Reaktívny) alebo „Non-reactive“ (Nereaktívny)) pre diagnostické použitie (EID). Obsluha musí interpretovať hlásenú koncentráciu HIV-1 RNA do kvalitatívneho výsledku (pozrite Tabuľka 2). Preparáty s výsledkami uvádzanými ako „Non Detected“ (Nedetegované) sú nereaktívne pre HIV-1 RNA. Preparáty s výsledkami uvádzanými ako „<883 detected“ (Detegované <883) alebo vzorky s výsledkami v lineárnom rozsahu informujú, že bola detegovaná HIV-1 RNA a tieto vzorky sú reaktívne voči HIV-1 RNA. Preparáty s výsledkami < 1900 kópií/ml sa musia opätovne otestovať na potvrdenie reaktivity pre diagnózu HIV.

Tabuľka 1: Interpretácia výsledkov pre preparáty DBS na vírusovú záťaž

| Hlásený výsledok testu Aptima HIV-1 Quant Dx | | Interpretácia koncentrácie HIV-1 RNA |
|--|----------------------------------|---|
| Počet kópií/ml | Hodnota \log_{10} ^a | |
| Nedetegované | Nedetegované | HIV-1 RNA nedetegovaná. |
| Detegované < 883 | < 2,95 | HIV-1 RNA je detegovaná, ale na úrovni pod spodným limitom kvantifikácie pre DBS (LLoQ DBS 883 kópií/ml). |
| 883 až 10 000 000 | 2,95 až 7,00 | Koncentrácia HIV-1 RNA je v lineárnom rozsahu testu na DBS (883 kópií/ml až 10 000 000 kópií/ml). |
| > 10 000 000 | > 7,00 | Koncentrácia HIV-1 RNA je nad horným limitom kvantifikácie (ULoQ). |
| Neplatné ^c | Neplatné ^c | Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Preparát je nutné opätovne otestovať. |

^aHodnota je skrátaná na dve desatinné hodnoty.

^bNeplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

Tabuľka 2: Interpretácia výsledkov pre diagnostické preparáty DBS

| Hlásený výsledok testu Aptima HIV-1 Quant Dx | | Diagnostická kvalitatívna interpretácia používateľa |
|--|--|--|
| Počet kópií/ml | Hodnota log ₁₀ ^a | |
| Nedetegované | Nedetegované | HIV-1 RNA nedetegovaná. |
| Detegované < 883 alebo 883 až 1900 | < 2,95 alebo 2,95 až 3,28 | Zopakujte testovanie na potvrdenie reaktívnych diagnostických výsledkov. Za reaktívne sa považujú iba potvrdené pozitívne výsledky. ^b |
| 1901 až 10 000 000 | 3,28 až 7,00 | Reaktívne voči HIV-1 RNA |
| > 10 000 000 | > 7,00 | Reaktívne voči HIV-1 RNA |
| Neplatné ^c | Neplatné ^c | Pri generovaní výsledku došlo k chybe. Preparát je nutné opätovne otestovať. |

^aHodnota je skrátaná na dve desatinné hodnoty.

^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).

^cNeplatné výsledky sa zobrazia modrým písmom.

Obmedzenia

- A. Použitie tohto testu je obmedzené na personál, ktorý je vyškolený v danom postupe. Nedodržanie pokynov uvedených v tejto príbalovej informácii môže viesť k chybným výsledkom.
- B. Uistite sa, že sa tento test používa so softvérom systému Panther verzie 6.2 alebo novšej.
- C. Rôzne metodológie testovania môžu viesť k rôznym hláseným hodnotám. Na zníženie rizika nesprávnej interpretácie výsledkov pri prechode na nový test sa odporúča, aby sa schválili nové metodiky s cieľom zistiť rozdiely v uvádzaných výsledkoch a aby sa tieto rozdiely zohľadnili.
- D. Neprimeraný odber, prenos, skladovanie a spracovanie preparátov môžu viesť k nepresným výsledkom.
- E. Tento test bol schválený na použitie s kartami DBS Ahlstrom/Munktel TFN a Whatman 903. Uistite sa, že karty DBS sú schválené tak, aby spĺňali špecifické požiadavky laboratória.
- F. Uistite sa, že manipulácia s kartami DBS a ich skladovanie je v súlade s pokynmi výrobcu.

Výkonnosť DBS

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

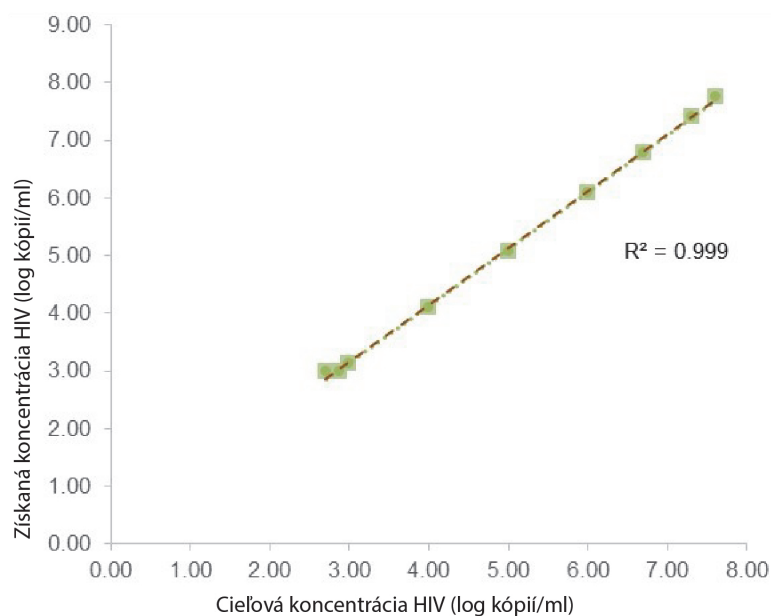
Limit detekcie (LoD) je definovaný ako koncentrácia HIV-1 RNA detegovaná s pravdepodobnosťou 95 % alebo vyššou podľa CLSI EP17-A2 (8). LoD bol stanovený testovaním panelov, ktoré pozostávali z riedení 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1 (subtyp B, kód NIBSC: 10/152) v HIV-1 negatívnej plnej krvi. Bolo spracovaných 30 replikátov každého riedenia na troch systémoch Panther za použitia troch šarží reagensí, celkom 90 replikátov pre každé riedenie. Podľa CLSI EP17-A2 sú výsledky zo šarže reagensí s najvyššou koncentráciou pre predikovaný limit detekcie definované ako LoD a uvádza ich Tabuľka 3. Podľa analýzy Probit je LoD pre test Aptima HIV-1 Quant Dx 848,4 kópií/ml (95 % interval spoľahlivosti 660,7 – 1208,8 kópií/ml) alebo 2424,0 IU/ml (95 % interval spoľahlivosti 1887,8 – 3453,8 IU/ml, 0,35 kópií= 1 IU).

Tabuľka 3: LoD testu Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS podľa 3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1

| Predikovaný limit detekcie | Koncentrácia (počet kópií/ml) | Koncentrácia (IU/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 % | 828,4 | 2424,0 |

Lineárny rozsah

Lineárny rozsah pre test Aptima HIV-1 Quant Dx bol stanovený pomocou testovacích panelov, ktoré pozostávali z kultivovaného vírusu HIV-1 subtypu B nariedeného v HIV-1 negatívnej plnej krvi podľa štandardu CLSI EP06-A (9). Koncentrácie v paneloch spadali do rozmedzia 2,70 až 7,60 log kópií/ml. Testovanie prebehlo na štyroch systémoch Panther s dvomi šaržami reagensií testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Ako uvádza Obrázok 4, test Aptima Quant Dx preukázal linearitu v testovanom rozsahu.



Obrázok 4. Linearita testu Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS

Spodný limit kvantifikácie HIV-1 podľa 3. medzinárodného štandardu WHO

Spodný limit kvantifikácie (LLOQ) je 883 kópií/ml. LLoQ sa stanovil podľa opisu v CLSI EP-17-A2, aby spĺňal požiadavky na LLoQ s > 95 % reaktivitou a celkovou chybou ≤ 1 log kópií/ml.

Tabuľka 4: Stanovenie spodného limitu kvantifikácie s typom vzorky DBS s 3 šaržami reagensii podľa

| Šarža reagensie | % pozitívnych | Cieľová koncentrácia (log kópií/ml) | Aptima HIV-1 Quant Dx (log kópií/ml) | SD (log kópií/ml) | Skreslenie (log kópií/ml) | Vypočítaný Westgard TE (log kópií/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 |
| 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 |

3. medzinárodného štandardu WHO pre HIV-1.

Tabuľka 5: Súhrn LLoQ

| Šarža reagensie | LLOQ (log kópií/ml) | LLOQ (počet kópií/ml) |
|-----------------|---------------------|-----------------------|
| 1 | 2,90 | 787 |
| 2 | 2,91 | 817 |
| 3 | 2,95 | 883 |

Presnosť

Na posúdenie presnosti testu Aptima HIV-1 Quant Dx sa vytvoril panel, v ktorom sa do HIV-1 negatívnej plnej krvi primiešal kultivovaný vírus HIV-1 subtypu B. Traja operátori pomocou troch šarží reagensí otestovali v priebehu 20 dní panely na troch systémoch Panther (pozrite Tabuľka 6). Panel pozostával z jedného HIV-1 negatívneho člena panelu a piatich HIV-1 pozitívnych členov panelu. Priradenie koncentrácie pre klinické preparáty alebo zásoby kultivovaného vírusu sa určilo testovaním typu vzorky DBS v teste Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabuľka 6: Presnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS

| Počet platných replikátov | Priemerná koncentrácia (log kópií/ml) | Medzi prístrojmi (SD) | Medzi operátormi (SD) | Medzi šaržami (SD) | Medzi chodmi (SD) | V rámci chodov (SD) | Spolu (SD) |
|---------------------------|---------------------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|---------------------|------------|
| 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 |

SD = smerodajná odchýlka

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. Celkový počet testovaných opakovaní pre každého člena panelu bol 81. Na posúdenie presnosti sa použili len opakovania s kvantifikovateľnými výsledkami.

Potenciálne interferujúce látky

Citlivosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx na interferenciu zvýšenými hladinami hemoglobínu a ľudskej DNA sa hodnotila testovaním DBS pripravenej z plnej krvi v neprítomnosti HIV-1 a v prítomnosti 3,42 a 4,7 log kópií/ml HIV-1. V prítomnosti hemoglobínu (5 mg/ml) a ľudskej genómovej DNA (2 µg/ml) neboli pozorované žiadne interferencie vo výkonnosti.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx sa hodnotil aj z hľadiska interferencie pri preparátoch plazmy a v prítomnosti exogénnych a endogénnych látok sa nepozorovala žiadna interferencia výkonnosti. Úplný zoznam potenciálne interferujúcich látok, ktoré boli hodnotené pre daný typ vzorky plazmy, nájdete v príbalovom letáku testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Špecifita

Špecifita testu Aptima HIV-1 Quant Dx sa stanovila testovaním preparátov DBS pripravených s krvou z 500 darcov negatívnych na HIV-1 naprieč tromi šaržami reagensí. Špecifita testu s DBS bola 99,6 % (95 % interval spoľahlivosti 98,6 % až 99,9 %).

Analytická špecificita

Potenciálna skrížená reaktivita na patogény prítomné v plnej krvi sa hodnotila v teste Aptima HIV-1 Quant Dx testovaním DBS pripravenej z plnej krvi s pridanými 1e6 bunkami/ml každého organizmu v neprítomnosti HIV-1 a v prítomnosti 3,42 a 4,7 log kópií/ml HIV-1. Pri testovaní DBS obsahujúcej *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti Gray*, *Plasmodium falciparum* a *Toxoplasma gondii* nebola v prítomnosti a neprítomnosti HIV-1 pozorovaná žiadna interferencia.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx sa hodnotil aj z hľadiska skríženej reaktivity pri preparátoch plazmy a v prítomnosti patogénov sa nepozorovala žiadna interferencia výkonnosti. Úplný zoznam patogénov, ktoré boli hodnotené pre daný typ vzorky plazmy, nájdete v príbalovom letáku testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Klinický výkon

Diagnostická zhoda pre skorú diagnostiku dojčiat

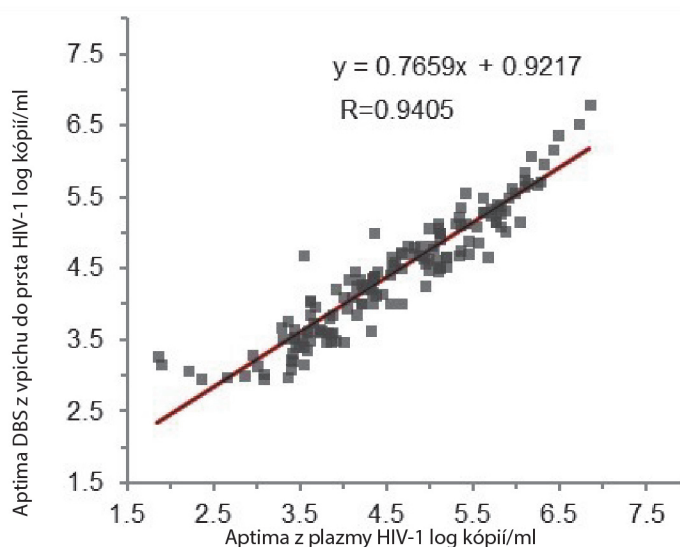
Na posúdenie diagnostickej zhody boli pripravené preparáty DBS z vpichu do päty alebo prsta od dojčiat vo veku ≤ 18 mesiacov narodených HIV-1 pozitívnym matkám v Keni v Afrike. Tieto dojčatá boli testované pomocou jednej DBS na test pre test Aptima HIV-1 Quant Dx a komparátorový kvalitatívny rozbor na HIV-1 s označením CE. Ako je uvedené v Tabuľka 7, 1975 preparátov malo v oboch testoch platné výsledky. Pri komparátorovom kvalitatívnom teste s označením CE boli všetky preparáty s reaktívnymi výsledkami opakovane otestované a iba potvrdené reaktívne výsledky sa kategorizovali ako „Detegované“. Všetky výsledky nereaktívnych vzoriek boli kategorizované ako „Cieľ nedetegovaný“. Pri teste Aptima HIV-1 Quant Dx sa opakovane testovali výsledky testov, ktoré sa interpretovali ako nejednoznačné (pozrite Tabuľka 2). Diagnostická zhoda pre skorú diagnostiku dojčiat medzi dvoma testami bola 99,6 %.

Tabuľka 7: Diagnostická zhoda medzi testom Aptima HIV-1 Quant Dx a komparátorovým testom

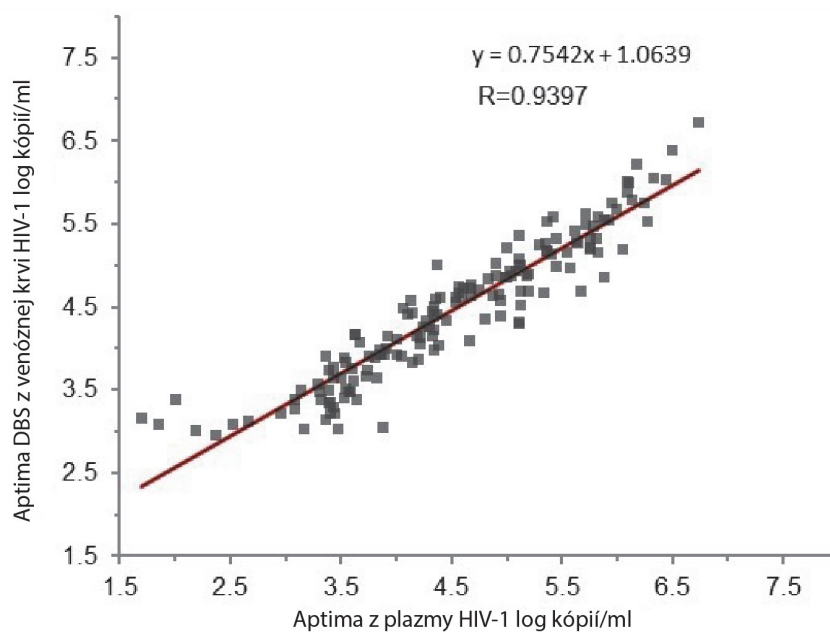
| | | Komparátorový test s označením CE | |
|-------------------------------|-------------------|-----------------------------------|------------|
| | | Cieľ nedetegovaný | Detegované |
| Test Aptima HIV-1 Quant Dx | Cieľ nedetegovaný | 1888 | 4 |
| | Detegované | 3 | 80 |

Korelácia metód

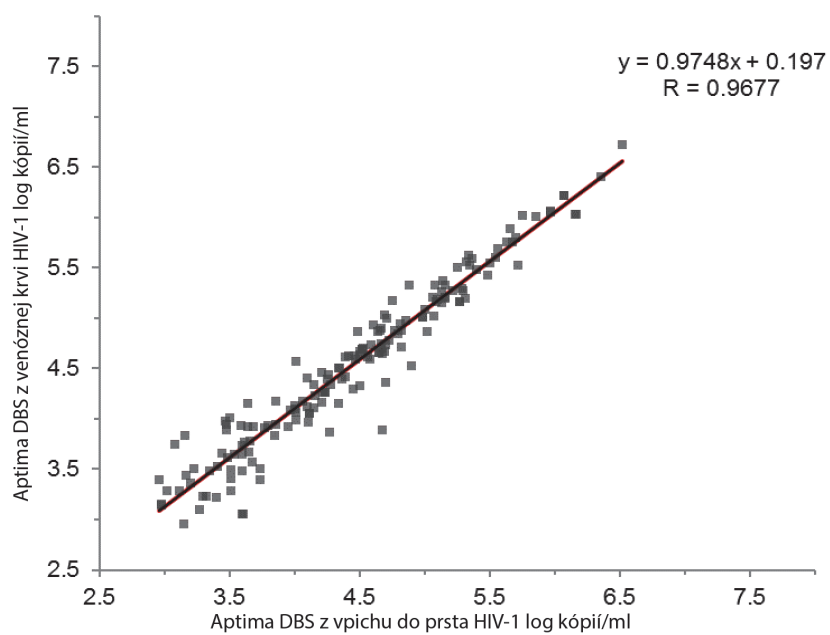
Výkonnosť testu Aptima HIV-1 Quant Dx pre typ vzorky DBS bola hodnotená porovnaním výsledkov DBS s výsledkom testu plazmy Aptima. Do tejto štúdie bolo zaradených 258 pacientov infikovaných vírusom HIV-1 z 5 odberných miest v Keni v Afrike. U každého pacienta sa pripravili preparáty DBS pomocou kapilárnej (vpich do prsta) aj venóznej krvi. Od rovnakého pacienta sa získala aj plazma. Všetky testovania testu Aptima pre preparáty DBS a plazmy sa vykonali s jednou šaržou reagensí. Výsledky z preparátov, ktoré boli kvantifikované s každým typom vzorky, boli analyzované lineárnou regresiou najmenších štvorcov, ako je znázornené na obrázkoch 5, 6 a 7.



Obrázok 5. Korelácia medzi DBS z vpichu do prsta a plazmou



Obrázok 6. Korelácia medzi DBS z venózneho krvi a plazmou



Obrázok 7. Korelácia medzi DBS z vpichu do prsta a DBS z venózneho krvi

Zhoda medzi výsledkami DBS a plazmy boli hodnotené pri hraničnej hodnote 1000 kópií/ml. (Tabuľky 8 a 9). Pozitívna a negatívna zhoda medzi výsledkami DBS z vpichu do prsta a plazmy bola 92,95 % a 93,14 % v príslušnom poradí. Pozitívna a negatívna zhoda medzi výsledkami DBS z venóznej krvi a plazmy bola 96,15 % a 90,20 % v príslušnom poradí. Pozitívna a negatívna zhoda medzi výsledkami DBS z venóznej krvi a DBS z vpichu do prsta bola 91,25 % a 93,88 % v príslušnom poradí (Tabuľka 10). Celková zhoda výsledkov HIV-1 pre plazmu s výsledkami HIV-1 z DBS z vpichu do prsta a DBS z venóznej krvi bola 93,02 % a 93,80 % v príslušnom poradí.

Tabuľka 8: Zhoda medzi DBS z vpichu do prsta a plazmou v teste Aptima HIV-1 Quant Dx

| | | Aptima z plazmy | |
|---------------------------------|--------|-----------------|--------|
| | | < 1000 | > 1000 |
| Aptima DBS z vpichu do prsta | < 1000 | 95 | 11 |
| | > 1000 | 7 | 145 |

Tabuľka 9: Zhoda medzi DBS z venóznej krvi a plazmou v teste Aptima HIV-1 Quant Dx

| | | Aptima z plazmy | |
|-------------------------------|--------|-----------------|--------|
| | | < 1000 | > 1000 |
| Aptima DBS z venóznej krvi | < 1000 | 92 | 6 |
| | > 1000 | 10 | 150 |

Tabuľka 10: Zhoda medzi DBS z venóznej krvi a DBS z vpichu do prsta v teste Aptima HIV-1 Quant Dx

| | | Aptima DBS z venóznej krvi | |
|---------------------------------|--------|----------------------------|--------|
| | | < 1000 | > 1000 |
| Aptima DBS z vpichu do prsta | < 1000 | 92 | 14 |
| | > 1000 | 6 | 146 |

Literatúra

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. CLSI Document 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. CLSI Document 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. CLSI Document 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. 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 Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

E-mailovú adresu a telefónne číslo na technickú podporu a zákaznícky servis pre konkrétnu 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 and Panther Fusion a príslušné logá sú ochranné známky a/alebo registrované ochranné známky spoločnosti Hologic, Inc. a/alebo jej pobočiek v USA a/alebo v iných krajinách.

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

Na tento produkt sa môže vzťahovať jeden alebo viac patentov USA uvedených na stránkach www.hologic.com/patents.

© 2018 – 2025 Hologic, Inc. Všetky práva vyhradené.

AW-29377-3201 Rev. 001

2025-08

| História revízií | Dátum | Popis |
|------------------------|-------------|--------------------|
| AW-29377-3201 Rev. 001 | August 2025 | • Prvotné vydanie. |