

Doplněk suchých krevních kapek (DBS) k testu Aptima® HIV-1 Quant Dx

Návod k použití
Pro diagnostické použití *in vitro*.
Pouze pro vývoz do USA

Obecné informace	2
Úvod	2
Určené použití	2
Souhrn a vysvětlení testu pro vzorek DBS	2
Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci	3
Varování a bezpečnostní opatření	3
Odběr a skladování vzorků pro DBS	5
Vzorky v systému Panther	6
Přeprava klinických vzorků	6
Systém Panther	7
Nezbytné materiály, které jsou však dodávány zvlášť pro typ vzorku DBS	7
Postup testu na systému Panther	8
Procesní poznámky pro kalibrátory a kontroly	11
Kontrola kvality	12
Kalibrace testu	12
Negativní a pozitivní kontroly	12
Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola	12
Interpretace výsledků pro DBS	13
Omezení	15
Výkonnost pro DBS	16
Limit detekce (LoD) pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO	16
Lineární rozsah	17
Přesnost	19
Potenciálně interferující látky	19
Specifita	19
Analytická specifita	20
Klinická funkčnost	21
Diagnostická shoda pro časnou diagnostiku u kojenců	21
Korelace metod	21
Literatura	24
Kontaktní informace a historie revizí	25

Obecné informace

Úvod

Tato příbalová informace je doplňkem k příbalové informaci testu *Aptima® HIV-1 Quant Dx*. Tento dokument poskytuje vysvětlení, varování a bezpečnostní opatření jakož i pokyny k přípravě a testování typu vzorku suchých krevních kapek (DBS) testem *Aptima HIV-1 Quant Dx* pro monitorování virové nálože HIV-1 a časnou diagnostiku u kojenců. Obecná varování a bezpečnostní opatření a také přípravu reagentů testu *Aptima HIV-1 Quant Dx* najdete v příbalové informaci testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Určené použití

Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* je test *in vitro* na bázi amplifikace nukleových kyselin k detekci a kvantifikaci RNA skupin M, N a O lidského viru imunodeficiency typu 1 (HIV-1) na plně automatizovaném Systému Panther®. Slouží k použití jako pomůcka při diagnostice infekce HIV-1, jako potvrzení infekce HIV-1 a jako pomůcka při klinické péči o pacienty infikované HIV-1.

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

Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* lze také použít v kombinaci s klinickou prezentací a jinými laboratorními markery k prognóze onemocnění u osob infikovaných HIV-1. Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* lze použít jako pomůcku při časně diagnostice infekce HIV-1 u kojenců ve věku mladších 18 měsíců pomocí DBS. Test *Aptima HIV-1 Quant Dx* lze také použít jako pomůcku při sledování vlivu antiretrovirové léčby na základě změn v koncentraci HIV-1 RNA v plazmě a vzorcích DBS.

Při použití testu *Aptima HIV-1 Quant Dx* jako pomůcky při diagnostice infekce HIV-1 je kvalitativní výkonnost stanovena ve vzorcích plazmy a séra a také ve vzorcích DBS kojenců ve věku mladších 18 měsíců. Při použití jako pomůcky ke sledování vlivu antiretrovirové terapie je kvantitativní výkonnost stanovena pouze u vzorků plazmy a DBS. Vzorky séra se nesmí používat pro kvantitativní výsledky.

Tento test není určen k použití při screeningu dárců krve nebo plazmy.

Souhrn a vysvětlení testu pro vzorek DBS

Vzorky DBS lze použít pro monitorování virové nálože a pro detekci virologického selhání s mezní hodnotou 1 000 kopií/ml (1). Vzorky DBS lze také použít jako pomůcku při časně diagnostice infekce HIV-1 u kojenců ve věku mladších 18 měsíců (2).

U kojenců infikovaných HIV existuje v prvním roce života vysoké riziko úmrtí a včasné zahájení antiretrovirové léčby (ART) významně snižuje morbiditu a mortalitu. Sérologické testování pro časnou diagnostiku u kojenců se nedoporučuje v důsledku maternálních protilátek IgG, které se mohou přenášet přes placentu a přetrvávat u neinfikovaného kojence až do 18 měsíců, což by mohlo potenciálně vést k falešně pozitivním výsledkům testu na protilátky proti HIV. Pro diagnostiku infekcí HIV-1 u dětí ve věku mladších 18 měsíců se vyžadují testy, které detekují součásti viru HIV-1, např. HIV-1 RNA nebo antigen p24 Organizace WHO doporučuje virologické testování kojenců ve věku mladších 18 měsíců pomocí testů HIV-1 DNA, testů HIV-1 RNA nebo testování antigenu HIV-1 p24. DBS je doporučeným typem vzorku u časně diagnostiky u kojenců s použitím metod detekujících HIV RNA (2,3).

Souhrn údajů o bezpečnosti a funkci

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

Varování a bezpečnostní opatření

- A. Pro diagnostické použití *in vitro*.
- B. Pro profesionální použití.
- C. Před provedením testu si pečlivě přečtěte celou příbalovou informaci a dokument *Panther/Panther Fusion® System Operator's Manual (Návod k obsluze systému Panther / Panther Fusion®)*. Snížíte tak riziko výskytu neplatných výsledků.

Související se vzorky DBS

- D. Vzorky mohou být infekční. Při provádění testu dodržujte univerzální bezpečnostní opatření (4,5,6). Zajistěte správné postupy při manipulaci a likvidaci v souladu s místními nařízeními (6). Tento test mohou používat pouze pracovníci s náležitým školením v použití testu Aptima HIV-1 Quant Dx a v manipulaci s infekčními materiály.
- E. Chcete-li zabezpečit integritu vzorku, zajistěte při přepravě vzorků vhodné přepravní podmínky. Stabilita vzorků za jiných než doporučených přepravních podmínek nebyla hodnocena.
- F. Při manipulaci se vzorky zabraňte křížové kontaminaci. Dávejte zvláštní pozor, aby nedošlo ke kontaminaci rozstříkáním aerosolů při uvolňování nebo otevírání vzorků a při zpracování vzorků DBS. Vzorky mohou obsahovat extrémně vysoké koncentrace organismů. Zajistěte, aby se jednotlivé nádoby na vzorky vzájemně nedotýkaly, a použité materiály při likvidaci nepřenášejte nad otevřenými nádobami. Pokud se vzorku dotknete, vyměňte si rukavice.
- G. Venózní krev (EDTA) a vzorky krve z prstu nebo z patičky používané k přípravě DBS a také karet DBS odebírejte a zacházejte s nimi v souladu s místními pokyny pro prevenci přenosu krví přenosných patogenů.
- H. Doporučuje se připravit alespoň tři kapky DBS na každé kartě DBS.
- I. Nevhodná příprava, sušení, skladování a manipulace s DBS může vést k nesprávným výsledkům testu.
- J. Zajistěte, aby karty DBS byly před uskladněním do zip lockových sáčků s vysoušedlem plně vysušené. Nedostatečně vysušené vzorky DBS mohou mít nižší stabilitu a vést k nesprávným výsledkům.
- K. Ujistěte se, že nepoužité karty DBS jsou uskladněny a je s nimi manipulováno v souladu s pokyny výrobce karty DBS.
- L. Další podrobnosti týkající se přípravy karet DBS a manipulaci s nimi najdete v pokynech výrobce karty DBS.

- M. Abyste se vyhnuli přenosové kontaminaci, ujistěte se, že nástroje použité k řezání kruhů obsahujících sušenou krev a manipulaci s nimi jsou před kontaktem se vzorkem a po kontaktu dekontaminovány.
- N. K extrakci vzorků DBS používejte pouze extrakční pufr Aptima DBS Extraction Buffer. K extrakci vzorků DBS nepoužívejte ředící roztok na vzorky Aptima Specimen Diluent nebo jiné pufrů.
- O. Další varování a bezpečnostní opatření související s laboratorními postupy najdete v příbalové informaci testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Související s testem

- P. Kvantitativní výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx byly hodnoceny pro DBS a plazmu. Sérum se nesmí používat pro kvantitativní výsledky. Byly hodnoceny kvalitativní výsledky pro plazmu, sérum a DBS. Soupravu reagensií, kalibrátor ani kontroly nepoužívejte po datu expirace.
- Q. Nepoužívejte karty DBS po datu expirace uvedeném výrobcem. Nezaměňujte, nemíchejte ani nekombinujte reagentie testu ze souprav s různými čísly hlavní šarže. Kapaliny testu mohou být z různých šarží. Kontroly a kalibrátor mohou pocházet z různých šarží.
- R. Zabraňte mikrobiální a nukleázové kontaminaci reagensií.
- S. Všechny reagentie testu uzavřete a skladujte při uvedené teplotě. Při nesprávném skladování reagensií testu může být negativně ovlivněna funkční způsobilost testu. Více informací viz *Postup testu na systému Panther*.
- T. Pokud nebude výslovně uvedeno jinak, nekombinujte žádné reagentie ani kapaliny testu. Nedolévejte reagentie ani kapaliny. Systém Panther ověřuje hladiny reagensií.
- U. Informace o nebezpečí najdete v příbalové informaci testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Poznámka: Informace o nebezpečí jsou v souladu s klasifikacemi bezpečnostních listů (SDS) EU. Informace o nebezpečí specifické pro vaši oblast naleznete v listu SDS specifickém pro danou oblast v knihovně bezpečnostních listů na adrese www.hologic.com. Další informace o symbolech najdete v legendě symbolů na adrese <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Odběr a skladování vzorků pro DBS

Poznámka: Se všemi vzorky je nutné zacházet jako s potenciálně infekčními. Postupujte podle univerzálních bezpečnostních opatření.

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

Lze použít vzorky plné krve odebrané do EDTA nebo kapilární krve odebrané z prstu nebo patičky.

A. Odběr a příprava vzorků DBS

- Plnou krev odebranou do příslušných odběrových zkumavek lze před přidáním na karty DBS skladovat až 24 hodin při teplotě 2 °C až 30 °C. Před přidáním krve na kartu DBS ji pečlivě promíchejte. Kapilární krev lze odebrat z prstu nebo patičky v souladu se standardním postupem a místní praxí.
- Přidejte přibližně 70 µl plné krve do středu kruhu o velikosti půl palce (12 milimetrů) karet Ahlstrom/Munktel TFN nebo odpovídajících (například Whatman 903). Pokud používáte vzorek z prstu nebo patičky, přidejte přibližně 3–5 kapek (přibližně 70 µl) do každého kruhu, čímž zajistíte saturaci celého povrchu kruhu (obě strany karty DBS).
- Kartu DBS nechte schnout na vzduchu při teplotě prostředí (15 °C až 30 °C) po dobu 4 až 24 hodin. Dejte pozor, aby karty DBS nebyly vystaveny přímému slunečnímu světlu, nedotýkaly se navzájem a před zabalením, uskladněním a odesláním byly plně usušeny.

Poznámka: Příprava DBS pomocí nedostatečného množství krve, nedostatečné sušení a/nebo nesprávná manipulace nebo skladování karet DBS mohou vést k nesprávným výsledkům testu.

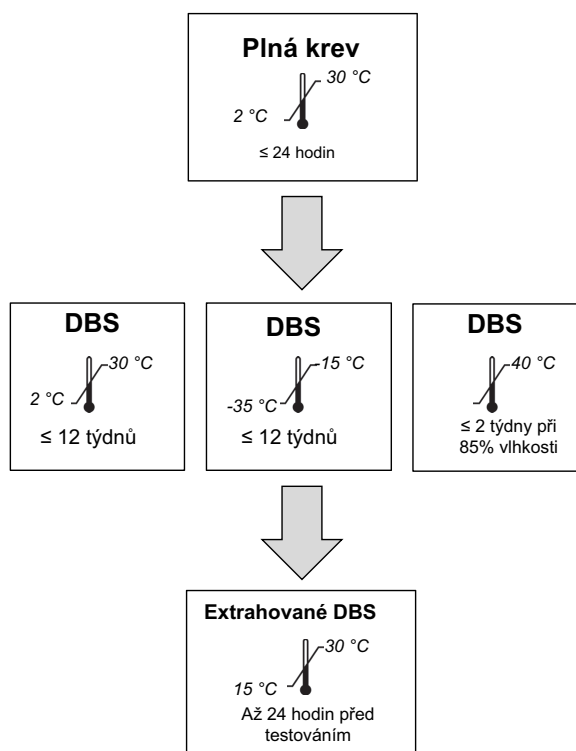
B. Vzorky DBS

Primární odběrové zkumavky obsahující plnou krev je možné před přípravou DBS uskladnit až 24 hodin po odběru vzorků při teplotě 2 °C až 30 °C (Obrázek 1, horní pole).

Připravené DBS lze uskladnit za jedné z následujících podmínek (Obrázek 1, dolní pole):

- karta DBS při teplotě 2 °C až 30 °C po dobu až 12 týdnů při vlhkosti okolního prostředí nebo
- karta DBS při teplotě -15 °C až -35 °C po dobu až 12 týdnů nebo
- karta DBS při teplotě 40 °C po dobu až 2 týdnů při 85% vlhkosti.

Před testováním lze uložit extrahované DBS do SAT při teplotě 15 °C až 30 °C po dobu až 24 hodin.



Obrázek 1. Podmínky uskladnění pro DBS

Vzorky v systému Panther

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

Přeprava klinických vzorků

Dodržujte podmínky uchování vzorků uvedené v části *Odběr a skladování vzorků pro DBS*.

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

Systém Panther

Reagencie pro test Aptima HIV-1 Quant Dx k použití v systému Panther jsou uvedeny v příbalové informaci testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Nezbytné materiály, které jsou však dodávány zvlášť pro typ vzorku DBS

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

Materiál	Kat. č.
Extrakční pufr Aptima® DBS Extraction Buffer (100 ml)	PRD-04772
Aptima® Specimen Aliquot Tubes (SAT) (balení po 100 ks)	FAB-18184
Systém Panther®	303095
Systém Panther Fusion®	PRD-04172
Systém Panther, nepřetržité odvádění tekutin a odpadů (Panther Plus)	PRD-06067
Uzávěr přepravní zkumavky (balení po 100 ks) <i>Uzávěr pro zkumavku SAT</i>	504415
Komerčně dostupné karty DBS: <i>Karty Ahlstrom/Munktel TFN nebo odpovídající (např. Whatman 903)</i>	–
Nůžky, pinzeta nebo jiné nástroje k uvolnění kapky DBS z karty DBS.	–
Špičky, 1 000 µl, s filtrem, vodivé, detekující kapaliny a jednorázové. <i>Ne všechny produkty jsou dostupné ve všech regionech. Informace o konkrétním regionu získáte u svého zástupce.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Bélidlo, 5% až 8,25% (0,7 mol až 1,16 mol) roztok chlornanu sodného	–
Jednorázové rukavice bez talku	–
Náhradní uzávěry pro reagencie <i>Rekonstituční lahvičky pro amplifikační, enzymovou a promotorovou reagencii Lahvička TCR</i>	CL0041 (100 uzávěrů) CL0040 (100 uzávěrů)
Kryty laboratorních stolů s plastovou vrstvou	–
Utěrky neuvolňující vlákna	–
Pipetor	–
Špičky	–
Povolená primární odběrová zkumavka (ACD, EDTA, PPT): <i>13 mm x 100 mm</i>	–
<i>13 mm x 75 mm</i>	–
<i>16 mm x 100 mm</i>	–
Odstředivka	–
Třepačka pro zkumavky	–

Postup testu na systému Panther

Poznámka: Další informace o postupu najdete v *Návodu k obsluze systému Panther / Panther Fusion*.

A. Extrakce vzorků DBS

1. Než přikročíte ke zpracování, nechte vzorky zahřát na teplotu 15 °C až 30 °C.
2. Přidejte 1 ml extrakčního pufru DBS do SAT.
3. Pomocí dekontaminovaného nástroje (tj. špičky pipety, pinzety nebo nůžek) přeneste vzorek DBS do SAT obsahující extrakční pufr DBS. Každý vzorek DBS musí mít průměr přibližně 12 mm.

Poznámka: U neperforovaných karet DBS zajistěte, aby vzorek DBS přiléhal ke straně SAT.

4. Zcela uzavřete SAT obsahující extrakční pufr DBS a DBS pomocí uzávěru přepravní zkumavky.
5. Mírným pohybem míchejte při okolní teplotě po dobu 30 minut. Ujistěte se, že extrakční pufr DBS během míchání omývá vzorek DBS. Zabraňte vzniku nadměrné pěny.

Poznámka: Extrahované DBS v SAT mohou být před testováním uskladněny na 24 hodin při teplotě 15 °C až 30 °C.

6. Před vložením do systému Panther centrifugujte SAT obsahující extrahované DBS 2 minuty při 3 000 g.
7. Vložte SAT obsahující DBS do systému Panther (extrahované DBS lze uložit do systému Panther na 8 hodin).

Poznámka: Abyste se vyhnuli přenosové kontaminaci, zajistěte, aby nástroje použité k přípravě vzorku a manipulaci s ním byly před přípravou dalšího vzorku dekontaminovány.

Poznámka: Po extrakci není 8 hodin v přístroji určeno jako další čas navíc ke 24hodinovému skladovacímu období.

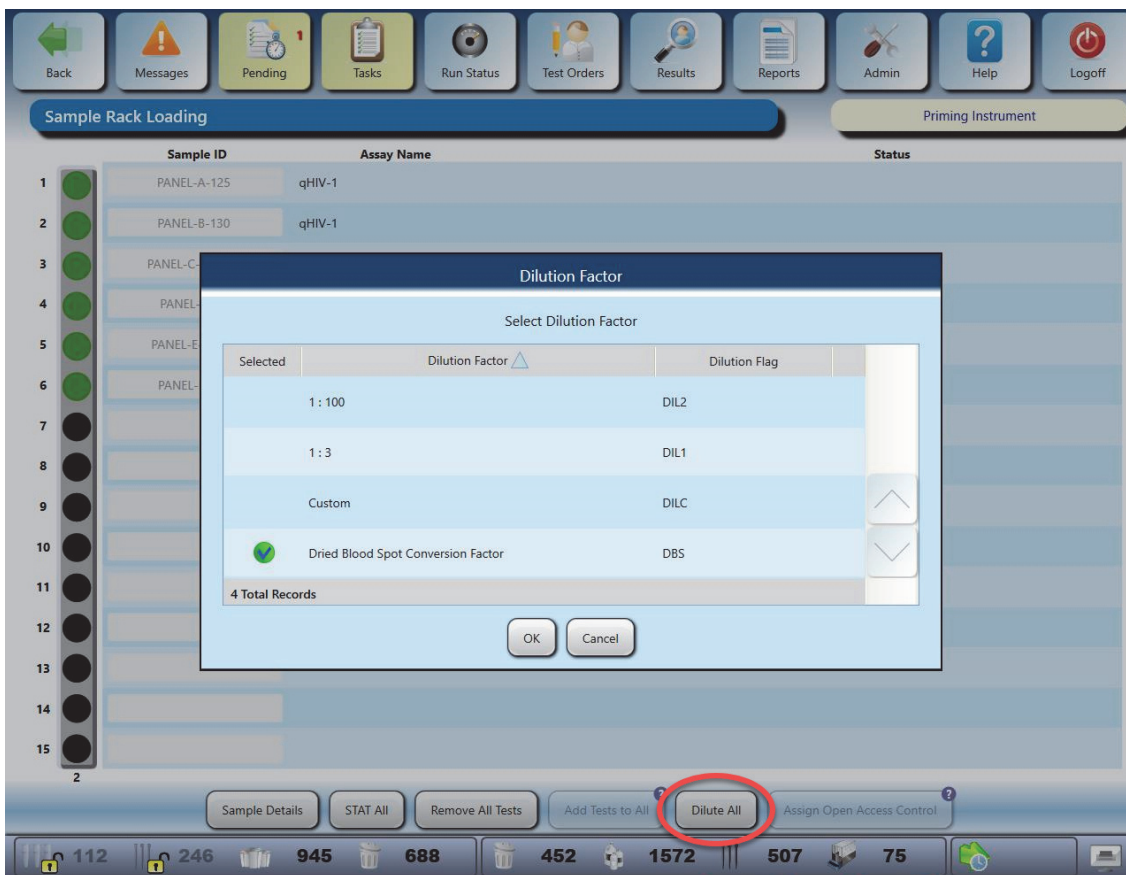
B. Příprava systému pro vzorky DBS

1. Nastavte systém podle pokynů uvedených v *Návodu k obsluze systému Panther / Panther Fusion*.
2. Založte stojan na vzorky.
3. **Použijte faktor konverze suchých krevních kapek** pro testovací příkazy vzorků DBS.

Způsob použití faktoru konverze suchých krevních kapek pro celý stojan vzorků DBS:

- a. Na obrazovce *Sample Rack Loading* (zakládání stojanů na vzorky) vyberte tlačítko **Dilute All** (zředit vše).

Otevře se okno *Dilution Factor* (faktor ředění).



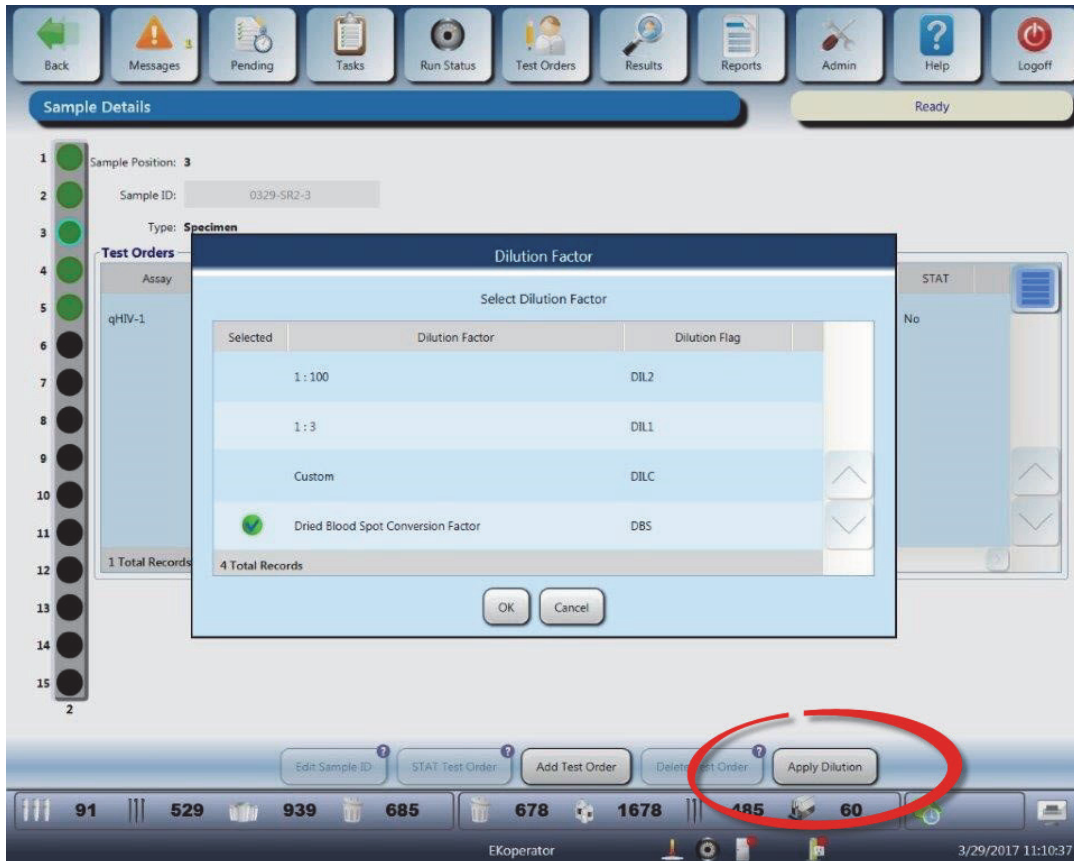
Obrázek 2. Okno *Dilution Factor* (faktor ředění) na obrazovce *Sample Rack Loading* (zakládání stojanů na vzorky)

- b. Vyberte možnost **Dried Blood Spot Conversion Factor** (faktor konverze suchých krevních kapek).
- c. Vyberte **OK**.
Objeví se okno *Set Dilution Factor for Rack* (nastavit faktor ředění pro stojan).
- d. Chcete-li použít faktor konverze suchých krevních kapek pro celý stojan vzorků DBS, vyberte možnost **Yes (Ano)**.

Chcete-li použít příznak Dried Blood Spot Conversion Factor (faktor konverze suchých krevních kapek) pro jeden testovací příkaz (například pro třetí vzorek ve stojanu, viz obrázek níže):

- a. Z obrazovky *Sample Details* (podrobnosti vzorku) vyberte testovací příkaz, který má být zpracován, a vyberte možnost **Apply Dilution (aplikovat ředění)**.

Objeví se okno *Dilution Factor* (faktor ředění).



Obrázek 3. Okno *Dilution Factor* (faktor ředění) na obrazovce *Sample Details* (podrobnosti vzorku)

- b. Vyberte možnost **Dried Blood Spot Conversion Factor (faktor konverze suchých krevních kapek)**.
- c. Chcete-li použít příznak Dried Blood Spot Conversion Factor (faktor konverze suchých krevních kapek) na všechny vybrané testovací příkazy, vyberte možnost **OK**.

V případě potřeby lze faktor konverze suchých krevních kapek z testovacích příkazů před zahájením zpracování odstranit.

Postup smazání faktoru konverze suchých krevních kapek pro celý stojan:

1. Na obrazovce *Sample Rack Bay* (nosič stojanů na vzorky) poklepejte na příslušný založený stojan.
Objeví se obrazovka *Sample Rack Loading* (zakládání stojanů na vzorky) pro zvolený stojan.
2. Vyberte možnost **Dilute All (zředit vše)**.

3. V okně *Dilution Factor* (faktor ředění) zrušte výběr **Dried Blood Spot Conversion Factor (faktor konverze suchých krevních kapek)**.
4. Vyberte **OK**.
Objeví se okno *Set Dilution Factor for Rack* (nastavit faktor ředění pro stojan).
5. Chcete-li smazat faktor konverze suchých krevních kapek z celého stojanu, vyberte možnost **Yes (Ano)**.

Postup smazání testovacích příkazů pro faktor konverze suchých krevních kapek:

1. Na obrazovce *Sample Rack Bay* (nosič stojanů na vzorky) poklepejte na založený stojan s příslušnými patientskými vzorky.
Objeví se obrazovka *Sample Rack Loading* (zakládání stojanů na vzorky) pro zvolený stojan na vzorky.
2. Na obrazovce *Sample Rack Loading* (zakládání stojanů na vzorky) poklepejte na příslušný patientský vzorek.
Objeví se obrazovka *Sample Details* (podrobnosti vzorku) s aktuálními objednávkami testů pro zvolený vzorek.
3. Vyberte příslušnou objednávku testu z panelu *Test Orders* (objednávky testů).
4. Vyberte možnost **Apply Dilution (aplikovat ředění)**.
5. V okně *Dilution Factor* (faktor ředění) zrušte výběr **Dried Blood Spot Conversion Factor (faktor konverze suchých krevních kapek)**.
6. Vyberte **OK** a odstraňte tím faktor konverze suchých krevních kapek z objednávky testu.

Procesní poznámky pro kalibrátory a kontroly

Pro vzorky DBS nejsou poskytovány žádné DBS pozitivní ani negativní kontroly. Vzorky DBS vyžadují stejné kalibrátory a kontroly používané pro vzorky séra a plazmy. Přečtěte si příbalovou informaci testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Kontrola kvality

Pokud jsou při provádění testu zjištěny a zdokumentovány technické problémy, problémy na straně obsluhy nebo problémy na straně přístroje, může obsluha zrušit výsledek série měření nebo vzorku. V takovém případě je nutné zopakovat testování vzorků.

Kalibrace testu

Vzorky DBS vyžadují stejné kalibrátory používané pro vzorky séra a plazmy. Přečtěte si příbalovou informaci testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Negativní a pozitivní kontroly

Vzorky DBS vyžadují stejné kontroly používané pro vzorky séra a plazmy. Přečtěte si příbalovou informaci testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrola

Každý vzorek obsahuje vnitřní kalibrátor / vnitřní kontrolu (IC). Přečtěte si příbalovou informaci testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interpretace výsledků pro DBS

Systém Panther automaticky stanoví koncentraci HIV-1 RNA pro vzorky a kontroly srovnáním výsledků s kalibrační křivkou. Pro testované vzorky DBS systém Panther automaticky hlásí kopie/ml a \log_{10} kopií/ml HIV-1 RNA na základě faktoru konverze DBS. Konverze log pro LoD DBS 883 kopií/ml je 2,95 log kopií/ml. Interpretaci výsledků virové nálože uvádí Tabulka 1.

Systém Panther neposkytuje kvalitativní výsledek (tzn. „Reaktivní“ nebo „Nereaktivní“) pro diagnostické použití (časná diagnostika u kojenců). Obsluha musí interpretovat hlášenou koncentraci HIV-1 RNA do kvalitativního výsledku (viz Tabulka 2). Vzorky s výsledky označenými jako „Nedetekováno“ jsou nereaktivní pro HIV-1 RNA. Vzorky s výsledky označenými jako „< 883 detekováno“ nebo vzorky s výsledky uvedenými v lineárním rozmezí uvádí, že HIV-1 RNA byla detekována a tyto vzorky jsou reaktivní pro HIV-1 RNA. Vzorky s výsledky < 1 900 kopií/ml musí být znovu testovány, aby se potvrdila reaktivita pro diagnostiku HIV.

Tabulka 1: Interpretace výsledků pro vzorky virové nálože DBS

Hlášený výsledek testu Aptima HIV-1 Quant Dx		Interpretace koncentrace HIV-1 RNA
Kopie/ml	Log ₁₀ hodnota ^a	
Nedetekováno	Nedetekováno	HIV-1 RNA nedetekována.
Detekováno < 883	< 2,95	HIV-1 RNA je detekována, ale hladina je pod spodním limitem kvantifikace pro DBS (LLoQ DBS 883 kopií/ml).
883 až 10 000 000	2,95 až 7,00	Koncentrace HIV-1 RNA je v lineárním rozmezí testu pro DBS (883 kopií/ml až 10 000 000).
> 10 000 000	> 7,00	Koncentrace HIV-1 RNA je nad horním limitem kvantifikace (ULoQ).
Neplatné ^c	Neplatné ^c	Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu.

^aHodnota je zkrácena na dvě desetinná místa.

^bNeplatné výsledky jsou zobrazeny modrou barvou.

Tabulka 2: Interpretace výsledků pro diagnostické vzorky DBS

Hlášený výsledek testu Aptima HIV-1 Quant Dx		Kvalitativní diagnostická interpretace uživatele
Kopie/ml	Log ₁₀ hodnota ^a	
Nedetekováno	Nedetekováno	HIV-1 RNA nedetekována.
Detekováno < 883 nebo 883 až 1 900	< 2,95 nebo 2,95 až 3,28	Opakujte testování, abyste potvrdili reaktivní diagnostické výsledky. Pouze potvrzené pozitivní výsledky jsou považovány za reaktivní. ^b
1 901 až 10 000 000	3,28 až 7,00	Reaktivní na HIV-1 RNA
> 10 000 000	> 7,00	Reaktivní na HIV-1 RNA
Neplatné ^c	Neplatné ^c	Při generování výsledku došlo k chybě. Vzorky je nutné testovat znovu.

^aHodnota je zkrácena na dvě desetinná místa.

^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 jsou zobrazeny modrou barvou.

Omezení

- A. Test mohou používat pouze osoby vyškolené v provedení příslušných postupů. Nedodržení pokynů uvedených v této příbalové informaci povede k chybným výsledkům.
- B. Ujistěte se, že tento test používáte se systémem Panther softwarové verze 6.2 nebo vyšší.
- C. Odlišné metodologie testu mohou být příčinou odlišných hlášených hodnot. Aby se snížilo riziko chybné interpretace výsledků při přechodu na nový test, doporučuje se ověřit novou metodologii a stanovit tak rozdíly v hlášených výsledcích a tyto rozdíly vzít v úvahu.
- D. Nevhodný odběr vzorku, jeho přeprava, skladování a zpracování mohou vést k nesprávným výsledkům.
- E. Tento test byl ověřen k použití s kartami DBS Ahlstrom/Munktel TFN a Whatman 903. Zajistěte, aby bylo ověřeno, že karty DBS splňují požadavky specifické pro danou laboratoř.
- F. Zajistěte, aby se s kartami DBS manipulovalo a skladovalo se v souladu s pokyny výrobce.

Výkonnost pro DBS

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

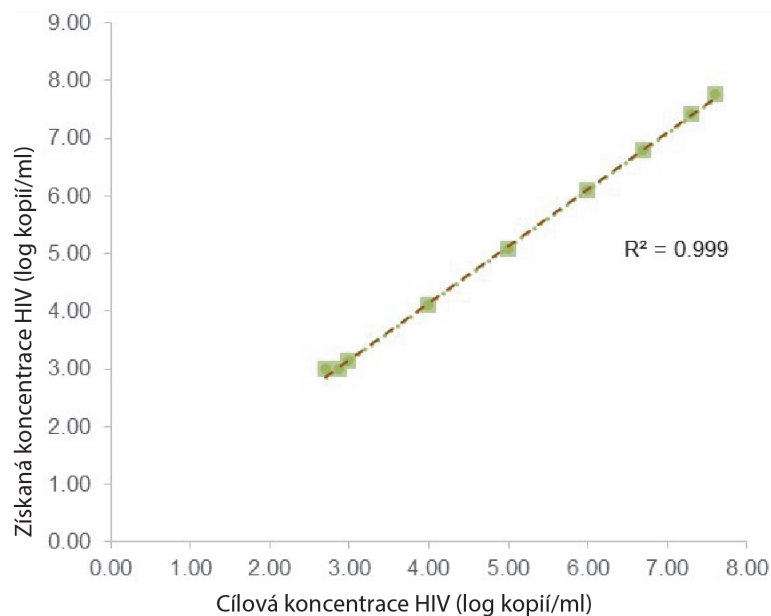
Limit detekce (LoD) je definován jako koncentrace HIV-1 RNA detekovaná s 95% nebo vyšší pravděpodobností dle CLSI EP17-A2 (8). Limit LoD byl stanoven testováním panelů, které zahrnovaly ředění 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO (subtyp B, kód NIBSC: 10/152) v HIV-1 negativní plné krvi. 30 replikátů každého ředění bylo zpracováno na třech systémech Panther za použití tří šarží reagentů, celkem 90 replikátů pro každé ředění. Dle CLSI EP17-A2 byly výsledky ze šarže reagentů s nejvyšší koncentrací pro předvídaný limit detekce definovány jako limit LoD a uvádí je Tabulka 3. Dle analýzy Probit je limit LoD testu Aptima HIV-1 Quant Dx 848.4 kopií/ml (95% interval spolehlivosti; 660.7 kopií–1208.8 kopií/ml) nebo 2424.0 IU/ml (95% interval spolehlivosti; 1887.8–3453.8 IU/ml, 0,35 kopií = 1 IU).

Tabulka 3: LoD pro test Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS za použití 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO

Předvídaný limit detekce	Koncentrace (kopie/ml)	Koncentrace (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%	848,4	2424,0

Lineární rozsah

Lineární rozsah testu Aptima HIV-1 Quant Dx byl stanoven testováním panelů, které zahrnovaly kultivovaný virus HIV-1, subtyp B, ředěný v HIV-1 negativní plné krvi dle normy CLSI EP06-A (9). Koncentrace v panelech spadaly do rozsahu 2,70 až 7,60 log kopií/ml. Testování bylo provedeno na čtyřech systémech Panther se dvěma šaržemi reagensů testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Jak znázorňuje Obrázek 4, test Aptima Quant Dx prokázal linearitu v testovaném rozsahu.



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

Spodní limit kvantifikace pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO

Spodní limit kvantifikace (LLoQ) je 883 kopií/ml. LLoQ byl stanoven podle postupu popsáno v CLSI EP-17-A2, aby splňoval požadavky na LLoQ > 95% reaktivity s celkovou chybou ≤ 1 log kopií/ml.

Tabulka 4: Stanovení spodního limitu kvantifikace s typem vzorku DBS pomocí 3. mezinárodního standardu HIV-1 WHO se 3 šaržemi reagensie

Šarže reagensie	% pozitivních	Cílová koncentrace (log kopií/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log kopií/ml)	SD (log kopií/ml)	Zkreslení (log kopií/ml)	Vypočtená Westgardova TE (log kopií/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

Tabulka 5: Souhrn LLoQ

Šarže reagensie	Limit LLoQ (log kopií/ml)	Limit LLoQ (kopie/ml)
1	2,90	787
2	2,91	817
3	2,95	883

Přesnost

K hodnocení přesnosti testu Aptima HIV-1 Quant Dx byl vytvořen panel napíchním kultivovaného HIV-1 viru, subtypu B, do HIV-1 negativní plné krve. Tři pracovníci testovali panely pomocí tří šarží reagensů na třech systémech Panther v průběhu 20 dní (viz Tabulka 6). Panel sestával z jednoho HIV-1 negativního člena panelu a pěti HIV-1 pozitivních členů panelu. Přiřazení koncentrací pro klinické vzorky nebo zásoby kultivovaného viru bylo stanoveno testováním vzorku DBS testem Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabulka 6: Přesnost testu Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS

Počet validních replikátů	Střední koncentrace (log kopií/ml)	Mezi přístroji (SD)	Mezi pracovníky obsluhy (SD)	Mezi šaržemi (SD)	Mezi zpracováními (SD)	V rámci zpracování (SD)	Celkem (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 = směrodatná odchylka

Poznámka: Variabilita některých faktorů může být číselně negativní, což může nastat, pokud je variabilita způsobená těmito faktory velmi malá. Pokud k tomu dojde, SD = 0. Celkový počet replikátů testovaných pro každý člen panelu byl 81; k hodnocení přesnosti byly použity pouze replikáty s kvantifikovatelnými výsledky.

Potenciálně interferující látky

Náchylnost testu Aptima HIV-1 Quant Dx interferovat se zvýšenými hladinami hemoglobinu a lidskou DNA byla hodnocena testováním DBS připravené z plné krve bez přítomnosti HIV-1 a za přítomnosti 3,42 a 4,7 log kopií/ml HIV-1. S výkonností nebyla pozorována žádná interference za přítomnosti hemoglobinu (5 mg/ml) a lidské genomové DNA (2 µg/ml).

Test Aptima HIV-1 Quant Dx byl také hodnocen na interferenci u vzorků plazmy a za přítomnosti exogenních a endogenních látek nebyla pozorována žádná interference s výkonností. Úplný seznam potenciálně interferujících látek, které byly hodnoceny pro vzorky plazmy, najdete v příbalové informaci testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Specifická

Specifická testu Aptima HIV-1 Quant Dx byla stanovena testováním vzorků DBS připravených s krví od 500 HIV-1 negativních dárců pomocí tří šarží reagensů. Specifická testu s DBS byla 99,6 % (95% interval spolehlivosti; 98,6 % až 99,9 %).

Analytická specifická

Byla hodnocena potenciální zkřížená reaktivita testu Aptima HIV-1 Quant Dx s patogeny přítomnými v plné krvi testováním DBS připravených z plné krve obohacené o 1×10^6 buněk/ml každého organismu za nepřítomnosti HIV-1 a přítomnosti 3,42 a 4,7 log kopií/ml HIV-1. Při testování DBS obsahujících *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti* Gray, *Plasmodium falciparum* a *Toxoplasma gondii* nebyla za přítomnosti a nepřítomnosti HIV-1 pozorována žádná interference s výkonností.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx byl také hodnocen na zkříženou reaktivitu u vzorků plazmy a za přítomnosti patogenů nebyla pozorována žádná interference s výkonností. Úplný seznam patogenů, které byly hodnoceny pro vzorky plazmy, najdete v příbalové informaci testu *Aptima HIV-1 Quant Dx*.

Klinická funkčnost

Diagnostická shoda pro časnou diagnostiku u kojenců

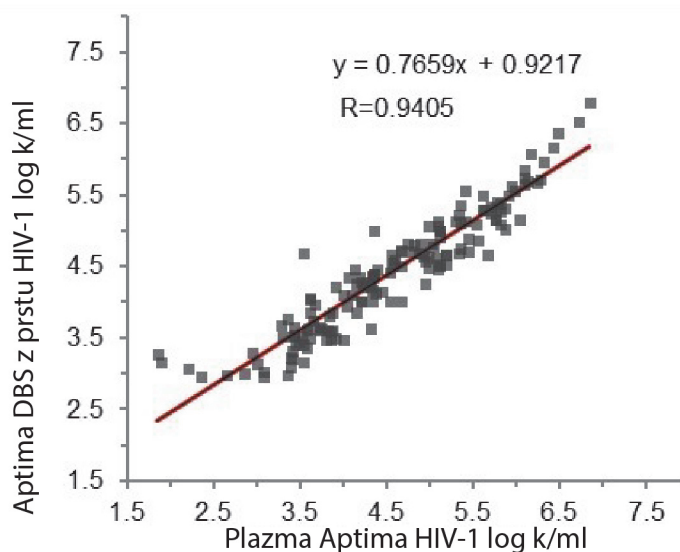
K hodnocení diagnostické shody byly připraveny vzorky DBS z patičky nebo prstu kojenců ve věku ≤ 18 měsíců narozených HIV-1 pozitivním matkám v Keni v Africe. Tito kojenci byly testováni s použitím jedné DBS na test v testu Aptima HIV-1 Quant Dx a srovnávacího kvalitativního testu na HIV-1 s označením CE. Jak uvádí Tabulka 7, 1 975 vzorků mělo platné výsledky v obou testech. Pro kvalitativní srovnávací test s označením CE byly všechny vzorky s reaktivními výsledky opětovně testovány a pouze potvrzené reaktivní výsledky byly zařazeny jako „Detekován“. Všechny nereaktivní výsledky vzorků byly zařazeny jako „Cíl nedetekován“. Výsledky testu Aptima HIV-1 Quant Dx assay interpretované jako nejednoznačné (viz Tabulka 2) byly opětovně testovány. Diagnostická shoda pro časnou diagnostiku u kojenců mezi dvěma testy byla 99,6 %.

Tabulka 7: Diagnostická shoda mezi testem Aptima HIV-1 Quant Dx a srovnávacím testem

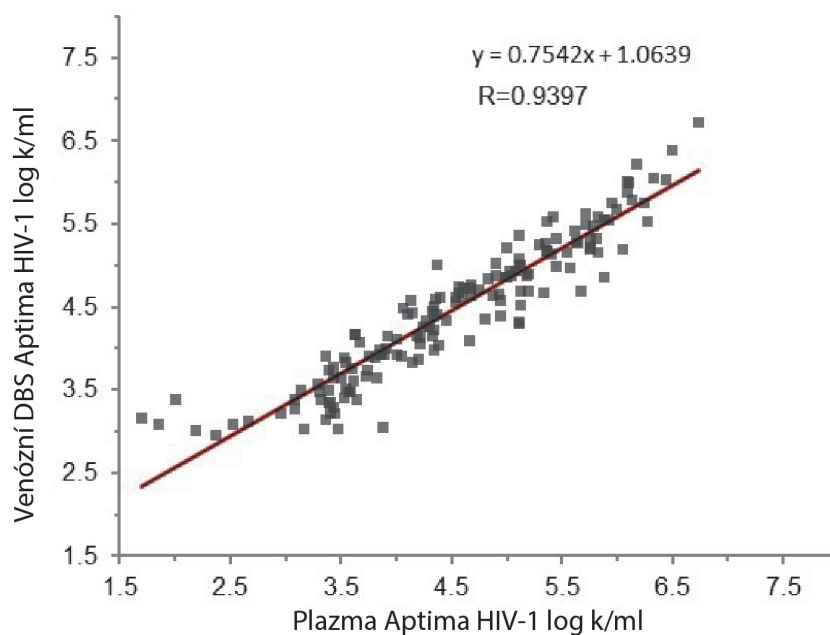
Test Aptima HIV-1 Quant Dx	Srovnávací test s označením CE		
		Cíl nedetekován	Detekován
	Cíl nedetekován	1 888	4
Detekován	3	80	

Korelace metod

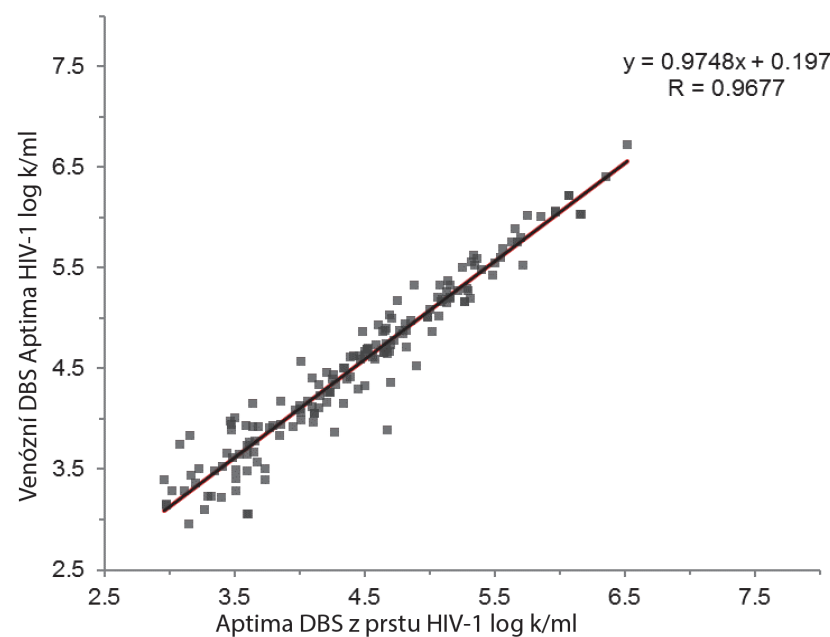
Výkonnost testu Aptima HIV-1 Quant Dx pro vzorky DBS byla hodnocena porovnáním výsledků vzorků DBS s výsledky vzorků plazmy testované testem Aptima. Celkem 258 pacientů infikovaných HIV-1 bylo zařazeno do studie z 5 odběrových míst v Keni v Africe. Od každého pacienta byly připraveny vzorky DBS pomocí kapilární (z prstu) i venózní krve. Od stejného pacienta byla také získána plazma. Všechny testy Aptima pro vzorky DBS a vzorky plazmy byly provedeny s jednou šarží reagensů. Výsledky vzorků, které byly kvantifikovány u každého typu vzorku, byly analyzovány lineární regresí s aplikací nejmenších čtverců, jak je vidět na obrázcích 5, 6 a 7.



Obrázek 5. Korelace mezi DBS z prstu a plazmou



Obrázek 6. Korelace mezi venózní DBS a plazmou



Obrázek 7. Korelace mezi DBS z prstu a venózní DBS

Shoda výsledků DBS a plazmy byla také hodnocena při prahu 1 000 kopií/ml. (Tabulky 8 a 9). Pozitivní shoda mezi výsledky DBS z prstu a plazmy byla 92,95 % a negativní shoda byla 93,14 %. Pozitivní shoda mezi výsledky venózní DBS a plazmy byla 96,15 % a negativní shoda byla 90,20 %. Pozitivní shoda mezi výsledky venózní DBS a DBS z prstu byla 91,25 % a negativní shoda byla 93,88 % (Tabulka 10). Celková shoda výsledků HIV-1 pro plazmu s výsledky HIV-1 pro DBS z prstu byla 93,02 % a pro venózní DBS 93,80 %.

Tabulka 8: Shoda mezi DBS z prstu a plazmou v testu Aptima HIV-1 Quant Dx

		Plazma Aptima	
		< 1 000	> 1 000
Aptima DBS z prstu	< 1 000	95	11
	> 1 000	7	145

Tabulka 9: Shoda mezi venózní DBS a plazmou v testu Aptima HIV-1 Quant Dx

		Plazma Aptima	
		< 1 000	> 1 000
Venózní DBS Aptima	< 1 000	92	6
	> 1 000	10	150

Tabulka 10: Shoda mezi venózní DBS a DBS z prstu v testu Aptima HIV-1 Quant Dx

		Venózní DBS Aptima	
		< 1 000	> 1 000
Aptima DBS z prstu	< 1 000	92	14
	> 1 000	6	146

Literatura

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.

Kontaktní informace a historie revizí



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



Hologic BV
Da Vincielaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

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

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

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

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

© 2018–2025 Hologic, Inc. Všechna práva vyhrazena.

AW-29377-2601 Rev. 001

2025-08

Historie revizí	Datum	Popis
AW-29377-2601 Rev. 001	Srpen 2025	• První vydání