

Dodatak suhih mrlja krvi (DBS) za test Aptima® HIV-1 Quant Dx

Upute za uporabu
Za *in vitro* dijagnostičku uporabu
Samo za izvoz iz SAD-a

Opće informacije	2
Uvod	2
Namjena	2
Sažetak i objašnjenje testa za uzorak DBS-a	2
Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti	3
Upozorenja i mjere opreza	3
Prikupljanje i pohrana uzoraka za DBS	5
Uzorci na sustavu Panther	6
Prenošenje ispitka	6
Sustav Panther	7
Potrebni materijali, ali dostupni zasebno za vrstu uzorka DBS-a	7
Postupak testiranja na sustavu Panther	8
Napomene o postupku za kalibratore i kontrole	11
Kontrola kvalitete	12
Kalibracija testa	12
Negativne i pozitivne kontrole	12
Interni kalibrator / interna kontrola	12
Interpretacija rezultata za DBS	13
Ograničenja	14
Učinkovitost za DBS	15
Granica detekcije (LoD) primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a za HIV-1	15
Linearni raspon	16
Preciznost	18
Potencijalno interferirajuće tvari	18
Specifičnost	18
Analitička specifičnost	19
Klinička učinkovitost	20
Dijagnostička sukladnost za ranu dijagnozu kod dojenčadi	20
Korelacija metoda	20
Bibliografija	23
Kontaktne podaci i povijest revizija	24

Opće informacije

Uvod

Ova uputa dodatak je uputi za test Aptima® HIV-1 Quant Dx. Ovaj dokument pruža objašnjenja, upozorenja i mjere opreza te upute za pripremu i testiranje uzorka suhe mrlje krvi (DBS) na testu Aptima HIV-1 Quant Dx za praćenje opterećenja virusom (VL) HIV-1 i ranu dijagnozu kod dojenčadi (EID). Za opća upozorenja i mjere opreza, kao i za pripremu reagensa za test Aptima HIV-1 Quant Dx, pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Namjena

Test Aptima HIV-1 Quant Dx *in vitro* je test amplifikacije nukleinske kiseline za detekciju i kvantifikaciju RNK virusa humane imunodeficiencije tipa 1 (HIV-1) skupina M, N i O na potpuno automatiziranom sustavu Panther®. Namijenjen je za uporabu kao pomoć pri dijagnosticiranju infekcije virusom HIV-1, potvrđivanju infekcije virusom HIV-1 te kao pomoć pri kliničkom vođenju liječenja pacijenata zaraženih virusom HIV-1.

Osim toga, test Aptima HIV-1 Quant Dx može se upotrijebiti kao pomoć pri dijagnosticiranju akutne ili primarne infekcije virusom HIV-1. Prisutnost RNK virusa HIV-1 u plazmi, serumu ili krvi pacijenata bez antitijela na virus HIV-1 ukazuje na akutnu ili primarnu infekciju virusom HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx može se upotrijebiti kao dodatni test za ispitke koji imaju ponovljene reaktivne rezultate s odobrenim imunotestovima na HIV. Ako je ispitak reaktivan na testu Aptima HIV-1 Quant Dx, infekcija virusom HIV-1 je potvrđena.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx također se može upotrijebiti zajedno s kliničkom prezentacijom i drugim laboratorijskim markerima za donošenje prognoze bolesti u pojedinaca zaraženih virusom HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx također se može upotrijebiti kao pomoć pri ranoj dijagnozi infekcije virusom HIV-1 u dojenčadi mlađe od 18 mjeseci s pomoću DBS-a. Test Aptima HIV-1 Quant Dx može se upotrijebiti kao pomoć pri praćenju učinka antiretrovirusnog liječenja mjerenjem promjena u koncentraciji RNK virusa HIV-1 u plazmi i uzorcima DBS-a.

Kada se test Aptima HIV-1 Quant Dx upotrebljava kao pomoć pri dijagnosticiranju infekcije virusom HIV-1, učinkovitost kvalitativnih rezultata utvrđena je za ispitke plazme i seruma te uzorke DBS-a dojenčadi mlađe od 18 mjeseci. Kada se upotrebljava kao pomoć pri praćenju učinka antiretrovirusne terapije, učinkovitost kvantitativnih rezultata utvrđena je samo na temelju ispitaka plazme i DBS-a. Ispitci seruma ne smiju se upotrebljavati za kvantitativne rezultate.

Ovaj test nije namijenjen za uporabu pri probiru darivatelja krvi ili plazme.

Sažetak i objašnjenje testa za uzorak DBS-a

Uzorci DBS-a mogu se upotrebljavati za praćenje virusnog opterećenja i za otkrivanje virološkog neuspjeha na graničnoj vrijednosti od 1000 kopija/ml (1). Uzorci DBS-a mogu se upotrebljavati i kao pomoć u EID-u infekcije virusom HIV-1 u dojenčadi mlađe od 18 mjeseci (2).

Dojenčad zaražena HIV-om ima visok rizik od smrti u prvoj godini života, a pravovremeni početak antiretrovirusnog liječenja (ART) značajno smanjuje morbiditet i mortalitet. Serološko testiranje na HIV kod EID-a ne preporučuje se zbog majčinih IgG antitijela koja mogu prijeći preko placente i opstati u neinficiranom dojenčetu do 18 mjeseci starosti, što potencijalno može dovesti do lažno pozitivnih rezultata testa na antitijela HIV-a. Za dijagnosticiranje infekcije virusom HIV-1 kod djece mlađe od 18 mjeseci potrebni su testovi koji otkrivaju komponente

virusa HIV-1, poput RNK virusa HIV-1 ili antigena p24. SZO preporučuje virološko testiranje dojenčadi mlađe od 18 mjeseci s pomoću testova DNK virusa HIV-1, RNK virusa HIV-1 ili testiranja na HIV-1 antigen p24. DBS je preporučena vrsta uzorka za EID kada se upotrebljavaju metode detekcije RNK virusa HIV-a (2,3).

Sažetak o sigurnosti i učinkovitosti

SSP (sažetak o sigurnosti i učinkovitosti, engl. Summary of Safety and Performance) dostupan je u europskoj bazi podataka o medicinskim uređajima (Eudamed), gdje je povezan s identifikatorima uređaja (osnovni UDI-DI). Kako biste pronašli SSP za test Aptima HIV-1 Quant Dx, poslužite se osnovnim jedinstvenim identifikatorom proizvođača (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB.

Upozorenja i mjere opreza

- A. Za *in vitro* dijagnostičku uporabu.
- B. Za profesionalnu uporabu.
- C. Kako biste smanjili rizik od nevažjećih rezultata, prije izvođenja ovog testa pažljivo pročitajte cijelu uputu u pakiranju i *Priručnik za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion*®.

Povezano s ispitkom DBS-a

- D. Ispitci mogu biti infektivni. Prilikom izvođenja ispitivanja pridržavajte se univerzalnih mjera opreza (4,5,6). Metode propisnog rukovanja i odlaganja treba utvrditi u skladu s lokalnim propisima (6). Samo osoblje koje je adekvatno osposobljeno za uporabu testa Aptima HIV-1 Quant Dx i za rukovanje zaraznim materijalima smije provoditi ovaj postupak.
- E. Tijekom prijevoza ispitka održavajte odgovarajuće uvjete pohrane kako biste osigurali cjelovitost ispitka. Stabilnost ispitka u uvjetima prijevoza drugačijim od preporučenih nije procijenjena.
- F. Izbjegavajte unakrsnu kontaminaciju prilikom izvođenja koraka rukovanja ispitcima. Budite posebno oprezni kako biste izbjegli kontaminaciju širenjem aerosola prilikom otpuštanja ili otvaranja ispitaka i prilikom obrade uzoraka DBS-a. Ispitci mogu sadržavati ekstremno visoke razine organizama. Pobrinite se da se spremnici ispitaka međusobno ne dodiruju, a iskorišteni materijal odložite pazeći da ga ne prenosite preko otvorenih spremnika. Zamijenite rukavice ako dođu u kontakt s ispitkom.
- G. Prikupite vensku krv (EDTA) i krv iz prsta ili pete za pripremu DBS-a, kao i kartica DBS-a, te rukujte njima u skladu s lokalnim smjernicama za sprječavanje prijenosa krvlju prenosivih patogena.
- H. Preporučuje se pripremiti barem tri mrlje DBS-a na svakoj kartici DBS-a.
- I. Nepravilna priprema, sušenje i skladištenje DBS-a te rukovanje njime mogu dovesti do netočnih rezultata ispitivanja.
- J. Prije skladištenja u vrećicama sa zatvaračem i sredstvom za sušenje provjerite jesu li kartice DBS-a potpuno osušene. Nedovoljno osušeni uzorci DBS-a mogu imati smanjenu stabilnost i mogu dovesti do netočnih rezultata.

- K. Pobrinite se da se nekorištene kartice DBS-a pohrane i da se s njima rukuje u skladu s uputama proizvođača kartica DBS-a.
- L. Za dodatne detalje o pripremi i rukovanju DBS-om pogledajte upute proizvođača kartice DBS-a.
- M. Kako biste izbjegli prijenos kontaminacije, osigurajte da su alati korišteni za rezanje krugova koji sadrže osušenu krv i upravljanje njima dekontaminirani prije i nakon kontakta s uzorkom.
- N. Za ekstrakciju uzoraka DBS-a upotrebljavajte samo pufer za ekstrakciju DBS-a Aptima. Nemojte upotrebljavati razrjeđivač za ispitke Aptima ili druge pufere za ekstrakciju ispitaka DBS-a.
- O. Za dodatna upozorenja i mjere opreza vezane uz laboratorij pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

U vezi s ispitivanjem

- P. Kvantitativni rezultati testa Aptima HIV-1 Quant Dx procijenjeni su DBS-om i plazmom. Serum se ne smije upotrebljavati za dobivanje kvantitativnih rezultata. Procijenjeni su kvalitativni rezultati za plazmu, serum i DBS. Nemojte upotrebljavati komplet reagensa, kalibrator ili kontrole nakon isteka roka valjanosti.
- Q. Nemojte upotrebljavati kartice DBS-a nakon isteka roka valjanosti koji je naveo proizvođač. Nemojte zamjenjivati, miješati ili kombinirati analitičke reagente iz kompleta s drugim brojevima osnovne serije. Tekućine za ispitivanje mogu biti iz serija s različitim brojevima. Kontrole i kalibrator mogu biti iz serija s različitim brojevima.
- R. Izbjegavajte kontaminaciju reagensa mikroorganizmima i nukleazom.
- S. Zatvorite i pohranite sve analitičke reagente na propisanim temperaturama. Nepravilno pohranjeni analitički reagenti mogu utjecati na učinkovitost testa. Pogledajte *Postupak testiranja na sustavu Panther* za više informacija.
- T. Nemojte kombinirati nikakve analitičke reagente ili tekućine bez posebnih uputa. Reagenti ili tekućine nemojte puniti do vrha. Sustav Panther provjerava razine reagensa.
- U. Za informacije o komunikaciji opasnosti pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Napomena: komunikacija opasnosti odražava klasifikaciju sigurnosno-tehničkih listova (eng. Safety Data Sheets, SDS) EU-a. Informacije o komunikaciji opasnosti specifične za vašu regiju potražite u SDS-u specifičnom za regiju u Biblioteci sigurnosno-tehničkih listova (engl. Safety Data Sheet Library) na www.hologicds.com. Za više informacija o simbolima pogledajte legendu simbola na <https://www.hologic.com/package-inserts>.

Prikupljanje i pohrana uzoraka za DBS

Napomena: rukujte svim ispitcima kao da sadrže potencijalno zarazne agense. Koristite univerzalne mjere opreza.

Napomena: pazite da izbjegnute unakrsnu kontaminaciju tijekom koraka rukovanja uzorkom. Na primjer, bacite korišteni materijal bez prelaska preko otvorenih epruveti.

Mogu se upotrebljavati uzorci pune krvi prikupljeni u EDTA ili kapilarna krv prikupljena ubodom iz prsta ili pete.

A. Prikupljanje uzoraka i priprema DBS-a

- Puna krv prikupljena u odgovarajuće epruvete za prikupljanje može se čuvati do 24 sata na temperaturi od 2 °C do 30 °C prije dodavanja na kartice DBS-a. Prije dodavanja na karticu DBS-a dobro promiješajte krv. Kapilarna krv može se prikupiti ubodom iz prsta ili pete prema standardnom postupku i lokalnoj praksi.
- Dodajte otprilike 70 µl pune krvi u središte krugova od pola inča (12 milimetara) na karticama Ahlstrom/Munktel TFN ili ekvivalentnim karticama (na primjer, Whatman 903). Ako se upotrebljava krv iz prsta ili pete, dodajte otprilike 3 – 5 kapi (otprilike 70 µl) u svaki krug, pazeći da je cijela površina kruga (obje strane kartice DBS-a) zasićena.
- Sušite kartice DBS-a na zraku na sobnoj temperaturi (15 °C do 30 °C) 4 do 24 sata. Pazite da kartice DBS-a nisu na izravnoj sunčevoj svjetlosti, da se međusobno ne dodiruju i da su potpuno osušene prije pakiranja, skladištenja i otpreme.

Napomena: DBS pripremljen s nedovoljnom količinom krvi, nedovoljno osušen i/ili nepravilno rukovanje DBS karticama ili njihovo skladištenje mogu dovesti do netočnih rezultata testa.

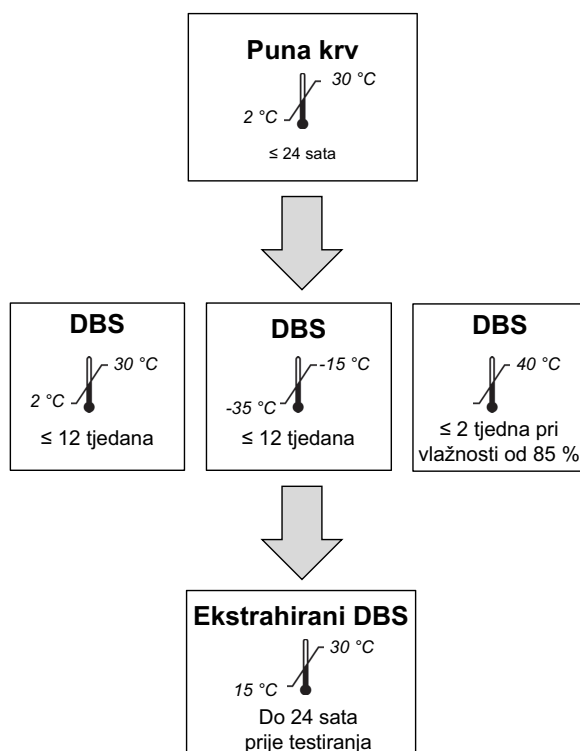
B. Ispitci DBS-a

Do 24 sata nakon prikupljanja ispitka, primarne epruvete za prikupljanje koje sadrže punu krv mogu se čuvati na temperaturi od 2 °C do 30 °C prije pripreme DBS-a (Slika 1, gornji okvir).

Pripremljeni DBS može se čuvati pod jednim od sljedećih uvjeta (Slika 1, donji okviri):

- Kartica DBS-a na 2 °C do 30 °C do 12 tjedana pri sobnoj vlažnosti, ili
- Kartica DBS-a na -15 °C do -35 °C do 12 tjedana, ili
- Kartica DBS-a na 40 °C do 2 tjedna pri vlažnosti od 85 %.

Prije testiranja, ekstrahirani DBS u SAT-ovima može se čuvati na temperaturi od 15 °C do 30 °C do 24 sata.



Slika 1. Uvjeti skladištenja za DBS

Uzorci na sustavu Panther

Nezačepljeni ekstrahirani DBS može se ostaviti na sustavu Panther do ukupno 8 sati. Uzorci se mogu izvaditi iz sustava Panther i testirati sve dok ukupno vrijeme provedeno na sustavu ne prelazi 8 sati prije nego što sustav Panther pipetira uzorak.

Prenošenje ispitka

Održavajte uvjete skladištenja uzorka kako je opisano u *Prikupljanje i pohrana uzoraka za DBS*.

Napomena: *ispitci se trebaju transportirati u skladu s primjenjivim nacionalnim, međunarodnim i regionalnim propisima o prenošenju.*

Sustav Panther

Reagensi za test Aptima HIV-1 Quant Dx za upotrebu na sustavu Panther nalaze se u uputama za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Potrebni materijali, ali dostupni zasebno za vrstu uzorka DBS-a

Napomena: materijali dostupni kod tvrtke Hologic imaju navedene kataloške brojeve, osim ako je drugačije naznačeno.

Materijal	Kat. Br.
Pufer za ekstrakciju DBS-a Aptima® (100 ml)	PRD-04772
Epruvete za alikvote ispitaka (SAT) Aptima® (pakiranje od 100 komada)	FAB-18184
Sustav Panther®	303095
Sustav Panther Fusion®	PRD-04172
Sustav Panther, kontinuirana tekućina i otpad (Panther Plus)	PRD-06067
Čep za epruvetu za prijenos (pakiranje od 100 komada)	504415
Čep za SAT	
Komercijalno dostupne kartice DBS-a:	—
Kartice Ahlstrom/Munktel TFN ili ekvivalent (npr. Whatman 903)	
Škare, pinceta ili drugi alati za odvajanje mrlje DBS-a s kartice DBS-a.	—
Vrhovi, volumena 1000 µl, filtrirani, provodni, s mogućnosti mjerenja razine tekućine i za jednokratnu upotrebu	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Nisu svi proizvodi dostupni u svim regijama. Obratite se svom predstavniku za informacije specifične za regiju.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Izbjeljivač, 5 % do 8,25 % (0,7 M do 1,16 M) otopine natrijeva hipoklorita	—
Rukavice bez pudera za jednokratnu upotrebu	—
Zamjenski čepovi za reagense	
Bočice za rekonstituciju reagensa za amplifikaciju, enzimskog reagensa i promotorskog reagensa	CL0041 (100 čepova)
Bočica za TCR	CL0040 (100 čepova)
Pokrovi s plastičnom poledinom za radne površine u laboratoriju	—
Maramice koje ne ostavljaju dlačice	—
Pipetori	—
Vrhovi	—
Opcije primarne epruvete za prikupljanje (ACD, EDTA, PPT):	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Centrifuga	—
Klackalica epruvete	—

Postupak testiranja na sustavu Panther

Napomena: dodatne informacije o postupku pogledajte u Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion.

A. Ekstrakcija ispitaka DBS-a

1. Prije obrade pustite uzorke da dosegnu temperaturu od 15 °C do 30 °C.
2. Dodajte 1 ml pufera za ekstrakciju DBS-a u SAT.
3. S pomoću dekontaminiranog alata (npr. vrha pipete, pincete ili škara) prenesite ispitak DBS-a u SAT koji sadrži pufer za ekstrakciju DBS-a. Svaki ispitak DBS-a trebao bi imati promjer od približno 12 mm.

Napomena: za neperforirane kartice DBS-a pobrinite se da ispitak DBS-a prianja uz stranu SAT-a.

4. Potpuno zatvorite SAT-ove koji sadrže pufer za ekstrakciju DBS-a i DBS s pomoću čepova za epruvete za prijenos.
5. Lagano ljuljajte na sobnoj temperaturi 30 minuta. Pobrinite se da pufer za ekstrakciju DBS-a ispire ispitak DBS-a tijekom ljuljanja. Izbjegavajte stvaranje prekomjerne pjene.

Napomena: ekstrahirani DBS u SAT-u može se čuvati do 24 sata na temperaturi od 15 °C do 30 °C prije testiranja.

6. Prije postavljanja u sustav Panther, centrifugirajte SAT koji sadrži ekstrahirani DBS 2 minute na 3000 g.
7. Postavite SAT koji sadrži DBS u sustav Panther (ekstrahirani DBS može se čuvati u sustavu Panther do 8 sati).

Napomena: kako biste izbjegli prijenos kontaminacije, osigurajte da se alati koji se upotrebljavaju za pripremu uzorka i rukovanje njime dekontaminiraju između više uzoraka.

Napomena: osam sati u sustavu ne dodaje se 24-satnom razdoblju skladištenja nakon ekstrakcije.

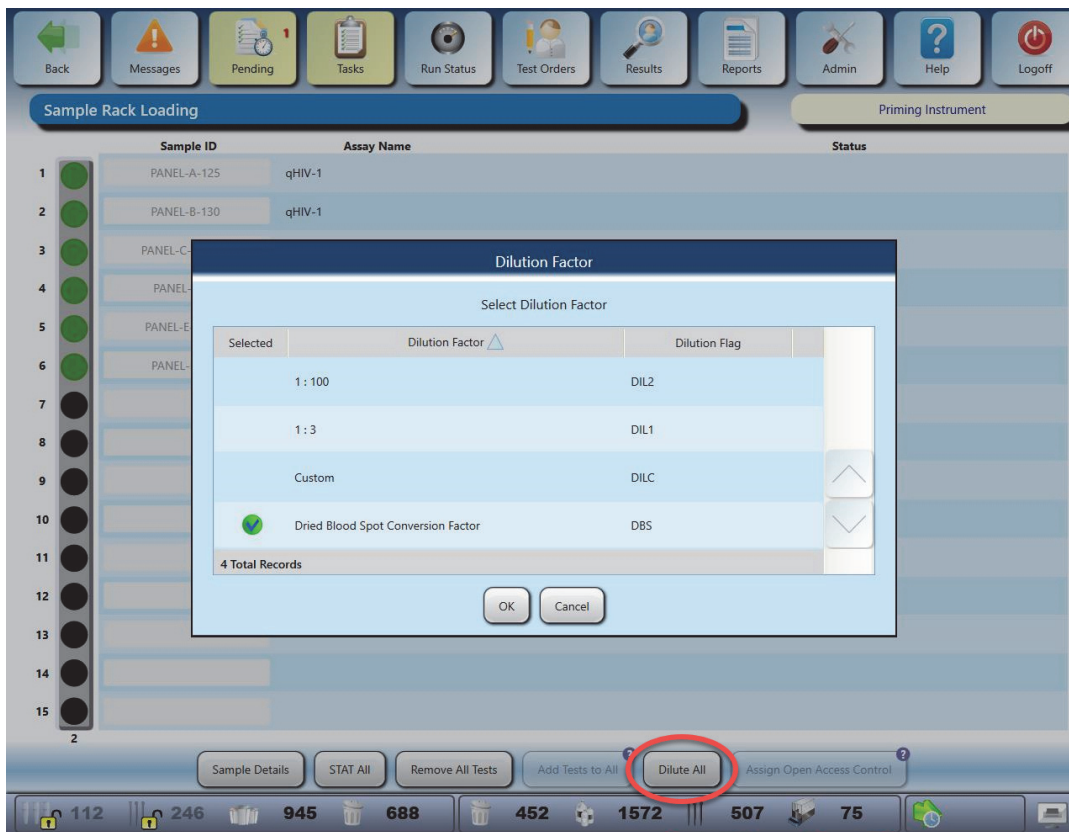
B. Priprema sustava za uzorke DBS-a

1. Sustav postavite u skladu s uputama u Priručniku za rukovatelja sustavom Panther / Panther Fusion.
2. Napunite stalak za uzorke.
3. **Primijenite faktor konverzije suhe mrlje krvi** za analizu testnih naloga za ispitke DBS-a.

Za primjenu faktora konverzije suhe mrlje krvi na cijeli stalak uzoraka DBS:

- a. Na zaslonu *Sample Rack Loading* (Postavljanje stalka za uzorke) odaberite **Dilute All** (Razrijedi sve).

Prikazuje se prozor Dilution Factor (Faktor razrjeđivanja).



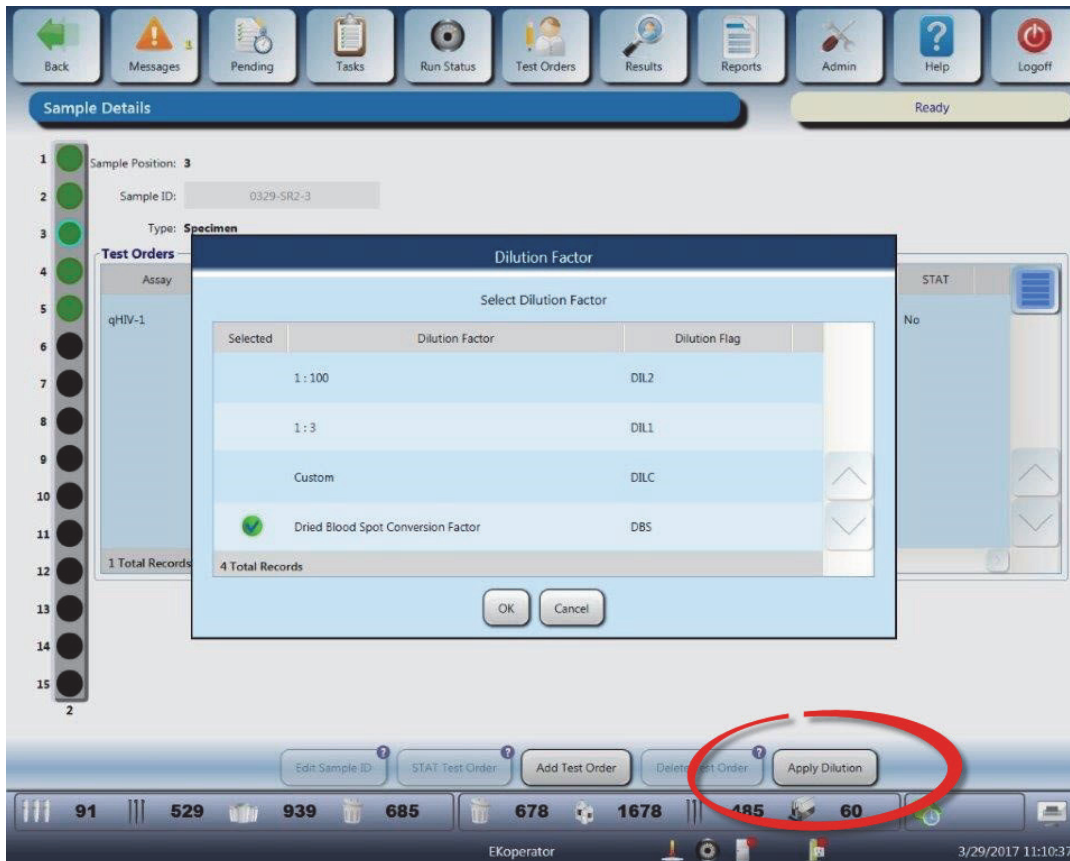
Slika 2. Prozor Dilution Factor (Faktor razrjeđivanja) na zaslonu za učitavanje stalka za uzorke

- b. Odaberite **Dried Blood Spot Conversion Factor** (Faktor konverzije suhe mrlje krvi).
- c. Odaberite **OK** (U redu).
Prikazuje se prozor Set Dilution Factor for Rack (Postavi faktor razrjeđivanja za stalak).
- d. Odaberite **Yes** (Da) da biste primijenili oznaku faktora konverzije suhe mrlje krvi na cijeli stalak s ispiscima DBS-a.

Da biste primijenili Dried Blood Spot Conversion Factor (Faktor konverzije suhe mrlje krvi) na jedan testni nalog (na primjer, treći uzorak u stalku, pogledajte sliku u nastavku):

- a. Na zaslonu *Sample Details* (Detalji o uzorku) odaberite testni nalog koji će se obraditi i odaberite **Apply Dilution** (Primijeni razrijeđenu otopinu).

Prikazuje se prozor *Dilution Factor* (Faktor razrijeđivanja).



Slika 3. Prozor *Dilution Factor* (Faktor razrijeđivanja) na zaslonu *Sample Details* (Detalji o uzorku)

- b. Odaberite **Dried Blood Spot Conversion Factor** (Faktor konverzije suhe mrlje krvi).
- c. Odaberite **OK** (U redu) za primjenu oznake faktora konverzije suhe mrlje krvi na sve odabrane testne naloge.

Ako je potrebno, faktor konverzije suhe mrlje krvi može se ukloniti iz testnih naloga prije početka obrade.

Za brisanje faktora konverzije suhe mrlje krvi iz cijelog stalka:

1. Na zaslonu *Sample Rack Bay* (Odjeljak stalka za uzorke) dvaput kliknite na postavljeni stalak koji vas zanima.

Zaslon *Sample Rack Loading* (Postavljanje stalka za uzorke) pojavljuje se za odabrani stalak.

2. Odaberite **Dilute All** (Razrijedi sve).
3. U prozoru *Dilution Factor* (Faktor razrijeđivanja) poništite odabir **Dried Blood Spot Conversion Factor** (Faktor konverzije suhe mrlje krvi).

4. Odaberite **OK** (U redu).
Prikazuje se prozor *Set Dilution Factor for Rack* (Postavi faktor razrjeđivanja za stalak).
5. Odaberite **Yes** (Da) za brisanje faktora konverzije suhe mrlje krvi iz cijelog stalka.

Za brisanje testnih naloga faktora konverzije suhe mrlje krvi:

1. Na zaslonu *Sample Rack Bay* (Odjeljak stalka za uzorke) dvostruko kliknite umetnuti stalak koji sadrži ispitke od interesa.
Zaslon *Sample Rack Loading* (Postavljanje stalka za uzorke) pojavljuje se za odabrani stalak za uzorke.
2. Na zaslonu *Sample Rack Loading* (Postavljanje stalka za uzorke) dvostruko kliknite ispitak od interesa.
Zaslon *Sample Details* (Pojednosti uzorka) pojavljuje se s trenutačnim testnim nalozima za odabrani ispitak.
3. Na ploči *Test Orders* (Testni nalozi) odaberite testni nalog od interesa.
4. Odaberite **Apply Dilution** (Primijeni razrijeđenu otopinu).
5. U prozoru *Dilution Factor* (Faktor razrjeđivanja) poništite odabir **Dried Blood Spot Conversion Factor** (Faktor konverzije suhe mrlje krvi).
6. Odaberite **OK** (U redu) za brisanje faktora konverzije suhe mrlje krvi iz testnog naloga.

Napomene o postupku za kalibratore i kontrole

Za uzorke DBS-a nisu osigurane DBS pozitivne i negativne kontrole. Uzorci DBS-a zahtijevaju iste kalibratore i kontrole koji se upotrebljavaju za uzorke seruma i plazme. Pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Kontrola kvalitete

Rezultat ciklusa ili ispitka može poništiti rukovatelj ako tijekom provođenja ispitivanja uoči tehničke poteškoće, poteškoće pri rukovanju ili poteškoće vezane uz instrument te ih dokumentira. U tom slučaju potrebno je ponovno testirati ispitke.

Kalibracija testa

Uzorci DBS-a zahtijevaju iste kalibratore koji se upotrebljavaju za uzorke seruma i plazme. Pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Negativne i pozitivne kontrole

Uzorci DBS-a zahtijevaju iste kontrole koje se upotrebljavaju za uzorke seruma i plazme. Pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interni kalibrator / interna kontrola

Svaki uzorak sadržava interni kalibrator / internu kontrolu (IC). Pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Interpretacija rezultata za DBS

Sustav Panther automatski određuje koncentraciju RNK virusa HIV-1 za ispitke i kontrole usporedbom rezultata s kalibracijskom krivuljom. Za testirane ispitke DBS-a sustav Panther automatski izvještava o kopijama/ml i \log_{10} kopija/ml RNK virusa HIV-1 na temelju faktora konverzije DBS-a. Log konverzija za DBS LoD od 883 kopije/ml iznosi 2,95 log kopija/ml. Interpretacija rezultata virusnog opterećenja dana je u Tablicu 1.

Sustav Panther ne daje kvalitativni rezultat (tj. „Reactive” (Reaktivno) ili „Non-reactive” (Nereaktivno)) za dijagnostičku upotrebu (EID). Rukovatelj mora protumačiti prijavljenu koncentraciju RNK virusa HIV-1 kao kvalitativni rezultat (pogledajte Tablicu 2). Ispitci čiji su rezultati navedeni kao „Not Detected” (Nije otkriveno) nisu reaktivni na RNK virusa HIV-1. Uzorci s rezultatima navedenim kao „<883 detected” (< 883 otkriveno) ili uzorci s rezultatima navedenim unutar linearnog raspona ukazuju na to da je otkrivena RNK virusa HIV-1 i da su ti ispitci reaktivni na RNK virusa HIV-1. Uzorke s rezultatima <1900 kopija/ml treba ponovno testirati kako bi se potvrdila reaktivnost za dijagnozu HIV-a.

Tablica 1: Tumačenje rezultata za ispitke virusnog opterećenja DBS-a

Zabilježeni rezultat testa Aptima HIV-1 Quant Dx		Interpretacija koncentracije RNK virusa HIV-1
Kopija/ml	Log ₁₀ vrijednost ^a	
Nije otkriveno	Nije otkriveno	RNK virusa HIV-1 nije otkrivena.
< 883 otkriveno	< 2,95	RNK virusa HIV-1 detektirana je, ali na razini ispod donje granice kvantifikacije za DBS (LLoQ DBS 883 kopije/ml)
od 883 do 10.000.000	od 2,95 do 7,00	Koncentracija RNK virusa HIV-1 unutar je linearnog raspona testa za DBS (883 kopije/ml do 10.000.000)
> 10.000.000	> 7,00	Koncentracija RNK virusa HIV-1 iznad je gornje granice kvantifikacije (ULoQ).
Nevaljano ^c	Nevaljano ^c	Došlo je do pogreške u generiranju rezultata. Potrebno je ponovo testirati ispitak.

^aVrijednost se skraćuje na dvije decimale.

^bNevaljani rezultati prikazani su plavom bojom fonta.

Tablica 2: Tumačenje rezultata za dijagnostičke ispitke DBS-a

Prijavljeni rezultati testa Aptima HIV-1 Quant Dx		Korisnička dijagnostička kvalitativna interpretacija
Kopija/ml	Log ₁₀ vrijednost ^a	
Nije otkriveno	Nije otkriveno	RNK virusa HIV-1 nije otkrivena.
< 883 otkriveno ili od 883 do 1900	< 2,95 ili od 2,95 do 3,28	Ponovno testirajte kako biste potvrdili reaktivne dijagnostičke rezultate. Samo potvrđeno pozitivni rezultati smatraju se reaktivnima. ^b
od 1901 do 10.000.000	od 3,28 do 7,00	Reaktivno na RNK virusa HIV-1
> 10.000.000	> 7,00	Reaktivno na RNK virusa HIV-1
Nevaljano ^c	Nevaljano ^c	Došlo je do pogreške u generiranju rezultata. Potrebno je ponovo testirati ispitak.

^aVrijednost se skraćuje na dvije decimale.

^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).

^cNevažeci rezultati prikazani su plavom bojom fonta.

Ograničenja

- A. Uporaba ovog testa ograničena je na osoblje koje je obučeno za postupak. Neuspješno praćenje uputa navedenih u ovoj uputi može rezultirati pogrešnim rezultatima.
- B. Pobrinite se da se ovaj test upotrebljava sa softverom sustava Panther verzije 6.2 ili novije.
- C. Različite metodologije ispitivanja mogu dati različite prijavljene vrijednosti. Kako bi se smanjio rizik pogrešnog tumačenja rezultata prilikom prelaska na novi test, preporučuje se validacija novih metodologija kako bi se utvrdile i uzele u obzir razlike u prijavljenim rezultatima.
- D. Neadekvatno prikupljanje, transport, skladištenje i obrada uzoraka mogu dovesti do netočnih rezultata.
- E. Ovaj test je validiran za upotrebu s karticama Ahlstrom/Munktel TFN i Whatman 903 DBS. Osigurajte da su kartice DBS-a validirane za ispunjavanje specifičnih laboratorijskih zahtjeva.
- F. Osigurajte da se s karticama DBS-a rukuje i da se skladište u skladu s uputama proizvođača.

Učinkovitost za DBS

Granica detekcije (LoD) primjenom 3. međunarodnog standarda SZO-a za HIV-1

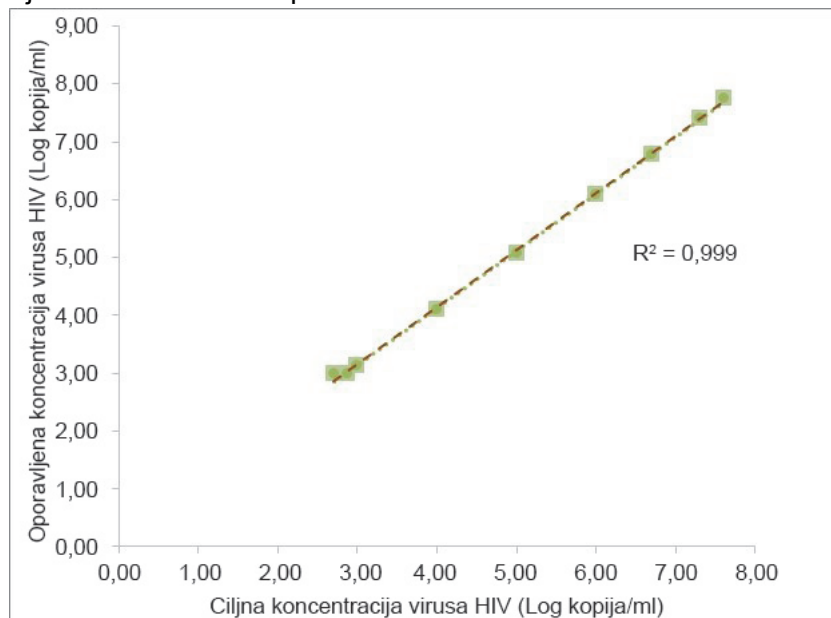
Granica detekcije (LoD) definirana je kao koncentracija RNK virusa HIV-1 koja se otkriva s vjerojatnošću od 95 % ili većom prema dokumentu EP17-A2 instituta CLSI (8). LoD je određen testiranjem panela koji su se sastojali od razrjeđenja 3. međunarodnog standarda SZO-a za HIV-1 (podtip B, NIBSC kod: 10/152) u cijeloj krvi negativnoj na HIV-1. Trideset replikata svakog razrjeđenja izvedeno je na trima sustavima Panther upotrebom triju serija reagensa, što je ukupno 90 replikata za svako razrjeđenje. Prema CLSI EP17-A2, rezultati iz serije reagensa s najvišom koncentracijom za predviđenu granicu detekcije definirani su kao LoD i prikazani u Tablicu 3. Putem Probit analize, LoD za test Aptima HIV-1 Quant Dx iznosi 848,4 kopija/ml (interval pouzdanosti od 95 % 660,7 – 1208,8 kopija/ml) ili 2424,0 IJ/ml (interval pouzdanosti od 95 % 1887,8 – 3453,8 IJ/ml, 0,35 kopija = 1 IJ).

Tablica 3: LoD testa Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS-om korištenjem 3. međunarodnog standarda SZO-a za HIV-1

Predviđena granica detekcije	Koncentracija (kopija/ml)	Koncentracija (IJ/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

Linearni raspon

Linearni raspon testa Aptima HIV-1 Quant Dx utvrđen je testiranjem panela koji su se sastojali od kultiviranog virusa HIV-1 podtipa B razrijeđenog u cijeloj krvi negativnoj na HIV-1 u skladu s dokumentom EP06-A instituta CLSI (9). Koncentracija panela kretala se od 2,70 do 7,60 log kopija/ml. Testiranje je provedeno na četiri sustava Panther s dvije serije reagensa testa Aptima HIV-1 Quant Dx. Kao što prikazuje Slika 4, za test Aptima Quant Dx dokazana je linearnost u cijelom testiranom rasponu.



Slika 4. Linearnost testa Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS-om

Donja granica kvantifikacije korištenjem 3. međunarodnog standarda SZO-a za HIV-1

Donja granica kvantifikacije (LLoQ) je 883 kopije/ml. LLoQ je utvrđen kako je opisano u dokumentu EP-17-A2 Instituta CLSI kako bi se zadovoljili zahtjevi LLoQ od > 95 % reaktivnosti i ukupne pogreške ≤ 1 log kopija/ml.

Tablica 4: Određivanje donje granice kvantifikacije s vrstom uzorka DBS-a korištenjem 3. međunarodnog standarda SZO-a za HIV-1 s 3 serije reagensa

Serijska reagensna	% pozitivnih	Ciljna koncentracija (Log kopija/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log kopija/ml)	SD (log kopija/ml)	Pristranost (log kopija/ml)	Izračunati Westgard TE (log kopija/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

Tablica 5: Sažetak LLoQ-a

Serijska reagensna	LLoQ (log kopija/ml)	LLoQ (kopija/ml)
1	2,90	787
2	2,91	817
3	2,95	883

Preciznost

Za procjenu preciznosti testa Aptima HIV-1 Quant Dx napravljen je panel dodavanjem kultiviranog virusa HIV-1 podtipa B u punu krv negativnu na HIV-1. Tri operatera testirala su panele s pomoću tri serije reagensa na tri sustava Panther tijekom 20 dana (pogledajte Tablicu 6). Panel se sastojao od jednog člana panela negativnog na HIV-1 i pet članova panela pozitivnih na HIV-1. Dodjeljivanje koncentracije za kliničke ispitke ili kultivirane zalihe virusa određeno je testiranjem vrste uzorka DBS-a u testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tablica 6: Preciznost testa Aptima HIV-1 Quant Dx s DBS-om

Broj valjanih replikata	Srednja koncentracija (log kopija/ml)	Među instrumentima (SD)	Među rukovateljima (SD)	Među serijama (SD)	Među ciklusima (SD)	Unutar ciklusa (SD)	Ukupno (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 = standardna devijacija

Napomena: varijabilnost nekih čimbenika može biti brojčano negativna, što se može dogoditi ako je varijabilnost zbog tih čimbenika vrlo mala. Kada se to dogodi, SD = 0. Ukupan broj testiranih replikata za svakog člana panela bio je 81; za procjenu preciznosti korišteni su samo replikati s kvantificiranim rezultatima.

Potencijalno interferirajuće tvari

Osjetljivost testa Aptima HIV-1 Quant Dx na interferenciju uzrokovanu povišenim razinama hemoglobina i ljudske DNK procijenjena je testiranjem DBS-a pripremljenog iz pune krvi u odsutnosti virusa HIV-1 i prisutnosti 3,42 i 4,7 log kopija/ml virusa HIV-1. Nije uočena interferencija u performansama u prisutnosti hemoglobina (5 mg/ml) i ljudske genomske DNK (2 µg/ml).

Test Aptima HIV-1 Quant Dx također je procijenjen na interferenciju s uzorcima plazme i nije uočena interferencija u performansama u prisutnosti egzogenih i endogenih tvari. Za potpuni popis potencijalno interferirajućih tvari koje su procijenjene za tu vrstu uzorka plazme pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Specifičnost

Specifičnost testa Aptima HIV-1 Quant Dx određena je testiranjem ispitaka DBS-a pripremljenih s krvlju 500 donora negativnih na HIV-1 u tri serije reagensa. Specifičnost testa s DBS-om bila je 99,6 % (interval pouzdanosti od 95 %: od 98,6 % do 99,9 %).

Analitička specifičnost

Potencijalna unakrsna reaktivnost na patogene prisutne u punoj krvi procijenjena je testom Aptima HIV-1 Quant Dx testiranjem DBS-a pripremljenog iz pune krvi obogaćene s 1e6 stanica/ml svakog organizma u odsutnosti virusa HIV-1 i prisutnosti 3,42 i 4,7 log kopija/ml virusa HIV-1. Nije uočena interferencija u učinkovitosti pri testiranju DBS-a koji sadrži *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti Gray*, *Plasmodium falciparum* i *Toxoplasma gondii* u prisutnosti i odsutnosti virusa HIV-1.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx također je procijenjen na unakrsnu reaktivnost za ispitke plazme i nije uočena interferencija u učinkovitosti u prisutnosti patogena. Za potpuni popis patogena koji su procijenjeni za određenu vrstu uzorka plazme pogledajte uputu za test Aptima HIV-1 Quant Dx.

Klinička učinkovitost

Dijagnostička sukladnost za ranu dijagnozu kod dojenčadi

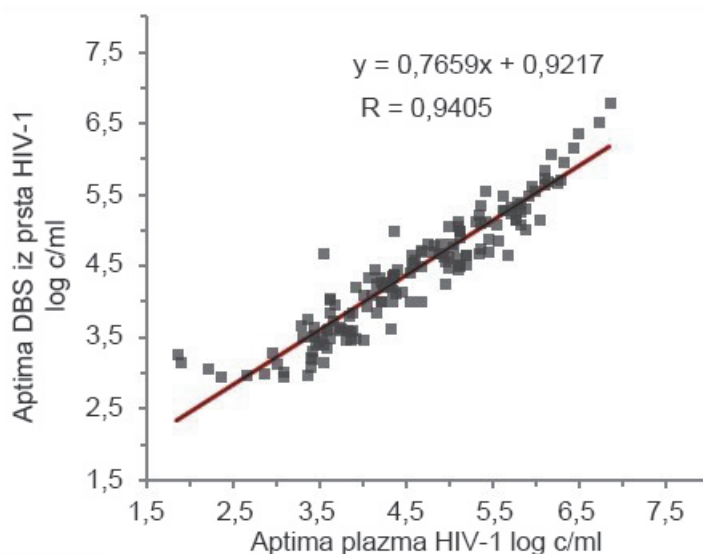
Za procjenu dijagnostičke sukladnosti ispitci DBS-a pripremljeni su iz uboda pete ili prsta dojenčadi ≤ 18 mjeseci starosti koje su rodile majke pozitivne na HIV-1 u Keniji, Afrika. Ova dojenčad testirana je upotrebom jednog DBS-a po testu u testu Aptima HIV-1 Quant Dx i usporednog kvalitativnog testa za HIV-1 s oznakom CE. Kao što prikazuje Tablicu 7, 1975 ispita imalo je valjane rezultate u oba testa. Za kvalitativni usporedni test s oznakom CE svi ispitci s reaktivnim rezultatima ponovno su testirani i samo su potvrđeni reaktivni rezultati kategorizirani kao „Detected” (Otkriveno). Svi nereaktivni rezultati uzoraka kategorizirani su kao „Target Not Detected” (Cilj nije otkriven). Za test Aptima HIV-1 Quant Dx rezultati testa koji su protumačeni kao dvosmisleni (pogledajte Tablicu 2) ponovno su testirani. Dijagnostička sukladnost za ranu dijagnozu dojenčadi između dva testa bila je 99,6 %.

Tablica 7: Dijagnostička sukladnost između testa Aptima HIV-1 Quant Dx i usporednog testa

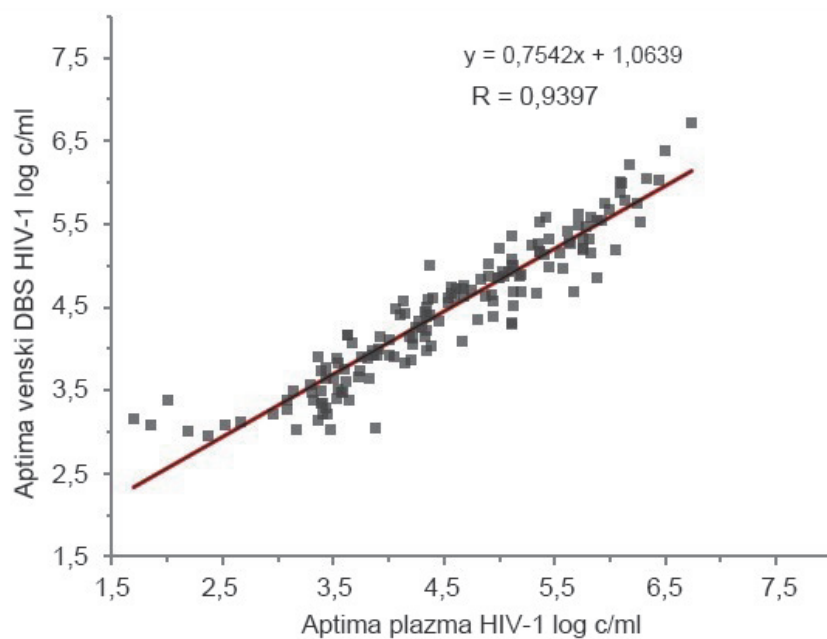
		Usporedni test s oznakom CE	
		Cilj nije otkriven	Otkriven
Test Aptima HIV-1 Quant Dx	Cilj nije otkriven	1888	4
	Otkriven	3	80

Korelacija metoda

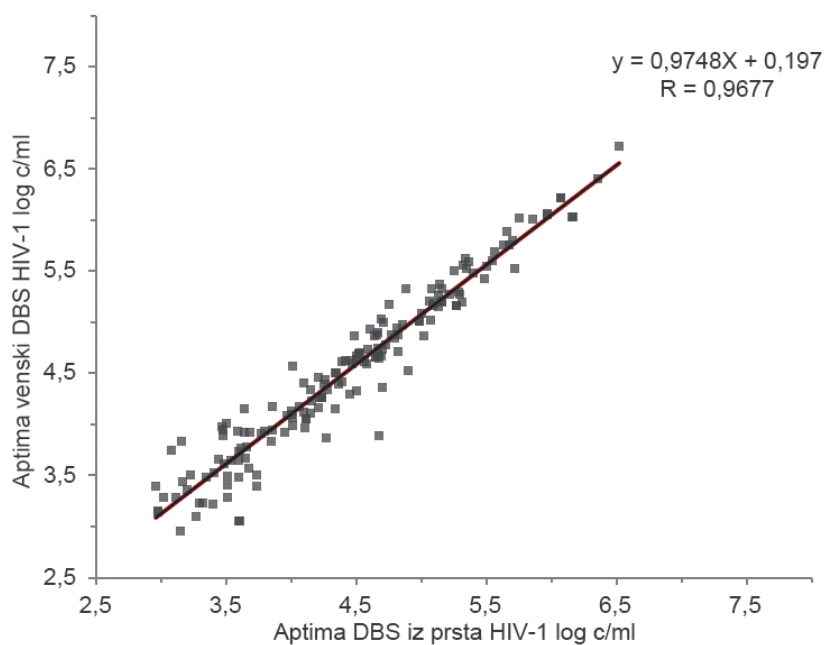
Učinkovitost testa Aptima HIV-1 Quant Dx za vrstu uzorka DBS-a procijenjena je usporedbom rezultata DBS-a s rezultatom plazme testa Aptima. U ovo ispitivanje uključeno je ukupno 258 pacijenata zaraženih virusom HIV-1 s 5 mjesta prikupljanja uzoraka diljem Kenije, Afrika. Od svakog pacijenta ispitci DBS-a pripremljeni su s pomoću kapilarne krvi (iz prsta) i venske krvi. Plazma je također dobivena od istog pacijenta. Sva testiranja testom Aptima za ispitke DBS-a i plazme provedena su jednom serijom reagensa. Rezultati ispita koji su kvantificirani za svaku vrstu uzorka analizirani su linearnom regresijom najmanjih kvadrata kao što prikazuju slike 5, 6 i 7.



Slika 5. Korelacija između DBS-a dobivenog iz prsta i plazme



Slika 6. Korelacija između venskog DBS-a i plazme



Slika 7. Korelacija između DBS-a dobivenog iz prsta i venskog DBS-a

Sukladnost rezultata DBS-a i plazme također je procijenjena na pragu od 1000 kopija/ml. (Tablice 8 i 9). Pozitivna i negativna sukladnost između rezultata DBS-a dobivenog iz prsta i plazme bila je 92,95 %, odnosno 93,14 %. Pozitivna i negativna sukladnost između rezultata venskog DBS-a i plazme bila je 96,15 %, odnosno 90,20 %. Pozitivna i negativna sukladnost između rezultata venskog DBS-a i DBS-a iz prsta bila je 91,25 %, odnosno 93,88 % (Tablicu 10). Ukupna sukladnost rezultata HIV-1 za plazmu s rezultatima HIV-1 DBS-a iz prsta i venskog DBS-a bila je 93,02 %, odnosno 93,80 %.

Tablica 8: Sukladnost između DBS-a iz prsta i plazme u testu Aptima HIV-1 Quant Dx

		Aptima plazma	
		< 1000	> 1000
Aptima DBS iz prsta	< 1000	95	11
	> 1000	7	145

Tablica 9: Sukladnost između venskog DBS-a i plazme u testu Aptima HIV-1 Quant Dx

		Aptima plazma	
		< 1000	> 1000
Aptima Venski DBS	< 1000	92	6
	> 1000	10	150

Tablica 10: Sukladnost između venskog DBS-a i DBS-a iz prsta u testu Aptima HIV-1 Quant Dx

		Aptima venski DBS	
		< 1000	> 1000
Aptima DBS iz prsta	< 1000	92	14
	> 1000	6	146

Bibliografija

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; aktualna verzija.
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; odobrene smjernice – drugo izdanje. 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; odobrene smjernice. CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Kontaktne podatke i povijest revizija



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgija

Australski naručitelj
Hologic (Australija i Novi
Zeland) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Za adresu e-pošte i telefonski broj za tehničku podršku te korisničku službu za određenu zemlju posjetite www.hologic.com/support.

Ozbiljne štetne događaje do kojih je došlo u vezi s proizvodom u Europskoj uniji potrebno je prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države-članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalazi.

Hologic, Aptima, Panther i Panther Fusion i povezani logotipovi zaštitni su znakovi i/ili registrirani zaštitni znakovi tvrtke Hologic, Inc. i/ili njezinih podružnica u SAD-u i/ili drugim zemljama.

Svi drugi zaštitni znakovi koji se mogu pojaviti u ovoj uputi vlasništvo su svojih vlasnika.

Ovaj proizvod može biti obuhvaćen jednim ili više patenata u SAD-u koji su identificirani na www.hologic.com/patents.

© 2018 – 2025. Hologic, Inc. Sva prava pridržana.

AW-29377-2501 rev. 001

2025-08

Povijest revizija	Datum	Opis
AW-29377 rev. 001	Kolovoz 2025.	• Početno izdanje.