

Dried Blood Spot (DBS) Supplement to the Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

In-vitro-Diagnostikum.

Nur für den US-Export.

Allgemeine Informationen	2
Einleitung	2
Verwendungszweck	2
Zusammenfassung und Erläuterung des Tests für Trockenblutproben (DBS) ...	2
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	3
Entnahme und Lagerung von Trockenblutproben	5
Proben im Panther System	6
Transport von Patientenproben	6
Panther System	7
Erforderliche Materialien für Trockenblutproben, die separat erhältlich sind ...	7
Testverfahren mit dem Panther System	8
Verfahrenshinweise mit Bezug auf Kalibratoren und Kontrollen	11
Qualitätskontrolle	12
Assay-Kalibrierung	12
Negativ- und Positivkontrollen	12
Interner Kalibrator/Interne Kontrolle	12
Auswertung der Ergebnisse von Trockenblutproben	13
Einschränkungen	14
Die Leistung von Trockenblutproben	15
Nachweisgrenze bei Verwendung des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1	15
Linearer Bereich	16
Präzision	16
Mögliche Störsubstanzen	17
Spezifität	17
Analytische Spezifität	17
Klinische Leistungsdaten	18
Diagnostische Übereinstimmung für die Frühdiagnose bei Säuglingen	18
Methodenkorrelation	18
Literatur	21

Allgemeine Informationen

Einleitung

Diese Packungsbeilage ergänzt die Packungsbeilage des *Aptima HIV-1 Quant Dx Assays* (AW-11853). In diesem Dokument sind Erläuterungen, Warn- und Vorsichtshinweise sowie Anleitungen zur Vorbereitung und Durchführung von Tests aus Trockenblutproben (DBS, Dried Blood Spot) mit dem Aptima HIV-1 Quant DX Assay zur Überwachung der HIV-1-Viruslast und der Frühdiagnose bei Säuglingen (EID, Early Infant Diagnosis) zu finden. Allgemeine Warn- und Vorsichtshinweise sowie Anweisungen zur Reagenzvorbereitung für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sind in AW-11853 zu finden.

Verwendungszweck

Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ist ein *In-vitro*-Nukleinsäure-Amplifikationstest für den Nachweis und die Quantifizierung der RNA-Gruppen M, N und O des Humanen Immundefizienz-Virus Typ 1 (HIV-1) auf dem vollautomatischen Panther™ System. Der Test ist zur Unterstützung im Rahmen einer HIV-1-Diagnostik oder zur Bestätigung einer HIV-1-Infektion oder zur Unterstützung im Rahmen der klinischen Versorgung von Patienten mit HIV-1-Infektion bestimmt.

Darüber hinaus kann der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay die Diagnose einer akuten bzw. primären HIV-1-Infektion unterstützen. Eine akute bzw. primäre HIV-1-Infektion ist durch die Gegenwart von HIV-1-RNA im Plasma, Serum oder Blut von Patienten bei gleichzeitiger Abwesenheit von Antikörpern gegen HIV-1 gekennzeichnet. Liefern zugelassene HIV-Immunoassays bei einer Probe wiederholt reaktive Ergebnisse, kann der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay als ergänzender Test verwendet werden. Ist das Ergebnis des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays reaktiv, gilt die HIV-1-Infektion als bestätigt.

Bei Personen mit HIV-1-Infektion kann der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay außerdem im Zusammenhang mit anderen Labormarkern und dem klinischen Bild zur Beurteilung der Erkrankungsprogression dienen. Bei Säuglingen im Alter unter 18 Monaten kann der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay die Frühdiagnose einer HIV-1-Infektion anhand Trockenblutproben unterstützen. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kann die Überwachung einer antiretroviralen Therapie unterstützen. Dazu werden die Änderungen der HIV-1-RNA-Konzentration in Plasma- oder Trockenblutproben gemessen.

Soll der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay die Diagnose einer HIV-1-Infektion unterstützen, dienen Plasma-, Serum- oder Trockenblutproben von Säuglingen unter 18 Monaten zur Ermittlung von qualitativen Ergebnissen. Soll der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay die Überwachung einer antiretroviralen Therapie unterstützen, kommen nur Plasma- oder Trockenblutproben zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen in Frage. Serumproben dürfen nicht zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen verwendet werden.

Dieser Assay ist nicht für das Screening von Blut- oder Plasmaspendern vorgesehen.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests für Trockenblutproben (DBS)

Trockenblutproben eignen sich zur Überwachung der Viruslast und zum Nachweis eines virologischen Versagens bei einem Schwellenwert von 1000 Kopien/ml. (1)
Trockenblutproben eignen sich auch zur Unterstützung einer Frühdiagnose einer HIV-1-Infektion bei Säuglingen bis zu einem Alter von 18 Monaten. (2).

Bei Säuglingen, die mit HIV infiziert sind, besteht ein hohes Todesrisiko im ersten Lebensjahr. Morbidität und Mortalität können durch die frühzeitige Einleitung einer antiretroviralen Therapie (ART) erheblich gesenkt werden. Im Rahmen der Frühdiagnose werden serologische HIV-Tests nicht empfohlen, da mütterliche IgG-Antikörper die Plazentaschranke passieren und bei nicht infizierten Säuglingen unter 18 Monaten persistieren können, was unter Umständen zu falsch-positive HIV-Antikörper-Test-Ergebnissen führen kann. Zur Diagnose einer HIV-1-Infektion bei Kindern unter 18 Monaten sind Assays erforderlich, mit denen Komponenten des HIV-1-Virus nachgewiesen werden können – beispielsweise HIV-1-RNA oder p24-Antigen. Die Weltgesundheitsbehörde empfiehlt bei Säuglingen unter 18 Monaten virologische Tests auf HIV-1-DNA, HIV-1-RNA oder HIV-1-p24-Antigen. Für die Frühdiagnose bei Säuglingen mit HIV-RNA-Nachweismethoden wird Trockenblut empfohlen. (2,3)

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Hinweis: Die Gefahrenkommunikation spiegelt die Einstufung der EU-Sicherheitsdatenblätter (SDB) wider. Informationen zu Gefahrenhinweisen spezifisch für Ihre Region sind im regionsspezifischen SDB in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung unter www.hologicsds.com zu finden.

A. *In-vitro*-Diagnostikum.

B. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse müssen die Packungsbeilage und das *Panther System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther System) sorgfältig und vollständig gelesen werden, bevor dieser Assay durchgeführt wird.

Hinweise zu Trockenblutproben

C. Proben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assays sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen (4, 5, 6) zu befolgen. Entsprechend den vor Ort geltenden Bestimmungen sind angemessene Handhabungs- und Entsorgungsmethoden festzulegen.(7) Dieses Verfahren darf nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays und in der Handhabung infektiösen Materials geschult sind.

D. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.

E. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, bei der Bearbeitung der Trockenblutproben beim Lösen oder Entfernen von Probenkappen eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Die Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.

F. Venenblutproben (EDTA) und Fingerbeeren- oder Fersenblut für Trockenblutproben und Trockenblut-Testkarten müssen gemäß den Bestimmungen vor Ort entnommen und aufbewahrt werden, um eine Übertragung von Krankheitserregern durch das Blut zu vermeiden.

G. Es werden mindestens drei Trockenblutflecken pro Testkarte empfohlen.

- H. Eine unsachgemäße Herstellung, Trocknung, Lagerung und Handhabung von Trockenblutproben können zu fehlerhaften Testergebnissen führen.
- I. Es muss sichergestellt werden, dass die Trockenblut-Testkarten vollständig trocken sind, bevor sie in Reißverschlussbeuteln zusammen mit Trockenmittel aufbewahrt werden. Eine unvollständige Trocknung der Proben kann die Haltbarkeit verkürzen und zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- J. Noch nicht benutzte Testkarten müssen gemäß den Herstelleranweisungen aufbewahrt und gehandhabt werden.
- K. Weiterführende Hinweise zur Herstellung und Handhabung von Trockenblutproben sind in den Anweisungen der Testkartenhersteller zu finden.
- L. Um eine Kontamination durch Verschleppung zu vermeiden, müssen die Instrumente zum Schneiden von Trockenblutscheiben aus Testkarten und zur Handhabung dieser Scheiben vor und nach Kontakt mit einer Probe dekontaminiert werden.
- M. Zur Extraktion von Trockenblutproben darf nur Aptima DBS-Extraktionspuffer verwendet werden. Aptima Probenverdünner oder andere Puffer dürfen nicht für die Extraktion von Trockenblutproben verwendet werden.
- N. Zusätzliche Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen für das Labor sind in der Packungsbeilage des *Aptima HIV-1 Quant Dx Assays (AW-11853)* zu finden.

Hinweise zum Assay

- O. Die quantitativen Ergebnisse des Aptima HIV-1 Quant Dx Assay wurden mit Trockenblut- und Plasmaproben evaluiert. Serum darf nicht zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen verwendet werden. Die qualitativen Ergebnisse von Plasma-, Serum- und Trockenblutproben wurden einer Beurteilung unterzogen. Die Reagenzien-Kit, den Kalibrator oder die Kontrollen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- P. Die Testkarten nach Ablauf des vom Hersteller angegebenen Verfallsdatums nicht mehr benutzen. Assay-Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Chargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. Assay-Flüssigkeiten dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen. Kontrollen und Kalibratoren dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen.
- Q. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben oder Nuklease ist zu vermeiden.
- R. Alle Assay-Reagenzien verschließen und bei den angegebenen Temperaturen lagern. Die Assay-Leistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assay-Reagenzien beeinträchtigt werden. Weiterführende Informationen siehe *Testverfahren mit dem Panther System*.
- S. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nur auf ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.
- T. Zusätzliche Gefahrenhinweise sind in der Packungsbeilage des *Aptima HIV-1 Quant Dx Assays (AW-11853)* zu finden.

Entnahme und Lagerung von Trockenblutproben

Hinweis: *Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.*

Hinweis: *Bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf achten, dass es zu keiner Kreuzkontamination kommt. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.*

Geeignet sind EDTA-Vollblutproben oder Kapillarblutproben aus der Fingerbeere oder Ferse.

A. Entnahme und Herstellung von Trockenblutproben

- Vollblut für Trockenblut-Testkarten kann in geeigneten Blutentnahmeröhrchen bis zu 24 Stunden zwischen 2 °C und 30 °C aufbewahrt werden. Vor der Herstellung der Trockenblutprobe muss das Blut sorgfältig gemischt werden. Je nach Standardverfahren und den Verfahren vor Ort kann Kapillarblut aus der Fingerbeere oder der Ferse entnommen werden.
- Auf Ahlstrom/Munktell TNF-Testkarten oder einem vergleichbaren Produkt (z. B. Whatman 903) ungefähr 70 µl Vollblut in die Mitte eines Kreises (Durchmesser 12 mm) tropfen. Im Falle von Fingerbeeren- bzw. Fersenblut 3 bis 5 Tropfen (ca. 70 µl) in jeden Kreis tropfen. Dabei ist darauf zu achten, dass die gesamte Fläche des Kreises (auf der Ober- und Unterseite der Testkarte) gesättigt ist.
- Die Trockenblut-Testkarte bei Raumtemperatur (15 °C bis 30 °C) 4 bis 24 Stunden lang an der Luft trocknen. Bei hoher Luftfeuchtigkeit sind unter Umständen längere Trocknungszeiten erforderlich.
- Die Testkarten dürfen keinem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden, dürfen sich nicht gegenseitig berühren und müssen vollständig trocken sein, bevor sie verpackt, gelagert und versendet werden.

Hinweis: *Wenn die Blutmenge nicht ausreicht, die Blutflecken nicht ausreichend getrocknet und/oder die Trockenblut-Testkarten nicht ordnungsgemäß behandelt oder aufbewahrt wurden, dann können die Testergebnisse fehlerhaft sein.*

B. Trockenblutproben

Die primären Entnahmeröhrchen für Vollblut können vor der Herstellung der Trockenblutproben bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C bis 30 °C aufbewahrt werden (Abbildung 1, oberer Kasten).

Die hergestellten Trockenblut-Testkarten können unter den folgenden Bedingungen aufbewahrt werden (Abbildung 1, untere Kästen):

- bis zu 12 Wochen bei 2 °C bis 30 °C und normaler Luftfeuchtigkeit oder
- bis zu 12 Wochen bei -15 °C bis -35 °C oder
- bis zu 2 Wochen bei 40 °C und einer Luftfeuchtigkeit von 85 %.

Vor dem Test können extrahierte Trockenblutproben in Probenaliquotröhrchen (SAT) bis zu 24 Stunden lang bei 15 °C bis 30 °C aufbewahrt werden.

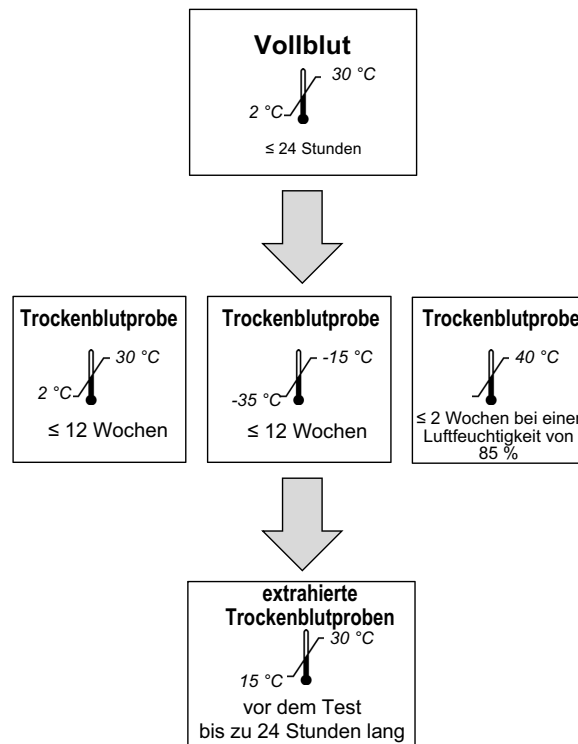


Abbildung 1. Bedingungen für die Lagerung von Trockenblutproben

Proben im Panther System

Extrahierte Trockenblutproben können bis zu 8 Stunden lang unverschlossen im Panther System aufbewahrt werden. Solange die Gesamtverweildauer auf dem System vor dem Pipettieren der Probe durch das Panther System 8 Stunden nicht übersteigt, können die Proben wieder aus dem Panther System genommen und getestet werden.

Transport von Patientenproben

Die unter *Entnahme und Lagerung von Trockenblutproben* beschriebenen Lagerbedingungen für Proben müssen eingehalten werden.

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther System

Die Reagenzien für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay im Panther System werden in der Packungsbeilage *Aptima HIV-1 Quant Dx Assay* (AW-11853) aufgeführt.

Erforderliche Materialien für Trockenblutproben, die separat erhältlich sind

Hinweis: Die von Hologic erhältlichen Materialien sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

Material	Kat.- Nr.
Aptima DBS-Extraktionspuffer (100 ml)	PRD-04772
Aptima Probenaliquotröhrchen (SAT) (100 St.)	503762
Kappe für Transportröhrchen (100 St.)	504415
<i>Kappe für SAT</i>	
Im Handel erhältliche Trockenblut-Testkarten:	—
<i>Ahlstrom/Munktell TFN-Testkarten oder vergleichbares Produkt (z. B. Whatman 903)</i>	
Schere, Pinzette oder andere Instrumente zum Ablösen des Trockenblutes von der Trockenblut-Testkarten	—
Spitzen, 1000 µl, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung	10612513 (Tecan)
Bleichmittel, 5%ige bis 7%ige (0,7 M bis 1,0 M) Natriumhypochloritlösung	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—
Ersatzkappen für Reagenzien	
<i>Rekonstitutionslösungs-Flaschen für Amplifikations-, Enzym- und Promoterreagenz</i>	CL0041 (100 Kappen)
<i>TCR-Flasche</i>	CL0040 (100 Kappen)
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Fussfreie Tücher	—
Pipette	—
Spitzen	—
Primäre Entnahmeröhrchen (ACD, EDTA, PPT) Optionen:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Zentrifuge	—
Wippschüttler für Röhrchen	—

Testverfahren mit dem Panther System

A. Extraktion der Trockenblutproben

1. Vor der Verarbeitung die Temperatur der Proben auf 15 °C bis 30 °C bringen.
2. 1 ml DBS-Extraktionspuffer in das Probenaliquotröhrchen (SAT, Specimen Aliquot Tube) geben.
3. Die Trockenblutprobe mit einem dekontaminierten Instrument (z. B. Pipettenspitze, Pinzette oder Schere) in das Probenaliquotröhrchen mit DBS-Extraktionspuffer überführen. Alle Trockenblutproben-Scheiben sollten einen Durchmesser von ungefähr 12 mm haben.

Hinweis: Bei Trockenblut-Testkarten ohne Perforation muss darauf geachtet werden, dass die Trockenblutprobe an der Wand des Probenaliquotröhrchens haftet.

4. Die Probenaliquotröhrchen, die DBS-Extraktionspuffer und Trockenblutproben enthalten, mit den Kappen für Transportröhrchen verschließen.
5. Die Röhrchen 30 Minuten lang vorsichtig bei Raumtemperatur schwenken. Darauf achten, dass der DBS-Extraktionspuffer beim Schwenken über die Trockenblutprobe läuft. Übermäßige Schaumbildung vermeiden.

Hinweis: Vor dem Test können extrahierte Trockenblutproben in den Probenaliquotröhrchen bis zu 24 Stunden lang bei 15 °C bis 30 °C aufbewahrt werden.

6. Vor dem Beladen des Panther die Probenaliquotröhrchen mit den extrahierten Trockenblutproben 2 Minuten lang bei 3000 g zentrifugieren.
7. Die Probenaliquotröhrchen mit den Trockenblutproben in das Panther System laden (die extrahierten Trockenblutproben dürfen bis zu 8 Stunden lang im Panther System aufbewahrt werden).

Hinweis: Zur Vermeidung von Kontamination durch Verschleppung müssen die Instrumente, die bei der Vorbereitung und Handhabung von Proben verwendet werden, zwischen unterschiedlichen Proben dekontaminiert werden.

B. Vorbereitung des Systems auf Trockenblutproben

1. Das System entsprechend den Anweisungen in der Bedienungsanleitung für das Panther System (*Panther System Operator's Manual*) einrichten.
2. Probenständer laden.
3. Berücksichtigen des Trockenblut-Umrechnungsfaktors bei der Durchführung eines Tests aus Trockenblutproben.

Berücksichtigen des Trockenblut-Umrechnungsfaktors für einen ganzen Ständer von Trockenblutproben:

- a. Wählen Sie auf dem Bildschirm „Laden von Probenständern“ das Feld „Verdünnung bei allen anwenden“.

Das Fenster „Verdünnungsfaktor“ wird angezeigt.

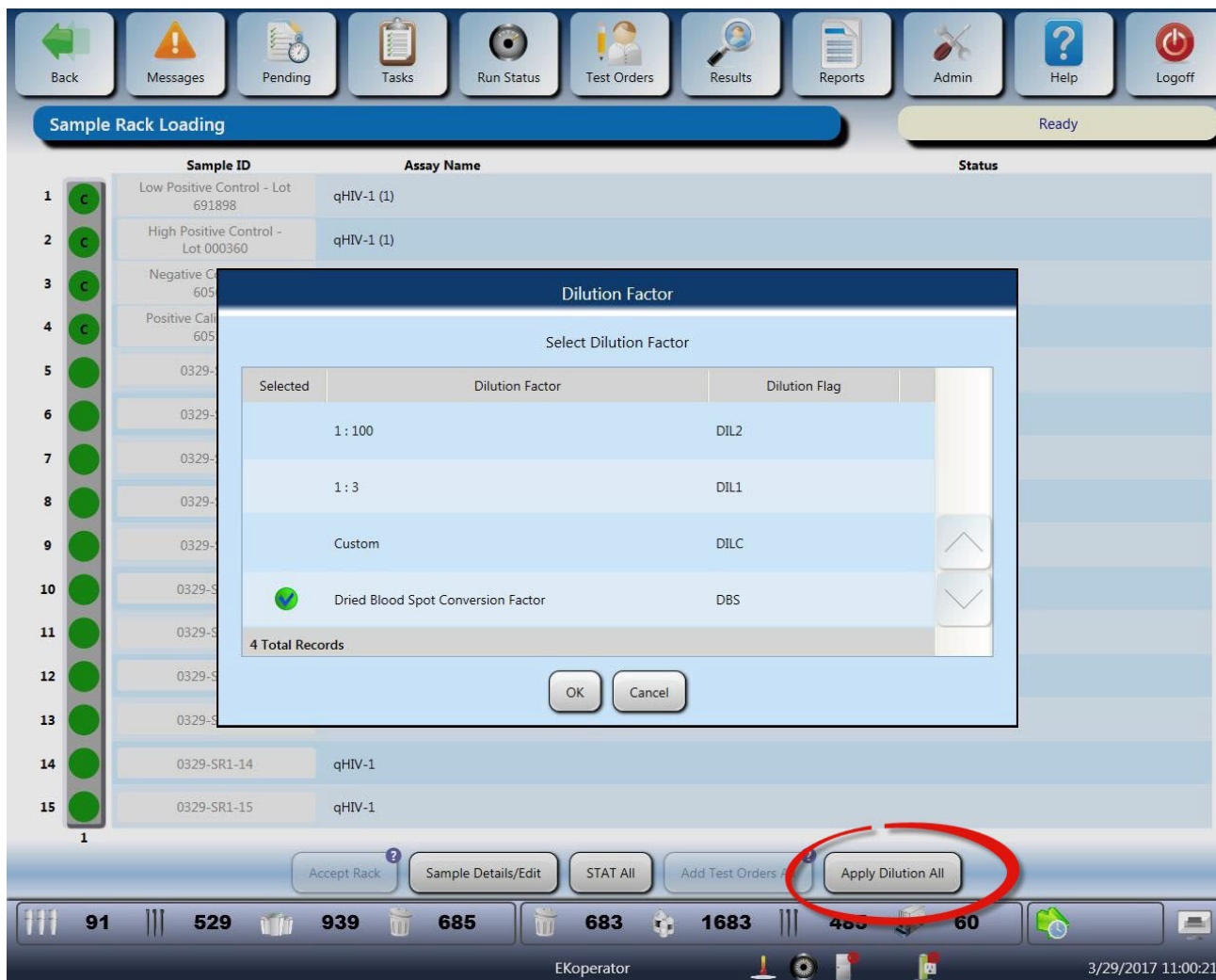


Abbildung 2. Das Fenster „Verdünnungsfaktor“ im Bildschirm „Probenständer laden“

- b. Trockenblut-Umrechnungsfaktor wählen.
- c. **OK** wählen.
Das Fenster „Verdünnungsfaktor für Probenständer einrichten“ wird angezeigt.
- d. **Ja** wählen, um alle Trockenblutproben im Ständer mit der Trockenblut-Umrechnungsfaktor-Markierung zu kennzeichnen.

So kann der Trockenblut-Umrechnungsfaktor nur bei einer Testanforderung angewendet werden (z. B. bei der dritten Probe im Ständer, siehe folgende Abbildung):

- a. Im Bildschirm „*Probendetails*“ die zu bearbeitende Testanforderung und dann „**Verdünnung anwenden**“ wählen.

Das Fenster „*Verdünnungsfaktor*“ wird angezeigt.

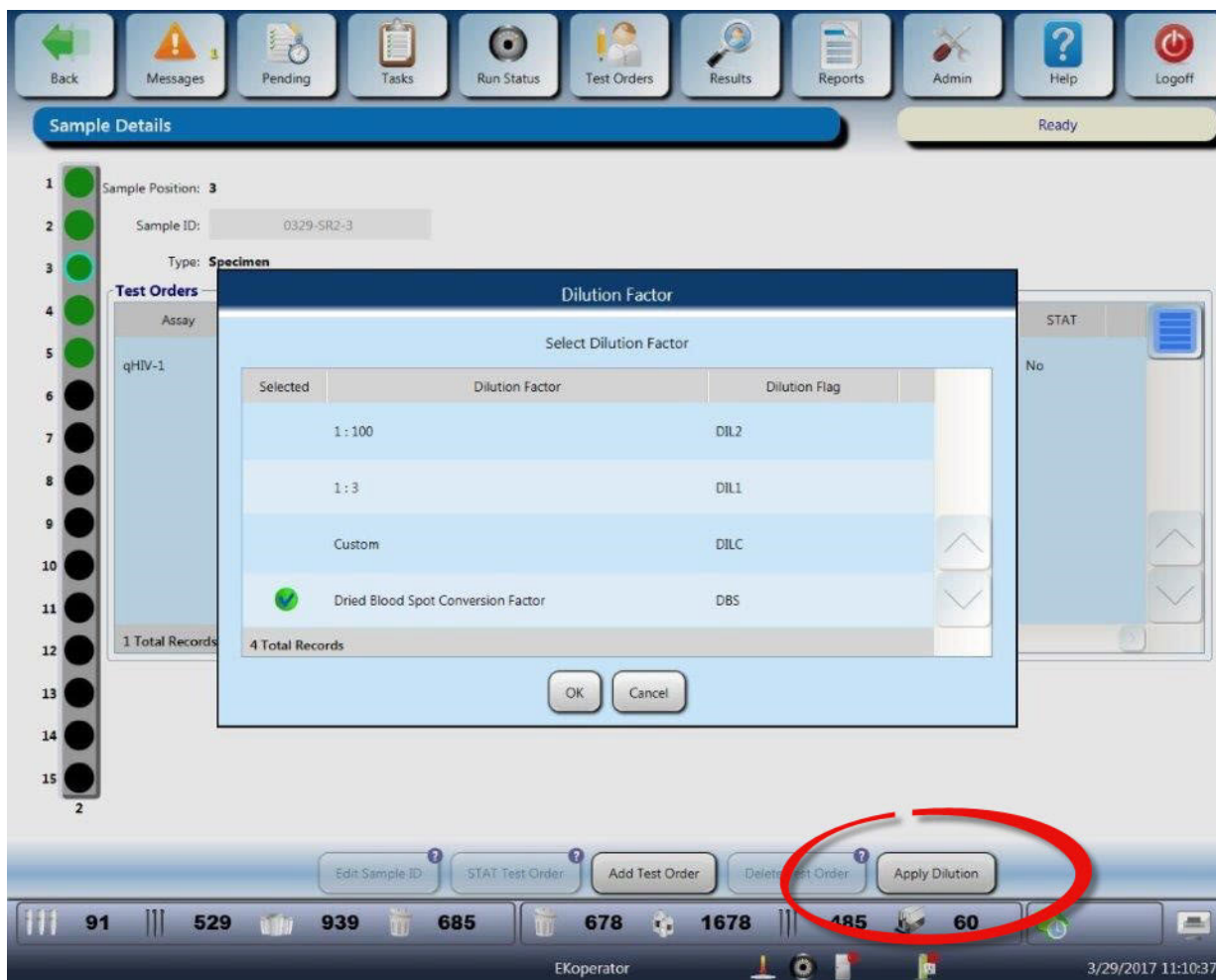


Abbildung 3. Das Fenster „*Verdünnungsfaktor*“ im Bildschirm „*Probendetails*“

- b. **Trockenblut-Umrechnungsfaktor** wählen.
- c. **OK** wählen, um den Trockenblut-Umrechnungsfaktor bei allen ausgewählten Testanforderungen anzuwenden.

Bei Bedarf kann der Trockenblut-Umrechnungsfaktor vor Beginn der Verarbeitung aus Testanforderungen entfernt werden.

So kann der Trockenblut-Umrechnungsfaktor aus einem gesamten Probenständer entfernt werden:

1. Auf dem Bildschirm „*Laden von Probenständern*“ auf den auszuwählenden Ständer doppelklicken.
Für den ausgewählten Ständer wird der Bildschirm „*Laden von Probenständern*“ angezeigt.
2. „**Verdünnung auf alle anwenden**“ wählen.
3. Im Fenster „*Verdünnungsfaktor*“ die Option „**Trockenblut-Umrechnungsfaktor**“ deaktivieren.
4. **OK** wählen.
Das Fenster „*Verdünnungsfaktor für Probenständer einrichten*“ wird angezeigt.
5. **Ja** wählen, um den Trockenblut-Umrechnungsfaktor für einen gesamten Probenständer zu entfernen.

So kann der Trockenblut-Umrechnungsfaktor aus Assay-Testanforderungen entfernt werden:

1. Im Bildschirm „*Probenständerfach*“ auf den geladenen Ständer doppelklicken, der die Zielproben enthält.
Für den ausgewählten Probenständer wird der Bildschirm *Laden von Probenständern* angezeigt.
2. Auf dem Bildschirm „*Laden von Probenständern*“ auf die betroffene(n) Probe(n) doppelklicken.
Im Bildschirm „*Probendetails*“ werden die aktuellen Testanforderungen für die ausgewählte Probe angezeigt.
3. Im Bereich „*Testanforderungen*“ die Zieltestanforderung wählen.
4. „**Verdünnung anwenden**“ wählen.
5. Im Fenster „*Verdünnungsfaktor*“ die Option „**Trockenblut-Umrechnungsfaktor**“ deaktivieren.
6. **OK** wählen, um den Trockenblut-Umrechnungsfaktor aus der Testanforderung zu entfernen.

Verfahrenshinweise mit Bezug auf Kalibratoren und Kontrollen

Im Falle von Trockenblutproben werden keine positiven und negativen Trockenblut-Kontrollen bereitgestellt. Für Trockenblutproben werden die gleichen Kalibratoren und Kontrollen benutzt wie für Serum- und Plasmaproben. Siehe AW-11853.

Qualitätskontrolle

Ein Lauf- oder Patientenprobenergebnis kann von einem Anwender für ungültig erklärt werden, wenn während der Durchführung des Assays technische, anwender- oder gerätebezogene Probleme aufgetreten sind und dokumentiert wurden. In diesem Fall müssen die Proben erneut getestet werden.

Assay-Kalibrierung

Für Trockenblutproben werden die gleichen Kalibratoren benutzt wie für Serum- und Plasmaproben. Siehe AW-11853.

Negativ- und Positivkontrollen

Für die Trockenblutproben werden die gleichen Kontrollen benutzt wie für Serum- und Plasmaproben. Siehe AW-11853.

Interner Kalibrator/Interne Kontrolle

Jede Probe enthält einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (IC). Siehe AW-11853.

Auswertung der Ergebnisse von Trockenblutproben

Das Panther System bestimmt die Konzentration der HIV-1-RNA in Patientenproben und Kontrollen automatisch, indem es die Testergebnisse mit einer Kalibrationskurve vergleicht. Im Falle von Trockenblutproben berichtet das Panther System Ergebnisse automatisch in der Form Kopien/ml und \log_{10} Kopien/ml HIV-1-RNA, wobei der Trockenblut-Umrechnungsfaktor 29,1 beträgt. Die logarithmische Umrechnung der unteren Nachweisgrenze für Trockenblut (873 Kopien/ml) ist 2,94 \log Kopien/ml. Die Ergebnisauswertung wird in Tabelle 1 bereitgestellt.

Das Panther System liefert für die diagnostische Anwendung kein qualitatives Ergebnis (d. h. „reaktiv“ oder „nicht-reaktiv“). Der Anwender muss die angegebene HIV-1-RNA-Konzentration selbst qualitativ interpretieren (siehe Tabelle 1). Bei Patientenproben mit dem Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ kann keine HIV-1-RNA nachgewiesen werden (nicht-reaktiv). Ist das Ergebnis einer Patientenprobe „<873 nachgewiesen“ oder liegt es im linearen Bereich, wurde HIV-1-RNA nachgewiesen und die betroffenen Proben sind HIV-1-RNA-reaktiv.

Tabelle 1: Ergebnisauswertung von Trockenblutproben

Ausgegebenes Ergebnis des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays		Auswertung der HIV-1-RNA-Konzentration	Qualitative Auswertung für diagnostische Zwecke
Kopien/ml	\log_{10} Wert ^a		
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	Keine HIV-1-RNA festgestellt.	Bezüglich HIV-1-RNA nicht-reaktiv
<873 nachgewiesen	<2,94	Es wird HIV-1-RNA nachgewiesen, aber unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze für Trockenblutproben (LLOQ, Lower Limit of Quantification: 873 Kopien/ml)	Test wiederholen, um reaktives Ergebnis für die Diagnose zu bestätigen. Nur bestätigte positive Ergebnisse gelten als „reaktiv“. ^b
873 bis 10.000.000	2,94 bis 7,00	Die HIV-1-RNA-Konzentration liegt im linearen Bereich von 873 Kopien/ml bis 10.000.000 Kopien/ml.	HIV-1-RNA-reaktiv
>10.000.000	>7,00	Die HIV-1-RNA-Konzentration liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze (ULoQ, Upper Limit of Quantification).	HIV-1-RNA-reaktiv
Ungültig^c	Ungültig^c	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Probe sollte noch einmal getestet werden.	Ungültig

^a Wert ist auf zwei Dezimalstellen gekürzt.

^b **World Health Organization, Policy Brief.** July 2018. Update on Antiretroviral Regimens for Treating and Preventing HIV Infection and Update on Early Infant Diagnosis of HIV: HIV Treatment—Interim Guidance. Genf, Schweiz. <http://www.who.int/hiv>.

^c Ungültige Ergebnisse werden in blauer Schrift angezeigt.

Einschränkungen

- A. Dieser Assay darf nur von geschulten Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Es muss sichergestellt werden, dass dieser Assay mit der Panther System Software ab Version 6.2 durchgeführt wird.
- C. Die Anwendung unterschiedlicher Testmethodiken kann zur Berichterstattung von unterschiedlichen Werten führen. Bei Umstellung auf einen neuen Assay besteht die Gefahr einer Fehlinterpretation der Ergebnisse. Um diese Gefahr zu reduzieren, wird eine Validierung der neuen Methodik zur Ermittlung und Berücksichtigung von Unterschieden in den berichteten Ergebnissen zu empfohlen.
- D. Unsachgemäße Entnahme, Beförderung, Lagerung oder Verarbeitung von Proben können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- E. Dieser Assay wurde mit Ahlstrom/Munktell TFN und Whatman 903 Trockenblut-Testkarten validiert. Es muss sichergestellt werden, dass Trockenblut-Testkarten für die laborspezifischen Anforderungen validiert sind.
- F. Es muss sichergestellt werden, dass Trockenblut-Testkarten gemäß den Herstellerangaben gehandhabt und gelagert sind.

Die Leistung von Trockenblutproben

Nachweisgrenze bei Verwendung des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1

Die Nachweisgrenze (LoD, Limit of Detection) des Assays ist definiert als die HIV-1-RNA-Konzentration, die gemäß CLSI EP17-A2 (8) mit einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 95 % festgestellt wird. Die LoD wurde durch Testen einer Reihe von Verdünnungspanels des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1 (Subtyp B, NIBSC-Code: 10/152) in HIV-1-negativem Vollblut ermittelt. Es wurden 30 Replikate jeder Verdünnung in drei Panther Systemen mit drei Reagenzchargen analysiert d. h. für jede Verdünnung insgesamt 90 Replikate. Gemäß CLSI EP17-A2 wurde die Nachweisgrenze auf Grundlage der Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration vorhergesagt und als LoD festgelegt (siehe Tabelle 2). Die Probit-Analyse für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ergab eine LoD von 873,88 Kopien/ml (95%-Konfidenzintervall: 653,98 – 1.311 Kopien/ml) oder 2496,8 IU/ml (95%-Konfidenzintervall: 1868,5 – 3745,72 IU/ml, 0,35 Kopien = 1 IU).

Tabelle 2: LoD des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays für Trockenblutproben mit dem 3. internationalen WHO-Standard für HIV-1

Vorhergesagte Nachweisgrenze	Konzentration (Kopien/ml)	Konzentration (IU/ml)
10 %	49,21	140,60
20 %	75,61	216,01
30 %	103,05	294,42
40 %	134,26	383,60
50 %	171,93	491,22
60 %	220,17	629,04
70 %	286,86	819,58
80 %	390,97	1117,05
90 %	600,69	1716,24
95 %	873,88	2496,80

Linearer Bereich

Der lineare Bereich des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurde gemäß CLSI EP06-A anhand einer Reihe von Testpanels ermittelt. Dazu wurde kultiviertes HIV-1-Virus (Subtyp B) in HIV-1-negativem Vollblut verdünnt (9). Die Konzentration der Panels lag im Bereich von 2,70 bis 7,60 log Kopien/ml. Die Messungen erfolgten auf vier Panther Systemen mit zwei Reagenzchargen des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays. Der Aptima Quant Dx Assay ergab im gesamten getesteten Bereich lineare Ergebnisse, siehe Abbildung 4.

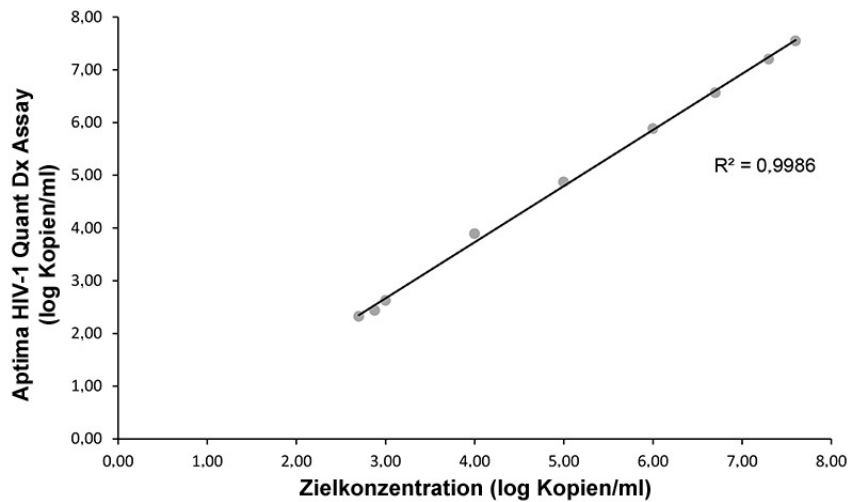


Abbildung 4. Linearität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei Trockenblutproben

Untere Quantifizierungsgrenze bei Verwendung des 3. internationalen HIV-1-WHO-Standards

Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ) entspricht der LoD von 873,88 Kopien/ml (95%-Konfidenzintervall: 653,98 – 1311 Kopien/ml) bzw. 2496,8 IU/ml (1868,5 – 3745,72 IU/ml). Die LLoQ wurde gemäß CLSI EP-17-A2 ermittelt und erfüllt die Anforderungen an die Reaktivität (>95 %) und den Gesamtfehler (≤ 1 log c/ml).

Präzision

Zur Ermittlung der Präzision des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurde ein Testpanel erstellt. Dazu wurden HIV-1-negative Vollblutproben mit kultiviertem HIV-1-Virus (Subtyp B) versetzt. Das Testpanel wurde von drei Anwendern mit drei Reagenzchargen auf drei Panther Systemen über einen Zeitraum von 20 Tagen getestet (siehe Tabelle 3). Das Testpanel umfasste eine HIV-1-negative und fünf HIV-1-positive Panelproben. Die Konzentrationen der klinischen Proben bzw. der kultivierten Virusstämme wurden durch Testen von Trockenproben mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ermittelt.

Tabelle 3: Präzision des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei Trockenblutproben

Anzahl der gültigen Replikate	Mittlere Konzentration (log Kopien/ml)	Vergleich Geräte		Vergleich Anwender		Vergleich Chargen		Vergleich Läufe		Vergleich innerhalb eines Laufs		Gesamt	
		SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
64	3,25	0,02	0,65	0,00	0,00	0,07	2,15	0,00	0,00	0,17	5,21	0,18	5,67
81	3,71	0,00	0,00	0,00	0,00	0,07	1,90	0,08	2,14	0,14	3,75	0,17	4,72
81	4,60	0,01	0,15	0,01	0,19	0,01	0,25	0,07	1,61	0,07	1,50	0,10	2,23
81	5,68	0,00	0,00	0,03	0,55	0,01	0,20	0,07	1,30	0,05	0,84	0,09	1,66
81	6,51	0,00	0,00	0,02	0,35	0,02	0,25	0,06	0,93	0,05	0,71	0,08	1,25

VK = Variationskoeffizient, SD = Standardabweichung

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall gilt SD = 0 und VK = 0 %. Es wurden insgesamt von jeder Panelprobe 81 Replikate gemessen. Bei der Ermittlung der Präzision wurden nur Replikate mit quantifizierbaren Ergebnissen berücksichtigt.

Mögliche Störsubstanzen

Die Anfälligkeit des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays für Interferenzen durch erhöhte Hämoglobin- und Human-DNA-Konzentrationen wurde untersucht. Dazu wurden aus Vollblut mit und ohne 4,7 log Kopien/ml HIV-1 Trockenblutproben hergestellt. In Gegenwart von 5 mg/ml Hämoglobin und 2 µg/ml genomischer Human-DNA wurde keine Beeinträchtigung der Testleistung beobachtet.

Außerdem wurde die Anfälligkeit des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays für Interferenzen bei Plasmaproben untersucht. In Gegenwart von exogenen und endogenen Substanzen wurde keine Beeinträchtigung der Testleistung beobachtet. Die vollständige Liste der bei Plasmaproben untersuchten, möglicherweise störenden Substanzen finden Sie auf der Packungsbeilage des *Aptima HIV-1 Quant Dx Assays* (AW-11853).

Spezifität

Die Spezifität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurde untersucht. Dazu wurden Trockenblutproben aus Blut von 500 HIV-1-negativen Blutspendern getestet. Die Spezifität des Assays für Trockenblutproben lag bei 99,2 % (95%-Konfidenzintervall: 98,0 % - 99,7 %).

Analytische Spezifität

Die mögliche Kreuzreaktivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays mit Pathogenen im Vollblut wurde untersucht. Dazu wurden Trockenblutproben aus Vollblut mit und ohne 4,7 log Kopien/ml HIV-1 hergestellt, dem 1e6 Zellen/ml jedes Organismus zugesetzt wurden. In Gegenwart von *Leishmania major*, *Trypanosoma gambiense*, *Babesia microti* Gray, *Plasmodium falciparum* und *Toxoplasma gondii* und in Gegenwart bzw. Abwesenheit von HIV-1 wurde keine Beeinträchtigung der Testleistung für Trockenblutproben beobachtet.

Außerdem wurde die Kreuzreaktivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei Plasmaproben untersucht. In Gegenwart von Pathogenen wurde keine Beeinträchtigung der Testleistung beobachtet. Die vollständige Liste der bei Plasmaproben untersuchten Pathogene finden Sie auf der Packungsbeilage des *Aptima HIV-1 Quant Dx Assays* (AW-11853).

Klinische Leistungsdaten

Diagnostische Übereinstimmung für die Frühdiagnose bei Säuglingen

Zur Ermittlung der diagnostischen Übereinstimmung wurden Trockenblutproben aus Fingerbeeren- oder Fersenblut hergestellt. Das Blut stammte von Säuglingen im Alter ≤ 18 Monaten mit HIV-1-positiven Müttern in Kenia, Afrika. Das Blut dieser Säuglinge wurde mit zwei Verfahren untersucht: Es wurden ein Einzeltest der Trockenblutprobe mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay und ein qualitativer HIV-1-Assay mit CE-Kennzeichen durchgeführt. Bei 1975 Proben lieferten beide Verfahren gültige Ergebnisse (siehe Tabelle 4). Im Falle des qualitativen Assays mit CE-Kennzeichen wurden alle reaktiven Proben erneut getestet. Nur wenn beide Tests das Ergebnis „reaktiv“ lieferten, wurde das Ergebnis insgesamt als „nachgewiesen“ eingestuft. Alle nicht-reaktiven Probenergebnisse wurden als „Ziel nicht nachgewiesen“ eingestuft. Die diagnostische Übereinstimmung der beiden Assays im Rahmen der Frühdiagnose bei Säuglingen lag bei 99,6 %.

Tabelle 4: Diagnostische Übereinstimmung zwischen dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay und einem Vergleichsassay

		Vergleichsassay mit CE-Kennzeichnung	
		Ziel nicht nachgewiesen	Nachgewiesen
Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	Ziel nicht nachgewiesen	1888	4
	Nachgewiesen	3	80

Methodenkorrelation

Zur Bewertung der Leistung des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei Trockenblutproben wurden die Ergebnisse von Trockenblutproben mit den Aptima Ergebnissen von Plasmaproben verglichen. An dieser Studie nahmen insgesamt 258 Patienten mit HIV-1-Infektion an fünf Standorten in Kenia, Afrika teil. Bei allen Patienten wurden Trockenblutproben aus Kapillarblut (Fingerbeere) und venösem Blut hergestellt. Außerdem wurde bei jedem Patienten eine Plasmaprobe entnommen. Alle Untersuchungen von Trockenblut- und Plasmaproben mit dem Aptima Assay wurden mit der gleichen Reagenzcharge durchgeführt. Bei den quantifizierbaren Ergebnissen aller Probentypen wurde eine lineare Ausgleichsrechnung mit der Methode der kleinsten Quadrate durchgeführt (siehe Abbildungen 5, 6 und 7).

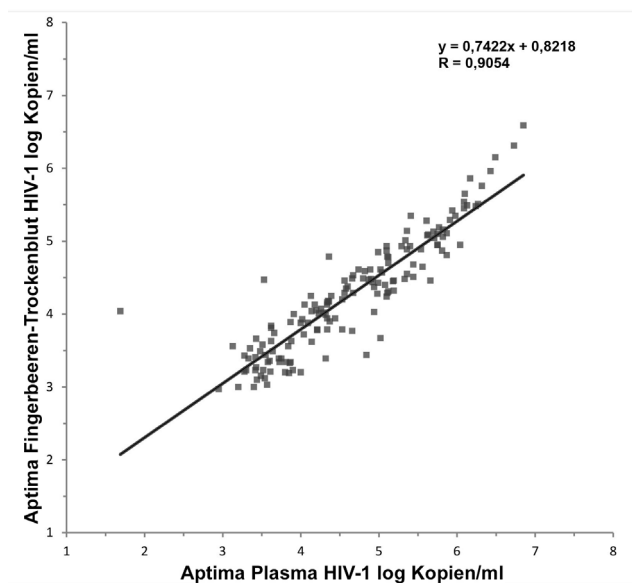


Abbildung 5. Korrelation zwischen Fingerbeeren-Trockenblut und Plasma

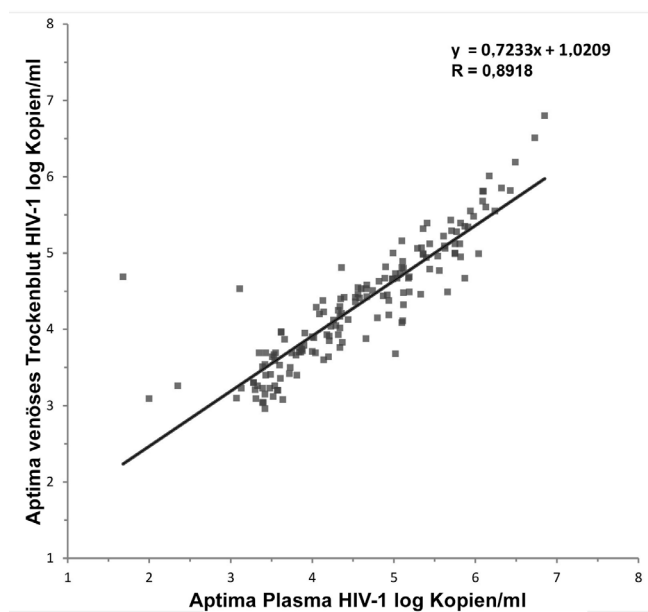


Abbildung 6. Korrelation zwischen venösem Trockenblut und Plasma

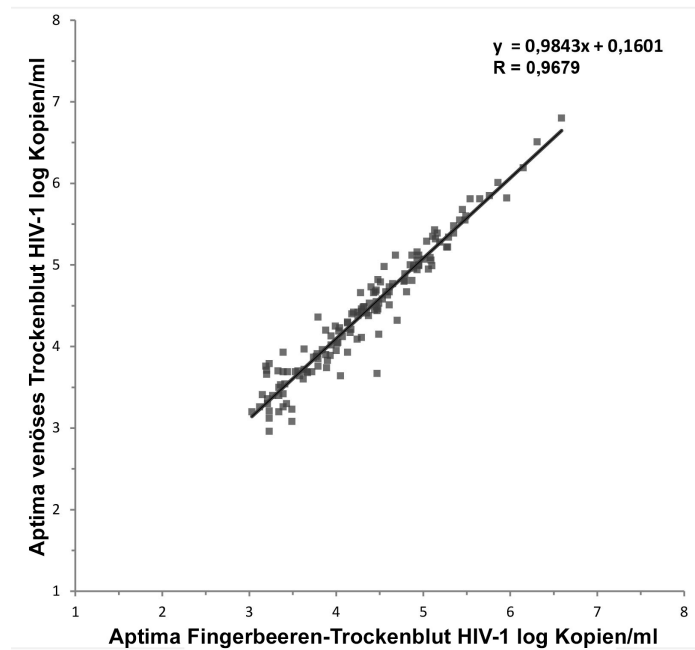


Abbildung 7. Korrelation zwischen Fingerbeeren-Trockenblut und venösem Trockenblut

Außerdem wurde die Übereinstimmung der Trockenblut- und Plasmaergebnisse mit Blick auf den Schwellenwert 1000 Kopien/ml ermittelt (Tabellen 5 und 6). Die Übereinstimmung der positiven Ergebnisse von Fingerbeeren-Trockenblut und Plasma lag bei 89 % und die Übereinstimmung der negativen Ergebnisse bei 97 %. Die Übereinstimmung der positiven Ergebnisse von venösem Trockenblut und Plasma lag bei 91 % und die Übereinstimmung der negativen Ergebnisse bei 96 %. Die Übereinstimmung der positiven HIV-1-Ergebnisse von Plasma und von Trockenblut (Fingerbeere und venöses Blut) lag insgesamt bei 92,2 % und die Übereinstimmung der negativen Ergebnisse bei 93 %.

Tabelle 5: Übereinstimmung zwischen Fingerbeeren-Trockenblutproben und Plasmaproben mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima Plasma	
		<1000	>1000
Aptima Fingerbeeren-Trockenblut	<1000	99	17
	>1000	3	139

Tabelle 6: Übereinstimmung zwischen venösen Trockenblutproben und Plasmaproben mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

		Aptima Plasma	
		<1000	>1000
Aptima Venöse Trockenblutproben	<1000	98	14
	>1000	4	142

Literatur

1. **World Health Organization, Access to HIV Diagnostics.** July 2014. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing: Interim Technical Update. Genf, Schweiz. <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. Genf, Schweiz. <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.
5. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; aktuell gültige Fassung.
6. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); aktuell gültige Fassung.
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2011. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP05-A3. Wayne, PA.
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.



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

Kundendienst: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com
Technischer Kundendienst: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Weitere Kontaktinformationen sind unter www.hologic.com zu finden.

Hologic, Aptima und Panther sowie assoziierte Logos sind Marken oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den Vereinigten Staaten und/oder anderen Ländern.

Armored RNA ist eine Marke der Asuragen, Inc.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erscheinen, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt kann unter einem oder mehreren US-Patent(en) geschützt sein, zu finden unter www.hologic.com/patents.

© 2018-2019 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.
AW-17780-801 Rev. 001
2019-01