

# Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Viral Load

**REF** GXHIV-VL-CE-10  
GXHIV-VL-IN-10



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Sweden

# Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Viral Load

---

*Určeno pouze pro diagnostiku In Vitro.*

## 1 Patentovaný název

Xpert<sup>®</sup> HIV-1 Viral Load

## 2 Obecný či běžný název

HIV-1 VL

## 3 Předpokládané použití

Test Xpert HIV-1 VL je *in vitro* reverzní transkriptázová polymerázová řetězová reakce (RT-PCR) určený k detekci RNA viru lidské imunitní typu 1 (HIV-1) RNA v lidské plasmě získané od pacientů infikovaných HIV-1, využívající automatizovaný přístrojový systém GeneXpert. Tento test je schopen kvantifikovat HIV-1 RNA v rozmezí od 40 do 10,000,000 kopií/ml. Test Xpert HIV-1 VL je validován pro kvantifikaci RNA z HIV-1 skupiny M (subtypy A, B, C, D, F, G, H, J, K, CRF01\_AE, CRF02\_AG a CRF03\_AB), skupiny N a skupiny O.

Test Xpert HIV-1 VL je určen k použití ve spojení s klinickým testováním a dalšími laboratorními markery pro prognózu onemocnění a jako pomůcka při hodnocení virové odezvy po léčbě antiretrovirotiky měřenou změnami HIV-1 RNA v plazmě. Test je určen pro použití laboratorními odborníky nebo specificky vyškolenými zdravotními pracovníky.

Test HIV-1 VL není určen k použití jako screeningový test dárců krve a pro diagnostické testování k potvrzení přítomnosti HIV-1 infekce.

## 4 Shrnutí a vysvětlení

Virus lidské imunitní nedostatečnosti (HIV) je infekční etiologií Syndromu získaného selhání imunity (AIDS). 1,2,3 K přenosu může dojít pohlavním stykem, kontaktem s infikovanou krví nebo krevními produkty, prenatální infekcí plodu nebo postnatální infekcí novorozence.<sup>4,5,6</sup>

Neléčená infekce virem HIV-1 je charakterizován vysokou tvorbou viru a destrukcí CD4 T-buněk a v závislosti na často dlouhé klinické latenci vede k významné ztrátě CD4-T buněk a AIDS.<sup>7,8,9</sup>

V posledních dvaceti letech došlo k významnému rozvoji diagnostiky HIV a je dále důležitá pro řízení léčby a péče o pacienty infikovanými HIV. Měření koncentrace HIV-1 RNA v krevní plasmě nebo testů molekulární diagnostik založených na analýza virových nukleárních kyselin byly zvoleny jako standartní postupy pro stanovení HIV u pacientů a posouzení odezvy na antiretrovirovou terapii. Posouzení hladin virové nákazy je silným prediktorem pro posouzení rychlosti progresu onemocnění a samo os sobě nebo v kombinaci s počtem CD4 T-buněk má velkou prognostickou hodnotu.<sup>10,11,12,13,14,15</sup>

K dosažení vysoké citlivosti kvantitativní detekce HIV-1 RNA v lidské plasmě u pacientů infikovaných HIV, využívá test HIV-1 VL využívá technologii reverzní transkriptázové polymerázové řetězové reakce (RT-PCR).

## 5 Podstata testu

Automatický systém GeneXpert (GX) integruje přípravu vzorků, extrakci a amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílové sekvence v jednoduchých nebo komplexních vzorcích pomocí reverzní transkripční polymerázové řetězové reakce (RT-PCR). Tento systém sestává z přístroje, osobního počítače a instalovaného software, což umožňuje provedení testu shromážděných vzorků a odečíst výsledky. Systém vyžaduje použití jednorázových kazet GeneXpert, které obsahují činidla pro RT-PCR a v nichž PCR probíhá. Jelikož jsou kazety samostatné a uzavřené, nehrozí nebezpečí vzájemné kontaminace vzorků. Úplný popis systému je uveden v manuálu systému GeneXpert Dx (GeneXpert Dx System Operator Manual) nebo v GeneXpert Infinity System (GeneXpert Infinity System Operator Manual).

Test HIV-1 VL obsahuje činidla pro detekci HIV-1 RNA ve vzorcích a dvě interní kontroly pro kvantifikaci HIV-1 RNA. Interní kontroly dále zajišťují správné zpracování a sleduje přítomnost inhibitorů RT a PCR reakce. Kontrolní sondy (PCC) ověřuje rehydrataci činidel, náplň PCR zkumavky v kazetě, neporušenost sondy a stabilitu barviva.

---

---

## 6 Činidla a přístroje

### 6.1 Dodávaný materiál



Sada testu HIV-1 VL obsahuje dostatek činidel k analýze 10 vzorků nebo kontrol kvality. Sada obsahuje následující činidla:

<b>Kazety testu HIV-1 VL s integrovanými reakčními zkumavkami</b>	<b>10</b>
• Bead 1, Bead 2, and Bead 3 (lyofilizované)	1 v kazetě
• Lyzační činidlo	2.0 ml v kazetě
• Oplachové činidlo	0.5 ml v kazetě
• Eluční činidlo	1.5 ml v kazetě
• Vazebné činidlo	2.4 ml v kazetě
• Činidlo proteinkinázy K	0.48 ml v kazetě
<b>Jednorázové 1 ml pipety</b>	<b>10ks na sadu</b>
<b>CD</b>	<b>1ks na sadu</b>
• Soubor definující test (Assay Definition File (ADF))	
• Instrukce pro vložení ADF do GeneXpert softwaru	
• Příbalová informace	

#### Poznámky:

- Bezpečnostní listy (SdS) jsou k dispozici na [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) v záložce **SUPPORT**.
- Bovinní sérový albumin (BSA) použitý v tomto výrobku je vyrobený výhradně z bovinní plazmy pocházející z USA. Zpracování BSA rovněž probíhá v USA. Zvířata nebyla krmena žádným proteinem od přežvýkavců ani jiným zvířecím proteinem; před i po úmrtí prošla zvířata testováním. Během zpracování nedošlo ke směšování materiálu s jinými zvířecími materiály.

## 7 Skladování a manipulace



- Kazety a činidla v sadě HIV-1 VL skladujte při 2–28 °C. Před použitím nechte vytemperovat na pokojovou teplotu.
- Víko kazety otvírejte až před provedením testu.
- Kazetu použijte nejpozději do 4 hodin od otevření víka.
- Nepoužívejte kazetu, která je porušená a teče.

## 8 Dostupný materiál, který není součástí balení

- Systém GeneXpert Dx nebo systém GeneXpert Infinity (katalogové číslo se liší v závislosti na konfiguraci): GeneXpert Instrument, počítač se softwarem GeneXpert Dx verze 4.6a nebo vyšší (systémy GeneXpert Dx), Xpertise 4.6 nebo vyšší (Infinity-48) nebo Xpertise 6.2 nebo vyšší (Infinity-80/Infinity-48s) čtečka čárových kódů a návod k obsluze.
- Tiskárna: Pokud potřebujete tiskárnu, obraťte se na technickou podporu společnosti Cepheid, která zajistí nákup doporučené tiskárny.
- Bělidlo
- Etanol nebo denaturovaný alkohol

---

## 9 Upozornění a bezpečnostní opatření



- Se všemi biologickými vzorky i s použitými kazetami zacházejte jako s potenciálními nosiči infekčních částic. Jelikož je často nemožné zjistit, který by mohl být infekční, se všemi biologickými vzorky by mělo být manipulováno za použití všeobecných bezpečnostních opatření. Návod pro manipulaci se vzorky je k dispozici v amerických centrech pro kontrolu a prevenci chorob (U.S. Centers for Disease Control and Prevention)<sup>8</sup> a v Institutu klinických a laboratorních standardů (Clinical and Laboratory Standards Institute).<sup>17</sup>
- Dodržujte bezpečnostní opatření pro práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky platnými na vašem pracovišti.
- Obratě se na pracovníky odboru nakládání s odpady, kteří vám poskytnou informace, jak správně zlikvidovat prázdné kazety a nepoužitá činidla. Tyto materiály mohou vykazovat charakteristiky nebezpečného odpadu a vyžadují zvláštní požadavky na likvidaci podle US EPA. Zkontrolujte státní a místní předpisy, jelikož se mohou od federálních předpisů na likvidaci lišit. Instituce by měly zkontrolovat požadavky ne likvidaci nebezpečných odpadů.
- Nenahrazujte činidla v testu HIV-1 VL jinými činidly.
- Neotvírejte víko testovací kazety HIV-1 VL, dokud nebudete připraveni přidat vzorek plasmu.
- Nepoužívejte kazetu, která po vyjmutí z obalu vypadla.
- Netřepajte kazetou. Třepáním nebo upadnutím kazety pro otevření kazety může dojít k ovlivnění výsledku.
- Neumísťujte identifikační číslo vzorku na víko kazety nebo na čárový kód.
- ② • Každá kazeta testu HIV-1 VL je k jednorázovému použití a je určena k provedení jednoho testu. Upotřebenou kazetu znovu nepoužívejte.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.
- ② • Jednorázová pipeta slouží k přenosu jednoho vzorku. Nepoužívejte si opakovaně.
- Používejte čisté laboratorní pláště a rukavice. Měňte rukavice po každé manipulaci se vzorky.
- V případě kontaminace pracovní plochy nebo zařízení vzorky nebo kontrolami, kontaminovanou oblast důkladně vyčistěte roztokem zředěného chlorového bělidla v poměru 1:10 a poté 70% etanolem. Před pokračováním v testování, pracovní plochu do sucha utřete.
- Biologické vzorky, přenosová zařízení a použité kazety, by měly být považované za schopné přenášet infekční agens a mělo by být přikročeno ke standardním opatřením. Při likvidaci použitých kazet a nepoužitých reagentů dodržujte předpisy vaší instituce týkající se odpadů. Tyto materiály mohou vykazovat vlastnosti chemicky nebezpečného odpadu vyžadujícího zvláštní likvidaci. Pokud místní nebo regionální předpisy nestanoví jasná pravidla pro správnou likvidaci, biologické vzorky a použité kazety by měly být likvidovány podle pokynů WHO (Světová zdravotnická organizace) pro nakládání a likvidaci lékařského odpadu.

## 10 Chemická rizika

- Signální slovo: WARNING
- **UN GHS Hazardní prohlášení**
  - Může být škodlivý při požití
  - Způsobuje podráždění pokožky
  - Dráždí oči.
- **UN GHS Bezpečnostní prohlášení**
  - Prevence
    - Po manipulaci důkladně umyjte ruce
  - Poradna
    - Pokud se necítíte dobře, zavolejte TOXIKOLOGICKÉ STŘEDISKO nebo lékaře.
    - Pokud dojde k podráždění kůže: vyhledejte lékařskou pomoc.
    - V PŘÍPADĚ OČÍ: několik minut opatrně vyplachujte vodou. Pokud to lze, vyjměte kontaktní čočky. Pokračujte ve vyplachování.
    - Pokud podráždění očí přetrvává: vyhledejte lékařskou pomoc.

## 11 Odběr, transport a skladování vzorků

Celá krev může být odebírána do zkumavek BD Vacutainer® PPT Plasma Preparation Tubes pro molekulární diagnostické zkušební metody nebo do sterilních odběrových zkumavek s použitím EDTA nebo ACD jako antikoagulantů. Pro oddělení plasmy a červených krvinek, by měla být celá krev centrifugována podle pokynů výrobce.

- Pro provedení testu HIV-1 VL je požadováno minimálně 1 ml plasmy. Při použití jednorázové pipety ze sady, je potřeba minimálně 1,2 ml plasmy (viz. Pokyny v kapitole 12.2) alternativně může být pro použití přesné pipety požadováno použití 1 ml plasmy.
- Plná krev odebraná do zkumavek BD Vacutainer PPT Plasma Preparation Tubes nebo do sterilních zkumavek s použitím buď EDTA nebo ACD jako antikoagulačních činidel, může být uchováván při 15-30 °C po dobu až 8 hodin, 15-25°C po dobu až 24 hodin nebo při 2-8°C po dobu až 72 hodin před přípravou plasmy. Centrifugace by měla být provedena podle pokynů výrobce.
- Plasma připravovaná z plné krve může být až do testování uchovávána při teplotě 15-30 °C po dobu až 24 hodin, při 2-8°C až 6 dnů nebo zamrazená ( $\leq -18$  °C and  $\leq -70$  °C) až před 6 týdnů. Plasma by měla být pro skladování odstraněna z odběrové zkumavky.
- Vzorky plasmy jsou stabilní až pro tři cykly zmrazení/rozmrazení.



## 12 Postup

### 12.1 Příprava vzorku

1. Po centrifugaci vzorků plné krve lze do testovací kazety pipetovat 1 ml plasmy. Dostatečný objem je rozhodující pro získání platných výsledků testu (viz. pokyny v kapitole 12.2).
2. Vzorky zamrazené plasmy před testováním úplně rozmrazte a vytemperujte na pokojovou teplotu (20-35 °C)
3. Vzorky plasmy skladované při 2-8 °C před testováním vyjměte z chladničky a vytemperujte na pokojovou teplotu (20-35 °C).
4. Vzorky plasmy uchovávané při 2-8 °C nebo opakovaně zmrazené a rozmrazované před použitím 15 minut vortexujte. Pokud je vzorek zakalený, vyčistěte ho pomocí rychlé (10s) centrifugace.



### 12.2 Příprava kazety

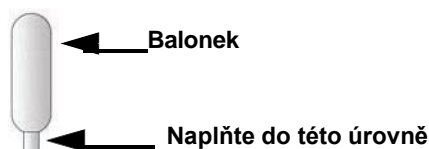
**Důležité: S testováním začněte nejpozději do 4 hodin od přidání vzorku do kazety.**

**Poznámky:** Pipetování méně než 1 ml plasmy do kazety způsobí chybu nedostatečnosti objemu (ERROR 2097) a dojde k zablokování přístroje (viz pokyny v kapitole 12.2). Před pipetováním plasmy do kazety, nechce činidla testu a kazetu vytemperovat na pokojovou teplotu.

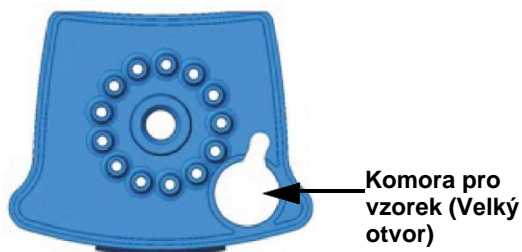
1. Používejte jednorázové ochranné rukavice.
2. Zkontrolujte, zda nedošlo k poškození kazety. V případě poškození ji nepoužívejte.
3. Otevřete víko kazety.

**Poznámka:** Vnitřní kroužek 13 portů testovací kazety kryje tenká plastová folie. Neodstraňujte ji.

- **Možnost 1:** používejte jednorázovou pipetu dodávanou v sadě (Obr. 1) pro přenos 1 ml plasmy ze sběrné zkumavky do kazety (Obr. 2.) ji naplňte ji těsně pod balonek. Nikdy vzorek do komory nepřelévajte.
- **Možnost 2:** Pokud používáte automatikou pipetu, přeneste do komory kazety nejméně 1 ml plasmy (Obr. 2.). Nikdy vzorek do komory nepřelévajte.



Obr. 1. Jednorázová pipeta pro test HIV-1 VL



Obr. 2. Kazeta testu HIV-1 VL (Pohled shora)

4. Zavřete víko kazety.
5. Vložte kazetu do přístroje GeneXpert Dx Infinity.

### 12.3 Zahájení testu

**Důležité:** Před zahájením testu se ujistěte, že soubor nastavení (definition file) analýzy HIV-1 VL byl nahrán do softwaru počítače.

V této části jsou uvedeny základní kroky pro provedení testu. Podrobné pokyny nalezete v příručkách GeneXpert Dx System Operator Manual nebo v GeneXpert Infinity System Operator Manual, v závislosti na použitém modelu.

1. Zapněte systém GeneXpert:
  - Pokud používáte přístroj GeneExpert Dx, nejprve zapněte přístroj a poté počítač. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může vyžadovat spuštění zástupce softwaru GeneXpert Dx na pracovní ploše systému Windows®nebo
  - Pokud používáte přístroj GeneXpert Infinity, zapněte přístroj. Software GeneXpert se spustí automaticky nebo může vyžadovat spuštění zástupce softwaru Xpertise na pracovní ploše systému Windows®.
2. Přihlaste se do softwaru přístroje GeneXpert pomocí vašeho přihlašovacího jména a hesla.
3. V okně systému GeneXpert klikněte na **Create Test** (GeneXpert Dx) nebo **Orders** a **Order test**. Po kliknutí na **Create test** se otevře dialogové okno (Infinity).
4. Naskenujte pacientovo identifikační číslo (ID) (volitelné). Pokud zadáte pacientovo ID, ujistěte se, že je zadáno správně. ID pacienta bude přiřazeno k výsledkům testů a zobrazí se v okně **View Results**.
5. Naskenujte nebo zadejte ID vzorku. Pokud zadáte ID vzorku, ujistěte se, že je zadáno správně. ID vzorku bude přiřazeno k výsledkům testů a zobrazí se v okně View Results.
6. Naskenujte čárový kód na kazetě testu HIV-1 VL. Pomocí informací z čárového kódu vyplní software automaticky následující údaje: Select Assay, Reagent Lot ID, Cartridge SN a Expiration Date.

7. Klikněte na Start Test (GeneXpert Dx) nebo Submit (Infinity). V dialogovém okně, které se objeví, napište vaše heslo.
8. Pro systém GeneXpert Infinity umístěte kazetu do modulu. Kazeta bude automaticky načtena a po dokončení testu jej zlikvidujte do příslušných odpadních nádob pro vzorky v souladu s platnými nařízeními vašeho zařízení.

nebo

Pro systém GeneExpert Dx:

- A. Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a vložte kazetu.
- B. Zavřete dvířka. Test se spustí a zelená kontrolka přestane blikat. Po ukončení testu se kontrolka vypne.
- C. Před otevřením dvířek modulu počkejte, dokud systém neuvolní zámek dvířek a poté vyjměte kazetu.
- D. Použitou kazetu zlikvidujte do příslušných odpadních nádob pro vzorky v souladu s platnými nařízeními vašeho zařízení.

### 13 Zobrazení a tisk výsledků

V této části jsou uvedeny základní kroky pro zobrazení a tisk výsledků. Podrobnější pokyny pro zobrazení a tisk výsledků naleznete v příručce *GeneXpert Dx System Operator Manual* nebo *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Kliknutím na ikonu **View Results** zobrazíte výsledky.
2. Po dokončení testu klikněte pro zobrazení a/nebo generování výsledků do PDF na tlačítko **Report** v okně View Results.

### 14 Kontrola kvality

#### CONTROL

Každý test zahrnuje a kontrolu dostatečnosti objemu (SVA), Interní kvantitativní standarty: vysoké a nízké (IQS-H a IQS-L, které jsou zároveň kontrolou zpracování vzorku a kontrolu sondy (PCC).

- **Kontrola dostatečnosti objemu (SVA):** Kontroluje správné přidání vzorku do kazety. SVA ověřuje, že je v komoře přidán správný objem vzorku. Pokud je SVA v pořádku, splňuje platná kritéria přijatelnosti. Pokud je SVA neplatná, objeví se chybová správa ERROR 2096, v případě přidání nedostatku vzorku se objeví zpráva ERROR 2097. Systém zablokuje pokračování testu.
- **Interní kvantitativní kontroly vysoké a nízké (IQS-H a IQS-L):** IQS-H a IQS-L jsou dvě Armored RNAs<sup>®</sup> nesouvisející s HIV ve formě suchých kuliček, které prochází celým procesem GX. Jedná se o standarty kalibrované podle 3 mezinárodní normy. Používají se pro výpočet koncentrace HIV-1 RNA ve vzorku. Dále IQS-H a IQS-L detekují inhibici real-time PCR spojenou s daným vzorkem.
- **Kontrola sondy (PCC):** před zahájením PCR reakce, měří systém GeneXpert fluorescenční signál sond za účelem ověření rehydratace reagensů, naplnění reakčních zkumavek v kazetě, k ověření integrity sondy a stability barviva. Kontrola sondy je platná, pokud splňuje předepsaná kritéria.
- **Externí kontroly:** Externí kontroly by měly být použity v souladu místních, státních a federálních akreditačních organizací.

### 15 Interpretace výsledků

Na základě naměřených fluorescenčních signálů a vložených matematických vzorců vyhodnocuje systém GeneXpert Dx výsledky, které se zobrazí v okně View Results. (Viz. Obr. 3. a Obr. 4.). Možné výsledky jsou zobrazeny v Tab. 1.

**Tab. 1. Interpretace výsledků testu HIV-1 VL**

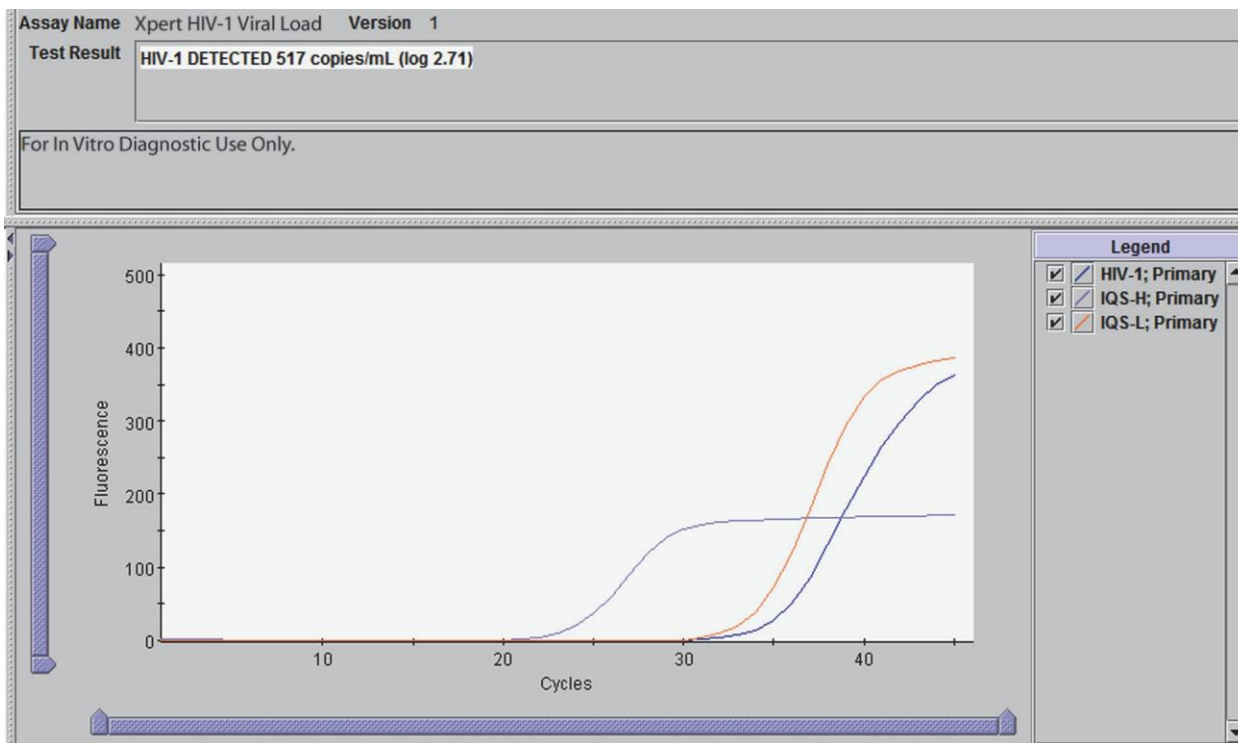
Výsledek	Interpretace
HIV-1 DETEKOVÁN (DETECTED) XX kopii/ml Viz. Obr. 3.	HIV-1 RNA je detekován u XX kopii/ml. <ul style="list-style-type: none"> <li>• HIV-1 RNA má kvantitativní hodnotu v analytickém rozsahu měření.</li> <li>• IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> </ul> Kontrola sondy: PLATÍ; všechny kontroly sond platí.
HIV-1 DETEKOVÁN (DETECTED) > 1 × 10 <sup>7</sup> kopii/ml	HIV-1 RNA je detekována nad analytickým rozsahem měření. <ul style="list-style-type: none"> <li>• IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>• Kontrola sondy: PLATÍ; všechny kontroly sond platí.</li> </ul>



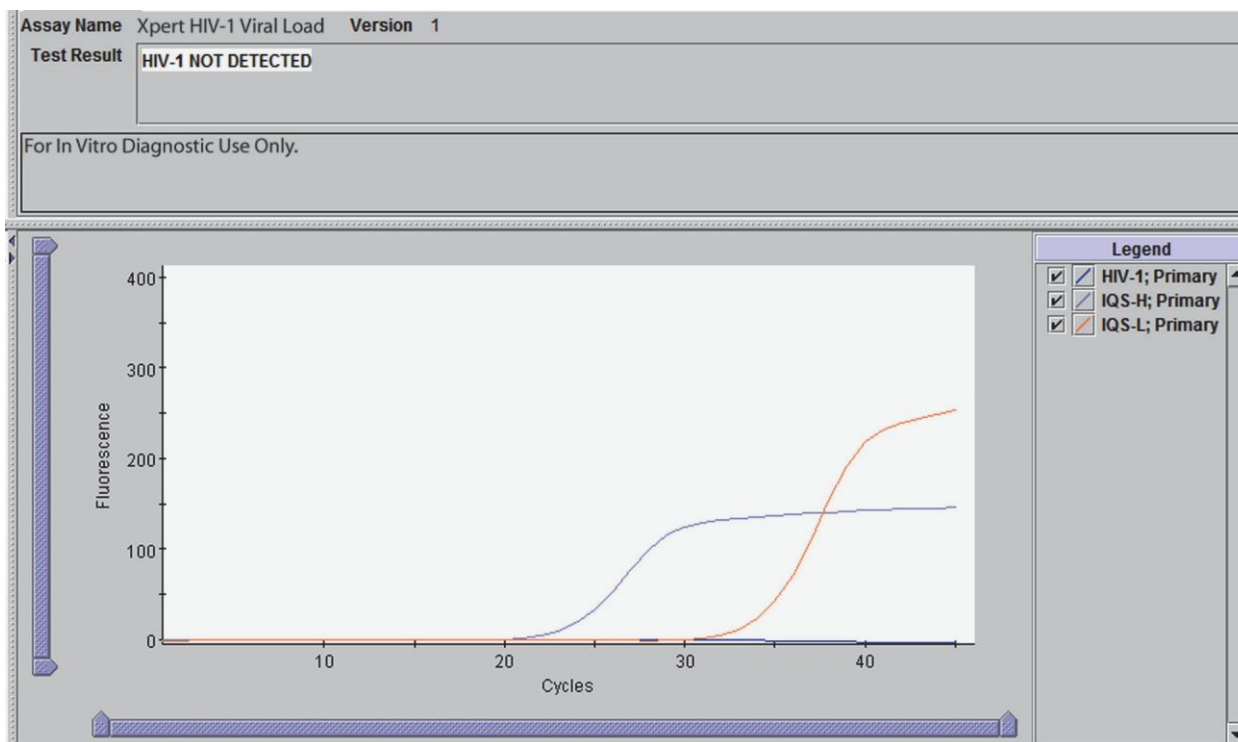
**Tab. 1. HIV-1 VL Interpretace výsledků testu HIV-1 VL (pokračování)**

Výsledek	Interpretace
<b>HIV-1 DETEKOVÁN (DETECTED)</b> < 40 kopií/ml	HIV-1 RNA je detekována pod analytickým rozsahem měření. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>Kontrola sondy: PLATÍ; všechny kontroly sond platí.</li> </ul>
<b>HIV-1 NENÍ DETEKOVÁN (NOT DETECTED)</b> Viz. Obr. 4.	HIV-1 RNA nebyly detekovány. Tento výsledek není průkazný. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H a IQS-L: PLATÍ.</li> <li>Kontrola sondy: PLATÍ; všechny kontroly sond platí.</li> </ul>
<b>NEPLATNÝ (INVALID)</b>	Přítomnost nebo absence cílových nukleových kyselin HIV-1 nelze stanovit. Zopakujte test podle pokynů v části 15.2. <ul style="list-style-type: none"> <li>IQS-H a/nebo IQS-L: NEPLATÍ; Cycle thresholds (Ct) není v platném rozsahu.</li> <li>Kontrola sondy: PLATÍ; všechny kontroly sond platí.</li> </ul>
<b>CHYBA (ERROR)</b>	Přítomnost nebo absence HIV-1 RNA nelze stanovit. Zopakujte test podle pokynů v části 16.2. Kontrola sondy: NEPLATÍ; jedna nebo všechny kontroly sond neplatí.
<b>BEZ VÝSLEDKU (NO RESULT)</b>	Přítomnost nebo absence HIV-1 RNA nelze stanovit. Zopakujte test podle pokynů v části 16.2. <b>BEZ VÝSLEDKU</b> indikuje shromáždění nedostatečných údajů. Například v případě, kdy operátor zastavil probíhající test.

**Poznámka:** výsledky je možné v softwaru převést z kopií/ml na IU/ml. Pro změnu nastavení prostudujte manuál systému GeneXpert Dx nebo GeneXpert Infinity. Konverzní faktor pro test HIV-1 VL je 1 kopie%1,72 Mezinárodní jednotky IU.



**Obr. 3. HIV-1 DETEKOVÁN**



Obr. 4. HIV-1 NEDETEKOVÁN

## 16 Opakování testu

### 16.1 Důvody pro opakování testu

Pokud dojde k některému z níže uvedených výsledků, opakujte test podle pokynů v části 16.2.

- Výsledek NEPLATNÝ (INVALID) svědčí pro chybu kontroly SPC. Vzorek nebyl správně zpracován nebo došlo k inhibici PCR reakce.
- Výsledek CHYBA (ERROR) svědčí pro přerušení testu pravděpodobně kvůli nesprávnému naplnění reakční zkumavky, protože byl detekován problém s integritou sondy nebo byly překročeny maximální zátěžové limity.
- Výsledek BEZ VÝSLEDKU (NO RESULT) znamená, že shromážděná data nebyla dostatečná. Např. byl probíhající test přerušen obsluhujícím pracovníkem.

### 16.2 Postup opakování testu

Pro opakování testu v případě výsledků **BEZ VÝSLEDKU**, **NEPLATNÝ**, **CHYBA**, použijte novou kazetu a nová činidla.

1. Vyjměte ze sady novou kazetu.
2. Viz. Kapitola Postup, včetně kapitol 12.2, Příprava kazety a kapitoly 12.3, Začátek testování.
3. Vzorek vykazující dvakrát **NEPLATNÉ** výsledky, pravděpodobně obsahuje inhibitor a opakování testu není doporučeno.

## 17 Omezení

- Pro zamezení kontaminace činidel doporučujeme dodržovat pravidla správné laboratorní praxe a výměnu rukavic mezi vzorky.
- Vzácné mutace v cílové oblasti testu HIV-1 VL mohou ovlivnit vazbu primeru a/nebo sond, což vede k nedostačující kvantifikaci viru.
- Test HIV-1 VL byl validován pouze pro použití s EDTA a ACD plasmou. Testování jiných typů vzorků pomocí tohoto testu může vést k nepřesným výsledkům.
- Negativní výsledek testu nevylučuje infekci HIV-1. Tento test by proto neměl být používán jako diagnostický test k potvrzení přítomnosti infekce HIV-1.

## 18 Analytická citlivost

### 18.1 Limit detekce

Limit detekce (LOD) testu HIV-1 VL byl stanoven testováním pěti různých ředění připravených ze dvou různých HIV-1 podtypů B referenčních standardů, jedné buněčné kultury a dvou klinických vzorků zředěných v HIV-1 negativní EDTA plasmě. Materiál HIV-1 subtypu B použité v LOD studii zahrnovaly referenční materiál Viral Quality Assurance Laboratory (VQA) z AIDS Clinical Trials Skupina, WHO 3. HIV-1 Mezinárodní standart (NIBSC kód: 10/152), izolát buněčné kultury BK132 a dva klinické vzorky. Stanovení nominální koncentrace zásobního materiálu buněčné kultury a klinických vzorků se provádí metodou Abbott RealTime HIV-1 test. Limit detekce byl stanoven u třech sad a celkem bylo provedeno 72 opakování. Koncentrace HIV-1 RNA, která může být detekována s mírou pozitivivity vyšší než 95% byla stanovena pomocí regresivní probit analýzy. Výsledky pro jednotlivé dávky a vzorky jsou uvedeny v Maximální/nejvyšší pozorována LOD s WHO referenčním standardem pro HIV-1 subtyp B v EDTA plasmě byla 21.1 kopii/ml (95% CI 16.1-26.0 Maximální/nejvyšší pozorována LOD s VQA referenčním standardem pro HIV-1 subtyp B v EDTA plasmě byla 16.3 kopii/ml (95% CI 13.0-19.5).

**Tab 2. Odhady LOD pro HIV-1 VL Assay LOD s regresí probitu a 95% interval hodni a dolni spolehlivosti pro vzorky HIV-1 podtypu B v plazmě s EDTA**

Vzorek	Lot	LOD (kopie/mL)	95% CI
WHO	Lot 1	21.1	16.1–26.0
	Lot 2	14.3	11.2–17.5
	Lot 3	19.0	14.3–23.7
VQA	Lot 1	15.5	12.5–18.6
	Lot 2	14.0	11.2–16.7
	Lot 3	16.3	13.0–19.5
Klinický vzorek 1	Lot 1	24.0	18.1–29.9
	Lot 2	25.5	19.5–31.5
	Lot 3	23.1	17.5–28.7
Klinický vzorek 2	Lot 1	20.3	15.8–24.7
	Lot 2	15.4	12.0–18.7
	Lot 3	28.5	21.3–35.7
Vzorek buněčné kultury	Lot 1	18.8	14.6–23.1
	Lot 2	20.0	15.6–24.4
	Lot 3	32.0	24.7–39.3

LOD pro referenční materiál VQA byl také potvrzen v plazmě ACD s použitím jedné šarže činidla. Odhad LOD pro vzorek HIV- VQA podtyp B v plazmě ACD byl 15,5 kopii/ml (95% NaCL 12,1-18,5).

LOD pro HIV-1 podtyp B v EDTA plazmě byl hodnocen pomocí dvou různých sad standardů a tří šarží soupravy Xpert HIV-1 testu pomocí Probitové analýzy:

- LOD s WHO 3. Mezinárodním standardem: 18.3 kopii/mL (95% CI 15.9-20.8)
- LOD s VQA referenčním materiálem: 15.3 kopii/mL (95% CI 13.5-17.0)

Analýza rychlosti ukazuje míru positivity >95% ve 40 kopiích/mL pro všechny materiály podtypu B HIV-1 testované podle Tab. 3. LOD pro test HIV-1 VL se stavilo jako 40 kopií /mL pro HIV-1 podtyp B v EDTA a ACD plazmě.

**Tab. 3. Stanovení LOD pro HIV-1 VL LOD pro HIV-1 podtyp B vzorky v EDTA plazmě**

Vzorek	Nominální koncentrace (kopie/mL)	Počet replikátů	Počet pozitivních	Míra positivity (%)
<b>WHO</b>	1	72	10	14
	2.5	72	18	25
	5	72	40	56
	10	72	55	76
	20	72	65	90
	40	72	72	100
<b>VQA</b>	1	72	5	7
	2.5	72	20	28
	5	72	30	42
	7.5	72	50	69
	10	72	61	85
	20	72	67	93
	40	72	72	100
<b>Klinický vzorek 1</b>	1	72	11	15
	2.5	72	20	28
	5	72	38	53
	10	72	49	68
	20	72	69	96
	40	72	69	96
<b>Klinický vzorek 2</b>	1	72	8	11
	2.5	72	17	24
	5	71	27	38
	10	72	47	65
	20	72	62	86
	40	72	72	100
<b>Vzorek buněčné kultury</b>	1	72	4	6
	2.5	72	17	24
	5	72	30	42
	10	72	46	64
	20	72	64	89
	40	72	70	97

Kromě ředění zásob buněčných kultur nebo klinických vzorků představující podtypy A, CD, FH, J, K, CRF-A/B, CRF-A/E, CRF-A/G, skupiny O, skupiny HIV- 1 a skupiny N v negativní lidské plazmě EDTA byly vzorky analyzovány s jednou šarží soupravy Xpert HIV-1 VL a 24 replikacemi na koncentrační hladinu. Přiřazení nominální koncentrace zásob buněčných kultur a klinických vzorků bylo stanoveno pomocí testu Abbott RealTime HIV-1. Analýza rychlosti ukazuje pozitivitu > 95% pro všechny podtypy a skupiny při 40 kopiích/ml, jak je uvedeno v Tab. 4.

**Tab. 4. LOD pro HIV-1 VL test LOD Analýza rychlosti pro HIV-1 non- B podtypu v plazmě s EDTA**

Skupina	Subtyp	Nejnižší úroveň koncentrace >95% úspěšnost	Rychlost (%)
Skupina M	A	20	96
Skupina M	C	40	100
Skupina M	D	20	100
Skupina M	F	40	100
Skupina M	G	40	96
Skupina M	H	20	96
Skupina M	J	20	100
Skupina M	K	40	96
Skupina M	CRF A/B	20	100
Skupina M	CRF A/E	20	96
Skupina M	CRF A/G	40	96
Skupina N	N/A	10	100
Skupina O <sup>a</sup>	N/A	20	100
Skupina O <sup>a</sup>	N/A	20	100
Skupina O <sup>a</sup>	N/A	10	100

a. Tři rozdílné izolace

## 18.2 Limit kvantifikace

Limit kvantifikace (LOQ) je definován jako nejnižší koncentrace HIV-1 RNA, která je kvantifikována s přijatelnou přesností a pravdivostí a je stanovena pomocí celkové analytické chyby (TAE). TAE byla vypočtena za použití odhadů analýzou dat ze studie LOD (standard\ WHO a VQA) a studie přesnosti/reprodukovatelnosti podle směrnice CLSI E17-A2.<sup>19</sup>

TAE pro ředění, která měla pozorovanou koncentraci na detekčním limitu nebo blízko detekčního limitu, 40 kopií/ml ( $1.60 \log_{10}$ ) jsou uvedena v Tab. 5. TAE byla stanovena dvěma různými metodami. Výsledky analýzy TAE ukazují, že Test HIV-1 VL je schopen stanovit 40 kopií/mL ( $1.60 \log_{10}$ ) s přijatelnou pravdivostí a přesností, tj. LOQ testu HIV-1 VL je 40 kopií/mL.

**Tab. 5. Celková analytická chyba testu HIV-1 VL (TAE) odhadu Log kopií/mL**

Vzorek (studie)	DL Lot	N	Koncentrace (log kopií/mL)		Zkreslení	Total SD	TAE <sup>a</sup> Absolutní zkreslení + (2xSD)	TAE <sup>b</sup> SQRT (2) x (2xSD)
			Očekávané	Pozorované				
Referenční materiál (přesnost)	DL6	72	2.00	1.96	0.04	0	0.43	0.55
	DL7	71	2.00	1.91	0.09	0	0.46	0.53
	DL8	72	2.00	1.92	0.08	0	0.51	0.60
Referenční materiál (přesnost)	DL6	70	1.60	1.56	0.04	0	0.48	0.62
	DL7	71	1.60	1.53	0.08	0	0.64	0.80
	DL8	71	1.60	1.54	0.06	0	0.50	0.62
WHO (LOD)	DL6	24	1.60	1.53	0.07	0	0.52	0.65
	DL7	24	1.60	1.39	0.21	0	0.68	0.67
	DL8	24	1.60	1.49	0.11	0	0.48	0.52
VQA (LOD)	DL6	24	1.60	1.61	0.00	0	0.37	0.51
	DL7	24	1.60	1.54	0.06	0	0.58	0.74
	DL8	24	1.60	1.58	0.02	0	0.54	0.73

- a. TAE vypočteno podle Westgardova modelu v CLSI EP17-A2 (Sekce 6.2).  
b. TAE na základě rozdílu mezi dvěma měřeními.

Výsledky analýzy TAE ukazují, že test HIV-1 VL je schopen s přijatelnou pravdivostí a přesností stanovit 40 kopií/mL ( $1.60 \log_{10}$ )

### 18.3 Přesnost/reprodukovatelnost

Přesnost/reprodukovatelnost testu HIV-1 VL byla stanovena analýzou paralelních ředění referenčního materiálu HIV-1 (HIV-1 podtyp B) v HIV-1 negativní EDTA plazmě. Použitý referenční materiál byl kalibrován na WHO HIV-1 3. Mezinárodní standart (NIBSC kód: 10/152). Studie byla dvoustupňově slepá srovnávací studie s použitím sedmičlenného panelu referenčního materiálu HIV-1 v HIV-1 negativní EDTA plazmě s koncentracemi RNA, které překračují rozsah kvantifikace HIV-1 VL. Dva operátoři na každém ze dvou pracovních stanovišť testovali jeden panel dvaceti jednoho vzorku jednou denně po dobu šesti testovacích dnů. Jeden používal přístroj Infinity-80 a druhý použil přístroj GeneXpert Dx. Pro tuto studii byly použity tři šarže testovacích činidel HIV-1 VL. Přesnost/reprodukovatelnost byla hodnocena v souladu "Vyhodnocením přesnosti výkonu zařízení klinické chemie; Schválený dokument EP5-A2.<sup>21</sup> Výsledky přesnosti pro každou soupravu šarže jsou uvedeny v Tab. 6.

Tab. 6. Přesnost testu HIV-1 VL podle šarže a tři sad

Očekávaná koncentrace RNA HIV-1 (log <sub>10</sub> kopií/mL)	Celková přesnost na šarži						Celková přesnost 3 sad	
	Sada 1		Sada 2		Sada 3		Celkem	
	SD <sup>a</sup>	CV <sup>b</sup>	SD <sup>a</sup>	CV <sup>b</sup>	SD <sup>a</sup>	CV <sup>b</sup>	SD <sup>a</sup>	CV <sup>b</sup>
1.60	0.24	58.6%	0.29	73.6%	0.23	57.6%	0.25	62.5%
2.00	0.20	48.8%	0.20	47.3%	0.22	53.1%	0.20	49.1%
3.00	0.10	22.6%	0.08	18.2%	0.10	22.6%	0.09	20.5%
4.00	0.06	13.7%	0.07	17.3%	0.09	19.8%	0.07	17.1%
5.00	0.06	13.8%	0.07	16.3%	0.08	17.7%	0.08	17.8%
6.00	0.05	12.4%	0.07	15.3%	0.07	16.2%	0.08	19.3%
7.00	0.06	14.3%	0.07	15.5%	0.09	21.5%	0.10	22.6%

a. Celková SD v log<sub>10</sub>.

b. "CV" je lognormální CV, a bylo získáno ze vzorce:  $\text{Lognormal CV}(\%) = \sqrt{10^{[\text{SD}^2 * \ln(10)]} - 1} * 100$   
CV(%) = procentní variační koeficient; SD = směrodatná odchylka; sqrt = druhá odmocnina

Reprodukovatelnost testu HIV-1 VL byla hodnocena pomocí ANOVA testu s termíny pro přístroj, šarže, den, operátora/běhu a intra-běhu. Byla vypočtena standartní odchylka a procento variability v důsledku každé složky koncentrací transformovaných log<sub>10</sub> HIV-1 (viz. Tab. 7).

Tab. 7. Příspěvek testu HIV-1 VL k celkové odchylce a celkové přesnosti

HIV-1 RNA koncentrace (log <sub>10</sub> kopií/mL)			Příspěvek k celkové varianci SD (CV%)										Celková přesnost	
Očekávané	Aktuální (průměr)	N <sup>a</sup>	S		Lo		D		Operátor/Ru		Během běhu		Celkem	
			SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	(%)	SD	CV <sup>b</sup>
1.60	1.54	212	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.09	11.7%	0.23	88.3%	0.25	62.5%
2.00	1.93	215	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.00	0.0%	0.04	4.8%	0.20	95.2%	0.20	49.1%
3.00	2.98	215	0.01	0.9%	0.01	1.2%	0.00	0.0%	0.01	2.6%	0.09	95.3%	0.09	20.5%
4.00	3.98	214	0.00	0.0%	0.01	3.5%	0.01	1.7%	0.02	9.1%	0.07	85.7%	0.07	17.1%
5.00	4.99	213	0.00	0.0%	0.04	21.8%	0.00	0.0%	0.03	15.0%	0.06	63.2%	0.08	17.8%
6.00	5.96	215	0.00	0.0%	0.05	42.1%	0.02	4.4%	0.02	6.9%	0.06	46.7%	0.08	19.3%
7.00	6.94	213	0.00	0.0%	0.07	45.3%	0.01	0.9%	0.02	5.3%	0.07	48.5%	0.10	22.6%

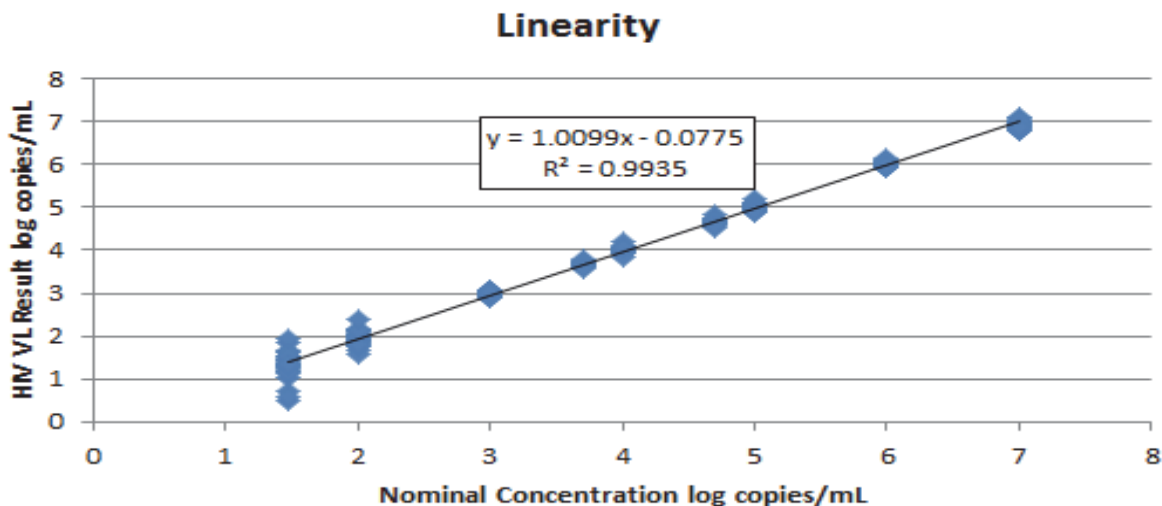
a. Počet platných replikátů v rozsahu testu

b. "CV" je lognormální CV podle vzorce:  $\text{Lognormal CV}(\%) = \sqrt{10^{[\text{SD}^2 * \ln(10)]} - 1} * 100$  CV(%) = procentní variační koeficient; SD = směrodatná odchylka; sqrt = druhá odmocnina

#### 18.4 Lineární rozsah

Lineární rozsah testu HIV-1 VL je stanoven analýzou devítičlenného panelu od  $30$  ( $1.48 \log_{10}$ ) do  $1 \times 10^7$  ( $7 \log_{10}$ ) kopií/mL připravených paralelním ředěním referenčního materiálu HIV-1 (HIV-1 podtyp B) v HIV-1 negativní EDTA plazmě. Použitý referenční materiál byl kalibrován podle třetího standardu HIV-1 WHO (NIBSC kód: 10/152).

Dva operátoři testovali panel po třech replikách ve třech samostatných dnech s použitím jedné šarže soupravy. Kromě toho byl stejný panel testován v replikátech po třech v jeden den testování s použitím dvou dalších šarží soupravy, což vedlo k celkem 30 replikátům na člena panelu. Analýza linearity byla provedena podle směrnice CLSI EP06-A.<sup>22</sup> Na Obr. 5 jsou uvedeny kombinované výsledky pro všechny tři šarže. Test HIV-1 VL je lineární v rozmezí  $30$  ( $1.5 \log_{10}$ ) do  $1 \times 10^7$  ( $7 \log_{10}$ ) cp/mL s  $R^2$  hodnotou 0.9935.

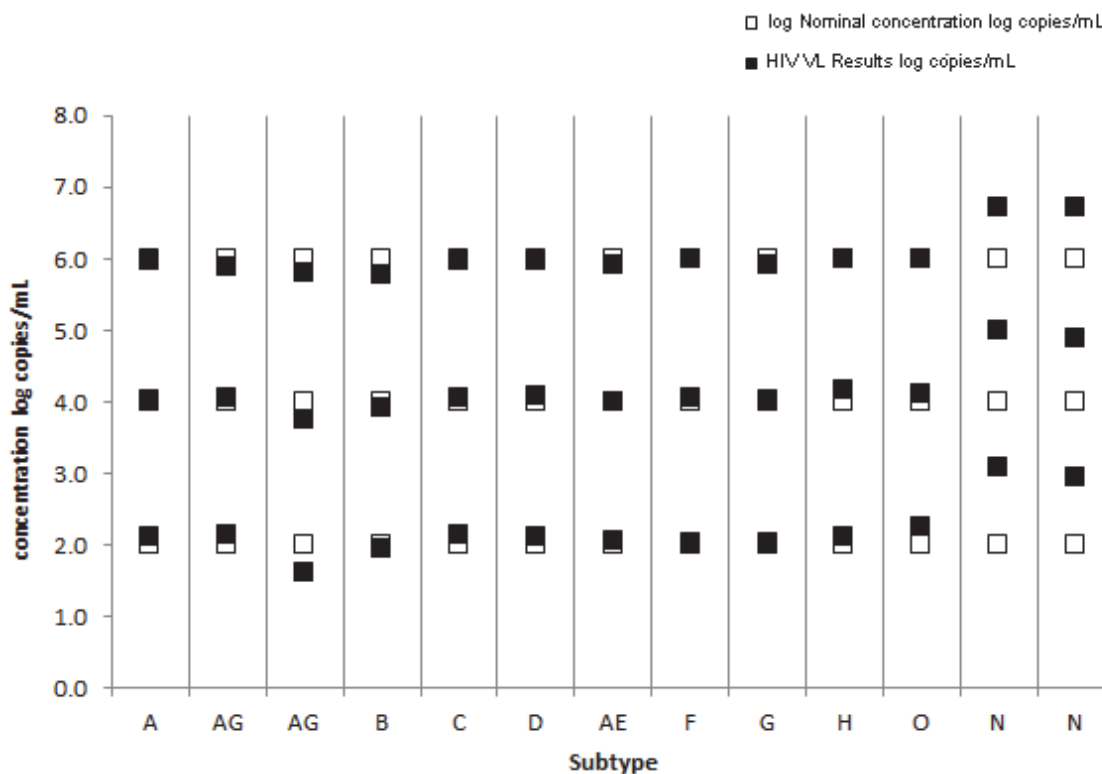


Obr. 5. Linearita testu HIV-1 VL

#### 18.5 Analytická reaktivita (inkluzivita)

Analytická reaktivita testu HIV-1 VL byla hodnocena testováním supernatantů buněčných kultur reprezentujících podtypy skupiny M A-D, F-H, CRF A/G, a A/E; Skupina N; a Skupiny O. Přiřazení nominálních koncentrací supernatantů buněčné kultury bylo provedeno pomocí testu Abbott HIV-1 RealTim. Každý supernatant buněčné kultury byl zředěn na koncentrace  $1 \times 10^2$ ,  $1 \times 10^4$  a  $1 \times 10^6$  kopií/mL v HIV-1 negativní EDTA plazmě. Každá koncentrace byla testována v šesti replikátech v jednom dni za použití jedné šarže soupravy na stanovení HIV-1 VL. Průměrné koncentrace  $\log_{10}$  získané testem HIV-1 VL pro všechny podtypy a skupiny byly porovnány s nominálními koncentracemi  $\log_{10}$ . Výsledky uvedené na Obr. 6 ukazují ekvivalentní výkonnost pro všechny testované zástupce podtypů HIV-1 skupiny M a skupiny O. Průměrné výsledky  $\log_{10}$  pro všechny testované podtypy a skupiny O byly v rozmezí  $\pm 0.5 \log_{10}$  od přiřazené vstupní koncentrace.





Obr. 6. Inklusivita testu HIV-1 VL

### 18.6 Analytická specifita (Exkluzivita)

Analytická specifita testu HIV-1 VL byla hodnocena přidáním kultivovaného organismu při vstupní koncentraci  $5 \times 10^4$  částic/kopii/ml do plazmy HIV-1 negativní EDTA a v plazmě, která obsahovala 1000 kopii/mL HIV-1 referenčního materiálu (HIV-1 podtyp B). Testované organismy jsou uvedeny v Tab. 8.

Tab. 8. Analytická specifita organismů

<i>Virus lidské imunodeficiency 2</i>
<i>Lidský T-buněčný lyfotropický virus 1</i>
<i>Lidský T-buněčný lyfotropický virus 2</i>
<i>Candida albicans</i>
<i>Cytomegalovirus</i>
<i>Epstein-Barr virus</i>
<i>Virus hepatitidy A</i>
<i>Virus hepatitidy B</i>
<i>Virus hepatitidy C</i>
<i>Herpes simplex virus 1</i>
<i>Herpes simplex virus 2</i>
<i>Lidský herpes virus 6</i>
<i>Chřipka A</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>

Žádný z testovaných organismů nevykazoval zkříženou reaktivitu a všechny HIV-1 pozitivní replikáty vedly k titru v rámci  $\pm 0.5$  log HIV-1 pozitivní kontroly, když byly testovány pomocí testu HIV-1 VL.

### 18.7 Potencionálně interferující látky

Byla hodnocena náchylnost testu HIV-1 VL k interference se zvýšenými hladinami endogenních látek, léky předepisovaným pacientům infikovaným HIV-1 a markerů autoimunitních onemocnění. Byla testována plasma HIV-1 negativní s EDTA a plasma obsahující 1000 kopií/ml HIV-1 referenčního materiálu (HIV-1 subtyp B).

Zvýšené hladiny endogenních látek uvedených v Tab. 9 neinterferovaly s testem HIV-1 a neovlivňovaly specifitu testu.

**Table 9. Testování endogenních látek a jejich koncentrace**

Látka	Testovaná koncentrace
Albumin	9 g/dL
Bilirubin	20 mg/dL
Hemoglobin	500 mg/dL
Lidská DNA	0.4 mg/dL
Triglyceridy	3000 mg/dL

Složky léčiva uvedené v Tab. 10 neinterferovaly s kvantifikací testu HIV-1 VL ani neovlivňovaly specifitu testu, když byly testovány při trojnásobné maximální koncentraci v pěti skupinách léčiv.

**Tab. 10. Testované skupiny léčiv**

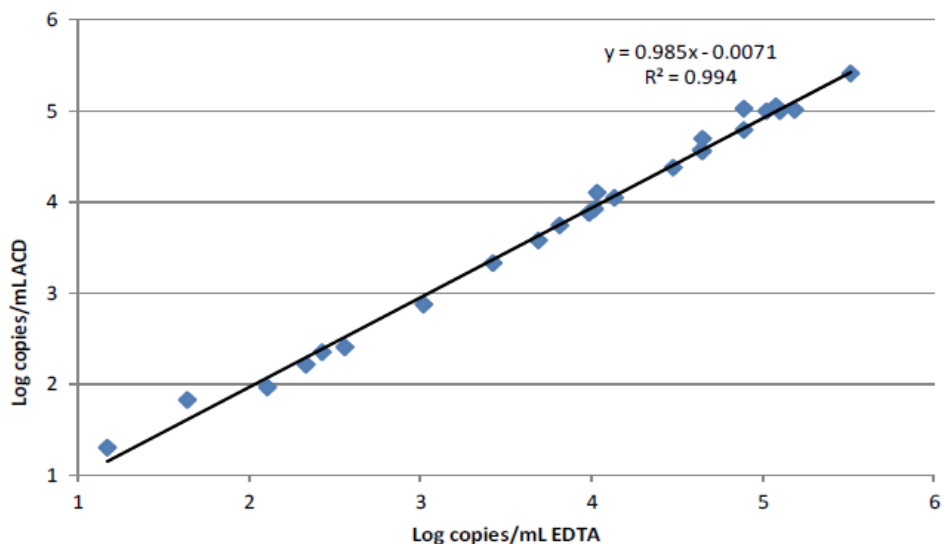
Vzorek	Léčivo
Kontrola	n/a
1	Zidovudine, Saquinavir, Ritonavir, Clarithromycin
2	Abacavir sulfate, Peginterferon 2b, Ribavirin
3	Tenofovir disoproxil fumarate, Lamivudine, (3TC), Indinavir sulfate, Ganciclovir, Valganciclovir HCl, Acyclovir, Raltegravir
4	Stavudine (d4T), Efavirenz, Lopinavir/Ritonavir, Enfuvirtide (T-20), Ciprofloxacin
5	Nevirapine, Nelfinavir mesylate, Azithromycin, Valacyclovir HCl
6	Fosamprenavir Calcium, Interferon alfa-2b

Testování vzorků od pěti jedinců pozitivních na marker autoimunitního onemocnění - systémový lupus erythematosus (SLE), anti-nukleární protilátka (ANA) nebo revmatoidní faktor (RF)—neprokázalo žádné interference pomocí testu HIV-1 VL.

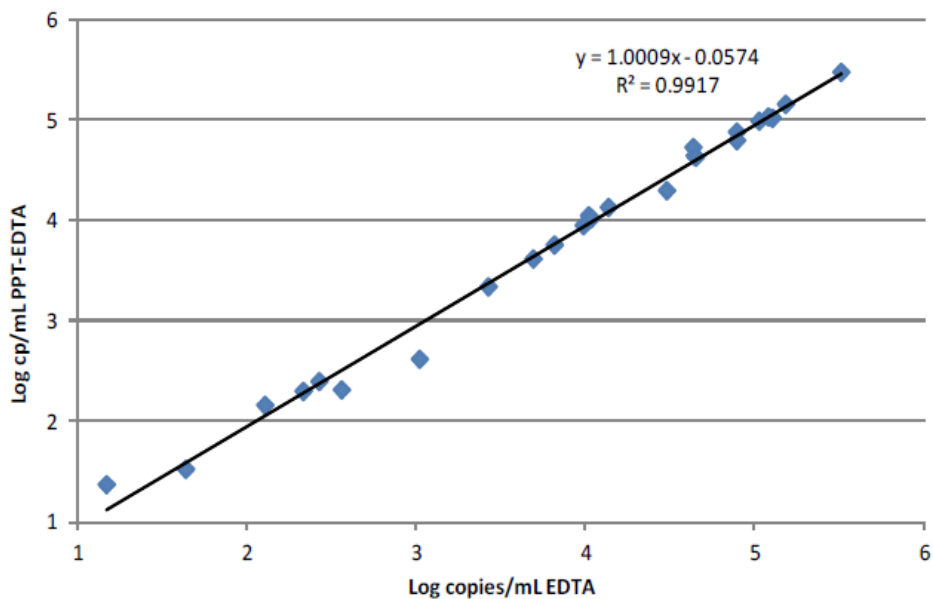
### 18.8 Antikoagulační ekvivalence (EDTA, PPT-EDTA a ACD)

Pro každý antikoagulační EDTA, PPT-EDTA a ACD byly odebrány vzorky od 25 odpovídajících HIV-1 pozitivních jedinců a 25 odpovídajících HIV-1 negativních vzorků a testovány s použitím jedné sady soupravy testu HIV-1 VL.

Jak je zobrazeno na Obr. 7 a Obr. 8., byl prokázán ekvivalentní výkon testu HIV-1 VL pro antikoagulanty EDTA versus ACD anti-koagulant a EDTA versus PPT-EDTA anti-koagulant. Všechny vzorky pozitivní na HIV-1 shromážděné v médiu ACD nebo PPT-EDTA produkovaly koncentrace HIV-1 RNA v rozmezí  $\pm 0.5 \log_{10}$  kopií/mL HIV-1 pozitivního vzorku odebraného v médiu EDTA při testování pomocí testu HIV-1 VL. Všech 25 HIV-1 negativních vzorků nebylo testem detekováno jako negativní.



Obr 7. Bodový diagram Log kopií/mL ACD versus Log kopií/mL EDTA



Obr. 8. Bodový diagram Log kopií/mL PPT-EDTA versus Log kopií/mL EDTA

## 19 Výkonnostní charakteristiky – Klinický výkon

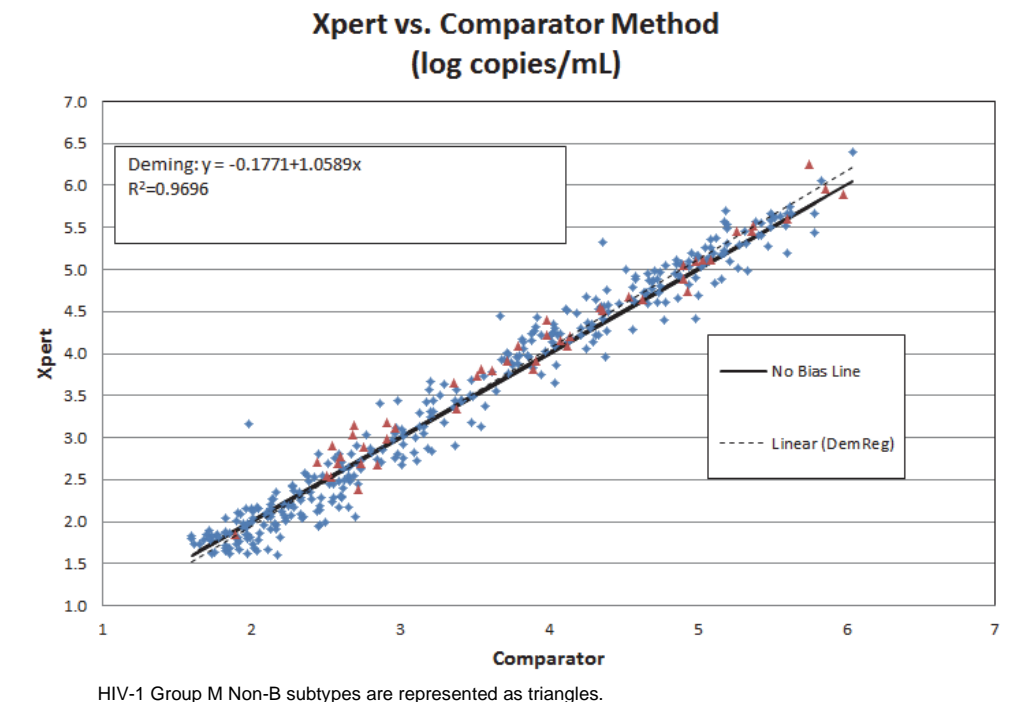
### 19.1 Specifičnost

Specifičnost testu HIV-1 VL stanovena pomocí 109 plazmatických vzorků EDTA od HIV-1 negativních dárců krve. Žádný ze 109 testovaných vzorků nebyl detekován testem HIV-1 VL, což odpovídá 100% specifičtě (95% CI = 96.7–100.0).

### 19.2 Korelace metody

Byla provedena více parametrová studie, aby se vyhodnotila účinnost testu HIV-1 VL ve srovnání s testem Abbott HIV-1 RealTime s použitím čerstvých a zmrazených vzorků lidské plazmy odebraných od jedinců infikovaných HIV-1. Ze 724 způsobilých vzorků, každý z jedinečných jedinců, bylo odebráno 519 (71.8%) od mužských dárců. Průměrný věk  $44.5 \pm 11.3$  s věkovým rozpětím 18 až 83 let.

Ze 724 vzorků bylo 390 v rámci kvantifikačního rozsahu obou testů včetně 47 HIV-1 skupin M ne-B podtypů zahrnujících A-podobných, C a C-podobných, D, F, G, H, J, AE, AG a různé jiné cirkulujících rekombinantní formy (CRF). Demingova regrese ukazuje velmi dobrou korelaci mezi testem HIV-1 VL a srovnávací metodou se sklonem 1.0589 a 0.1771.  $R^2$  je 0.9696.



**Obr. 9. Výkonnost testu HIV-1 VL ve vztah ke srovnávací metodě**

## 20 Zdroje

1. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868–871.
2. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497–500.
3. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500–503.
4. Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610–616.
5. Schochetman G, George JR, editors. *AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal, and management issues*. 2nd ed. New York: NY Springer-Verlag; 1994.
6. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al. Effect of breastfeeding and formula feeding on transmission of HIV-1: a randomized clinical trial. *Journal of the American Medical Association* 2000;283:1167–1174.

- 
7. Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics *in vivo*: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science* 1996; 271:1582–1586.
  8. Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, Johnson VA, Emini EA, Deutsch P, Lifson JD, Bonhoeffer S, Nowak MA, Hahn BH, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995; 373:117–122.
  9. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995; 373:123–126.
  10. Katzenstein DA, Hammer SM, Hughes MD, Gundacker H, Jackson JB, Fiscus S, Rasheed S, Elbeik T, Reichman R, Japour A, Merigan TC, Hirsch MS. The relation of virologic and immunologic markers to clinical outcomes after nucleoside therapy in HIV-infected adults with 200 to 500 CD4 cells per cubic millimeter. AIDS Clinical Trials Group Study 175 Virology Study Team. *N Engl J Med* 1996; 335:1091–1098.
  11. Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, Margolick JB, Tassoni CJ, Gupta P, Kingsley LA, Todd JA, Saah AJ, Detels R, Phair JP, Rinaldo CR, Jr. Plasma viral load and CD4+ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997; 126:946–954.
  12. Mellors JW, Rinaldo CR, Jr., Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272:1167–1170.
  13. O'Brien WA, Hartigan PM, Martin D, Eshinart J, Hill A, Benoit S, Rubin M, Simberkoff MS, Hamilton JD. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N Engl J Med* 1996; 334:426–431.
  14. Ruiz L, Romeu J, Clotet B, Balague M, Cabrera C, Sirena G, Ibanez A, Martinez-Picado J, Raventos A, Tural C, Segura A, Foz M. Quantitative HIV-1 RNA as a marker of clinical stability and survival in a cohort of 302 patients with a mean CD4 cell count of  $300 \times 10^6/l$ . *Aids* 1996; 10:F39–44.
  15. Saag MS, Holodniy M, Kuritzkes DR, O'Brien WA, Coombs R, Poscher ME, Jacobsen DM, Shaw GM, Richman DD, Volberding PA. HIV viral load markers in clinical practice. *Nat Med* 1996; 2:625–629.
  16. Centers for Disease Control and Prevention. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
  17. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline*. Document M29 (refer to latest edition).
  18. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
  19. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
  20. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline*. Document EP17-A2 (Second Edition). Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2012
  21. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline*. Document EP5-A2.
  22. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP06-A [ISBN 1-56238-498-8]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.

---

---

## 21 Sídlo centrály Cepheid















Sídlo společnosti	Evropské ředitelství
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens- Scopont France
Telephone: + 1 408 541 4191	Telephone: + 33 563 825 300
Fax: + 1 408 541 4192	Fax: + 33 563 825 301
<a href="http://www.cepheid.com">www.cepheid.com</a>	<a href="http://www.cepheidinternational.com">www.cepheidinternational.com</a>

## 22 Technická podpora

Před kontaktováním technické podpory společnosti Cepheid, shromážděte následujících informace:

- Název výrobku
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybové zprávy (pokud jsou dostupné)
- Verze software a případně servisní číslo počítače

### 23. Seznam symbolů

Symbol	Význam
	Katalogové číslo
	CE známka
	Zařízení pro <i>In vitro</i> diagnostiku
	Nepoužívejte opakovaně
	Kód dávky
	Prostudujte si návod k použití
	Pozor
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro <n> testů
	Kontrola
	Datum spotřeby
	Omezení teploty
	Biologická rizika



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna  
Sweden

