

Test Aptima® HIV-1 Quant Dx

Pentru diagnosticare *in vitro*.

Exclusiv pentru export din SUA.

Informații generale	2
Utilizare prevăzută	2
Rezumatul și explicarea testării	2
Principiile procedurii	3
Avertismente și precauții	4
Cerințe privind păstrarea și manipularea reactivilor	8
Recoltarea și păstrarea eșantioanelor	9
Probe încărcate în sistemul Panther	12
Transportarea eșantioanelor	12
Sistem Panther®	13
Reactivi și materiale furnizate	13
Materiale necesare, însă disponibile separat	15
Materiale opționale	16
Procedura de testare cu sistemul Panther	16
Note privind procedura	20
Controlul calității	22
Calibrarea testului	22
Controale negative și pozitive	22
Calibrator intern/Control intern	22
Interpretarea rezultatelor	23
Limitări	25
Performanțe	26
Limita de detecție (LoD) utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1	26
Limita de detecție în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1	27
Intervalul liniar	28
Liniaritatea în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1	29
Limita inferioară de cuantificare utilizând AI 3-lea standard internațional al OMS pentru HIV-1	30
Verificarea LLoQ în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1	31
Precizia	32
Substanțe cu potențial de interferență	33
Specificitatea	35
Specificitatea analitică	36
Repetabilitatea eșantioanelor clinice	37
Diluarea probelor utilizând diluant pentru eșantioane	38
Corelația metodei	39
Acordul de diagnosticare	40
Transferul (Carryover-ul)	40
Panelul de seroconversie	41
Studiu de echivalență ser- plasmă	42
Bibliografie	43

Informații generale

Utilizare prevăzută

Testul Aptima® HIV-1 Quant Dx este un test de amplificare a acidului nucleic *in vitro* pentru detectarea și cuantificarea grupelor ARN M, N și O ale virusului imunodeficienței umane de tip 1 (HIV-1) pe sistemul Panther® complet automatizat. Acesta este destinat utilizării ca ajutor în diagnosticarea infecției cu HIV-1, confirmarea infecției cu HIV-1 și ca ajutor în gestionarea clinică a pacienților infectați cu HIV-1.

Testul Aptima HIV-1 Quant Dx poate fi utilizat ca ajutor în diagnosticarea infecției cu HIV-1, inclusiv a infecției acute sau primare. Prezența ARN-ului HIV-1 în plasma sau serul pacienților fără anticorpi anti-HIV-1 indică o infecție acută sau primară cu HIV-1. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx poate fi utilizat ca test suplimentar pentru eșantioanele care prezintă rezultate reactive repetate cu testele imunologice HIV autorizate. Dacă eșantionul este reactiv în cazul testului Aptima HIV-1 Quant Dx, infecția cu HIV-1 este confirmată.

Testul Aptima HIV-1 Quant Dx poate fi utilizat coroborat cu tabloul clinic și alți markeri de laborator pentru prognosticul bolii la persoanele infectate cu HIV-1. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx poate fi utilizat ca ajutor în monitorizarea efectului tratamentului antiretroviral prin măsurarea modificărilor în concentrațiile de ARN HIV-1 în plasmă.

Atunci când testul Aptima HIV-1 Quant Dx este utilizat ca ajutor în diagnosticarea infecției cu HIV-1, performanța privind rezultatele calitative este stabilită pe baza eșantioanelor de plasmă și ser.* Atunci când este utilizat ca ajutor în monitorizarea efectului terapiei antiretrovirale, performanța rezultatelor cantitative este stabilită exclusiv pe baza eșantioanelor de plasmă. Eșantioanele de ser nu pot fi utilizate pentru rezultate cantitative.

Acest test nu este destinat utilizării în screeningul donatorilor de sânge sau plasmă.

Rezumatul și explicarea testării

Studiile epidemiologice au identificat virusul imunodeficienței umane de tip 1 (HIV-1) ca agent etiologic al sindromului imunodeficienței dobândite (SIDA) (1-7). HIV poate fi transmis prin contact sexual, expunere la sânge infectat sau produse din sânge ori prin transmitere de la mamă la copil (8). În decurs de 3 până la 6 săptămâni de la expunerea la HIV, persoanele infectate dezvoltă în general un sindrom scurt, acut, caracterizat prin simptome asemănătoare gripei și asociat cu niveluri ridicate de viremie în sângele periferic (9-12). La majoritatea persoanelor infectate, această fază timpurie este urmată de un răspuns imun specific HIV și de o scădere a viremiei plasmatice, de obicei în decurs de 4-6 săptămâni de la debutul simptomelor (13-14). După seroconversie, persoanele infectate intră de obicei într-o fază clinică stabilă, asimptomatică, care poate dura ani de zile (15-17). Perioada asimptomatică se caracterizează printr-o viremie plasmatică persistentă, de nivel scăzut (18) și o depleție treptată a limfocitelor T CD4+. Această depleție duce la imunodeficiență severă, infecții oportuniste multiple, malignități și deces (19). Deși nivelurile de virus din sângele periferic sunt relativ scăzute în timpul fazei asimptomatice a infecției, replicarea și eliminarea virusului par a fi procese dinamice în care ratele ridicate de producere a virusului și de infectare a celulelor CD4+ sunt echilibrate de rate la fel de ridicate de eliminare a virusului, de moarte a celulelor infectate și de refacere a celulelor CD4+, rezultând niveluri relativ stabile atât ale viremiei plasmatice, cât și ale celulelor CD4+ (20-22).

Măsurătorile cantitative ale HIV în sângele periferic au arătat că nivelurile mai ridicate ale virusului pot fi corelate cu un risc crescut de progresie clinică a bolii asociate HIV și au arătat că reducerea nivelurilor plasmatice ale virusului poate fi asociată cu scăderea riscului de progresie clinică (23-25). Nivelurile de virus din sângele periferic pot fi cuantificate prin măsurarea antigenului HIV p24 din ser, prin cultivarea cantitativă a HIV din plasmă sau prin măsurarea directă a ARN-ului viral din plasmă utilizând tehnologii de amplificare a acidului nucleic sau de amplificare a semnalului (26-30).

Detectarea curentă a infecției cu HIV-1 se bazează în principal pe testarea serologică a anticorpilor și/sau a antigenului p24 prin imunoanaliză. Centrele din SUA pentru controlul bolilor recomandă utilizarea unei testări de anticorpi și ARN pentru diagnosticarea infecțiilor acute cu HIV (31). Deși sensibilitatea detecției anticorpilor HIV-1 și a antigenului p24 s-a îmbunătățit, există încă o perioadă de timp între momentul infecției și momentul detectării prin markeri serologici. Această fereastră de timp depinde de sensibilitatea testului serologic utilizat. O estimare (32) sugerează că testele de antigen/anticorp p24 de a 4-a generație pot detecta infecția atunci când concentrația de ARN HIV-1 atinge 14.000 de copii/ml. Limita de detecție a testului Aptima HIV-1 Quant Dx este semnificativ mai mică decât 14.000 de copii/ml și poate detecta prezența HIV-1 mai devreme decât imunoanalizele pentru HIV.

Tehnici moleculare precum amplificarea mediată de transcripție (tehnologia TMA®) au fost utilizate pe scară largă pentru amplificarea acizilor nucleici (31). TMA utilizează capturarea țintelor specifice și amplificarea izotermă pentru a detecta acizii nucleici din mai mulți agenți patogeni infecțioși (32).

Testul Aptima HIV-1 Quant Dx, prin TMA, utilizează mai multe amorse lungi care vizează mai multe regiuni ale genomului HIV-1 pentru a compensa rata ridicată de mutații și multiplele mutații potențiale din regiunea țintă.

Principiile procedurii

Testul Aptima HIV-1 Quant Dx implică trei pași principali, care au loc într-un singur tub pe sistemul Panther: capturarea țintei, amplificarea țintei prin amplificare mediată prin transcripție (TMA) și detectarea produselor de amplificare (amplicon) de sonde marcate fluorescent (sonde).

În timpul capturării țintei, ADN-ul viral este izolat din eșantioane. Eșantionul este tratat cu un detergent pentru a solubiliza anvelopa virală, pentru a denatura proteinele și pentru a elibera ARN-ul genomic viral. Oligonucleotidele de captare se hibridizează în zonele extrem de conservate ale genomului HIV-1, dacă sunt prezente, din eșantionul de testare. Ținta hibridizată este, apoi, captată în microparticule magnetice care sunt separate de eșantion într-un câmp magnetic. Etapele de spălare îndepărtează componentele străine din eprubeta de reacție.

Amplificarea țintei se produce prin intermediul TMA, care este o metodă de amplificare a acidului nucleic mediată prin transcripție, care utilizează două enzime, transcriptaza inversă a MMLV (virusul leucemiei murine Moloney) și polimeraza T7 ARN. Transcriptaza inversă este utilizată pentru a genera o copie ADN (care conține o secvență promotor pentru polimeraza T7 ARN) a secvenței țintă. Polimeraza T7 ARN produce copii multiple ale ampliconului ARN din șablonul copiei ADN. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx utilizează metoda TMA pentru a amplifica două regiuni ale ARN-ului HIV-1 (pol și LTR). Amplificarea acestor regiuni specifice se realizează utilizând amorse specifice care sunt concepute pentru a amplifica grupurile M, N și O ale HIV-1. Proiectarea amorsei și abordarea cu țintă dublă asigură detectarea și cuantificarea precisă a HIV-1.

Detectarea se realizează utilizând sonde de acid nucleic monocatenar, care sunt prezente în timpul amplificării țintei și care hibridizează în mod specific cu ampliconul, - în timp real. Fiecare sondă are un fluorofor și o substanță extincătoare de fluorescență. Dacă sonda nu este hibridizată cu ampliconul, substanța extincătoare de fluorescență se află în imediata apropiere a fluoroforului și suprimă fluorescența. Atunci când sonda se leagă de amplicon, substanța extincătoare de fluorescență este mutată mai departe de fluorofor și va emite un semnal pe o anumită lungime de undă când este excitată de o sursă de lumină. Pe măsură ce mai multe sonde hibridizează la amplicon, se generează un semnal fluorescent mai mare. Timpul necesar ca semnalul fluorescent să atingă un prag specificat este proporțional cu concentrația inițială de HIV-1. Fiecare reacție are un calibrator intern/control intern (CI), care controlează variațiile în procesarea, amplificarea și detectarea eșantioanelor. Concentrația unei probe este determinată de software-ul sistemului Panther utilizând semnalele HIV-1 și IC pentru fiecare reacție și comparându-le cu informațiile de calibrare.

Avertismente și precauții

- A. Pentru diagnosticare *in vitro*.
- B. Numai pentru uz profesionist.
- C. Pentru a reduce riscul de rezultate nevalide, citiți cu atenție întregul prospect și *Manualul operatorului pentru sistemul Panther®/Panther Fusion®* înainte de efectuarea acestui test.

În legătură cu laboratorul

-  D. PRECAUȚIE: Controalele pentru acest test conțin plasmă umană. Plasma este negativă pentru antigenul superficial al hepatitei B (HBsAg), anticorpii pentru HCV, anticorpii pentru HIV-1 și HIV-2, și antigenul HIV, atunci când este testată prin procedurile autorizate de Food and Drug Administration din SUA. În plus, plasma nu este reactivă pentru ARN-ul HCV și ARN-ul HIV-1 atunci când este testată cu testări de acid nucleic licențiate utilizând probe compozite. Toate materialele provenite din sânge uman trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie tratate cu respectarea precauțiilor universale (35–37).
- E. Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HIV-1 Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură. Dacă se produce o scurgere, dezinfectați imediat în conformitate cu procedurile adecvate ale unității.
- F. Utilizați doar instrumentarul și consumabilele de laborator de unică folosință prevăzute sau specificate.
- G. Respectați precauțiile de laborator obișnuite. Nu pipetați cu ajutorul gurii. Nu consumați alimente sau băuturi și nu fumați în zonele de lucru desemnate. Purtați mănuși de unică folosință fără pudră, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când manipulați eșantioane și reactivi din kit. Spălați-vă temeinic mâinile după ce ați manipulat eșantioane sau reactivi din kit.
- H. Suprafețele de lucru, pipetele și alte echipamente trebuie decontaminate în mod regulat cu soluție de hipoclorit de sodiu între 2,5% și 3,5% (între 0,35 M și 0,5 M).

- I. Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu eșantioanele și reactivii în conformitate cu reglementările locale, statale și federale (35-38). Curățați și dezinfectați bine toate suprafețele de lucru.
- J. Controalele conțin azidă de sodiu cu rol de conservant. Nu utilizați tuburi metalice pentru transferul reactivilor. Dacă soluțiile care conțin compuși ai azidei de sodiu sunt eliminate într-un sistem de canalizare, acestea trebuie diluate și clătite cu cantități generoase de apă de la robinet. Aceste precauții sunt recomandate pentru a evita acumularea de depuneri în tuburile metalice în care s-ar putea dezvolta condiții explozive.
- K. Bunele practici standard pentru laboratoarele moleculare includ monitorizarea mediului înconjurător. Pentru a monitoriza mediul unui laborator, se recomandă următoarea procedură.
 - 1. Luați un bețișor cu vată și asociați-l cu tubul pentru părți alicote din eșantion (SAT) Aptima.
 - 2. Etichetați fiecare SAT în mod corespunzător.
 - 3. Umpleți fiecare SAT cu 1 ml de diluant pentru eșantioane Aptima.
 - 4. Pentru a preleva probele superficiale, umeziți ușor un bețișor cu vată în apă deionizată fără nuclează.
 - 5. Tamponați suprafața de interes folosind o mișcare verticală, de sus în jos. Rotiți bețișorul cu vată cu aproximativ o jumătate de tură, în timp ce tamponați locul.
 - 6. Amplasați imediat în tub proba prelevată pe bețișorul cu vată și rotiți încet bețișorul cu vată în diluant pentru a extrage potențialele materiale tamponate. Apăsăți bețișorul cu vată pe partea laterală a tubului de transport pentru a extrage cât mai mult lichid posibil. Aruncați bețișorul cu vată și acoperiți tubul cu un capac.
 - 7. Repetați pașii pentru restul probelor prelevate pe bețișoare cu vată.
 - 8. Testați bețișorul cu vată cu testul molecular.

În legătură cu eșantioanele

- L. Eșantioanele pot fi infecțioase. Folosiți Precauții universale (35–37) atunci când efectuați acest test. Metodele adecvate de manipulare și eliminare vor fi stabilite în conformitate cu reglementările locale (38). Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HIV-1 Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură.
- M. *A fost evaluată numai plasmă cu anticoagulanți EDTA și ACD.*
- N. Mențineți condiții de depozitare adecvate în timpul expedierii eșantionului pentru a asigura integritatea acestuia. Nu a fost evaluată stabilitatea eșantionului în condiții de expediere diferite de cele recomandate.
- O. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantioanelor. Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor, la slăbirea sau scoaterea capacelor eșantioanelor. Eșantioanele pot conține niveluri extrem de ridicate de organisme. Asigurați-vă că recipientele cu eșantioane nu se ating între ele și eliminați materialele utilizate fără a le trece pe deasupra recipientelor deschise. Schimbați mănușile dacă acestea intră în contact cu eșantionul.

În legătură cu testul

- P. Rezultatele cantitative ale testului Aptima HIV-1 Quant Dx au fost evaluate cu plasmă EDTA și ACD. **Serul nu poate fi utilizat pentru a obține rezultate cantitative.** Rezultatele calitative au fost evaluate atât cu plasmă, cât și cu ser.
- Q. Nu utilizați kitul de reactivi, calibratorul sau controalele după data expirării.
- R. Nu interschimbați, amestecați sau combinați reactivi ai testului din kituri cu numere diferite ale lotului principal. Lichidele pentru test pot proveni din numere de lot diferite. Controalele și calibratorul pot proveni loturi cu numere diferite.
- S. Evitați contaminarea microbiană și cu nucleaze a reactivilor.
- T. Acoperiți și depozitați toți reactivii testului la temperaturile specificate. Performanța testului poate fi afectată de utilizarea unor reactivi ai testului depozitați necorespunzător. Consultați *Cerințe privind păstrarea și manipularea reactivilor* și *Procedura de testare cu sistemul Panther* pentru mai multe informații.
- U. Nu combinați reactivi sau lichide ale testului fără instrucțiuni specifice. Nu umpleți până la refuz cu reactivi sau lichide. Sistemul Panther verifică nivelurile reactivilor.
- V. Unii reactivi din acest kit sunt etichetați cu informații referitoare la pericole.

Notă: Declarația privind pericolele reflectă clasificările conform Safety Data Sheets (SDS) (Fișe tehnice de securitate (FTS)) la nivelul UE. Pentru informații privind comunicarea pericolelor specifice regiunii dvs., consultați FDS specifică regiunii în Biblioteca de fișe cu date de securitate la adresa www.hologicsds.com. Pentru informații suplimentare referitoare la simboluri, consultați legenda simbolurilor la www.hologic.com/package-inserts.

Informații pericole UE	
—	Amplification Reagent Clorură de magneziu 60%–65% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	Enzyme Reagent HEPES 1%–5% Triton X-100 1%–5% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	Enzyme Reconstitution Solution Glycerol 20%–25% Triton X-100 5%–10% HEPES 1%–5% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.

—	Promoter Reagent Clorură de magneziu 60%–65% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	Target Capture Reagent HEPES 15%–20% Sare lauril sulfat de litiu 5%–10% Hidroxid de litiu, monohidrat 1%–5% Acid succinic 1%–5% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
	HIV VL Kit Controls Ser uman/plasmă umană 95%–100% Azidă de sodiu <1% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	HIV VL Kit Calibrators Sare lauril sulfat de litiu 0%–10% Acid succinic 0%–10% H412 - Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 - Evitați dispersarea în mediu. P501 - Aruncați conținutul/ recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.

Cerințe privind păstrarea și manipularea reactivilor

- A. Tabelul următor prezintă condițiile de păstrare și stabilitatea pentru reactivi, controale și calibrator.

Reactiv	Păstrare în stare nedeschisă	Kit deschis (reconstituit)	
		Păstrare	Stabilitate
Reactiv de amplificare qHIV-1	Între 2°C și 8°C		
Soluție de reconstituire pentru amplificare qHIV-1	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile ^a
Reactiv enzimatic qHIV-1	Între 2°C și 8°C		
Soluție de reconstituire pentru enzimă qHIV-1	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile ^a
Reactiv promotor qHIV-1	Între 2°C și 8°C		
Soluție de reconstituire pentru promotor qHIV-1	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile ^a
Reactiv de captură a analitului qHIV-1	Între 2°C și 8°C	Între 2°C și 8°C	30 de zile ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (control negativ)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 20 de ore
qHIV-1 LPC CONTROL + (control scăzut pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 20 de ore
qHIV-1 HPC CONTROL + (control ridicat pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 20 de ore
qHIV-1 PCAL (calibrator pozitiv)	Între -15°C și -35°C	Între 15°C și 30°C	Flacon de unică folosință A se utiliza în decurs de 20 de ore

^a La scoaterea reactivilor din sistemul Panther, aceștia trebuie readuși imediat la temperaturile corespunzătoare de depozitare.

- B. Eliminați orice reactivi reconstituiți și reactivul de capturare a analitului (TCR) nefolosiți după 30 de zile sau după data de expirare a lotului principal oricare dintre acestea survine mai întâi.
- C. Reactivii depozitați pe sistemul Panther au o stabilitate de 72 de ore în cadrul sistemului. Reactivii pot fi încărcăți în sistemul Panther de până la 5 ori. Sistemul Panther înregistrează fiecare încărcare a reactivilor.
- D. După decongelarea calibratorului, soluția trebuie să fie limpede, adică să nu fie tulbure și să nu prezinte precipitate.
- ⚠ E. Reactivul promotor și reactivul promotor reconstituit sunt fotosensibili. Protejați acești reactivi împotriva luminii în timpul păstrării și al pregătirii pentru utilizare.

Recoltarea și păstrarea eșantioanelor

Notă: Manipulați toate eșantioanele ca și cum ar conține agenți potențial infecțioși. Utilizați precauțiile universale.

Notă: Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a probelor. De exemplu, eliminați materialul utilizat fără a-l trece pe deasupra tuburilor deschise.

Notă: Pentru păstrare se recomandă doar tuburi secundare din plastic.

Pot fi utilizate eșantioane de sânge integral, prelevate în următoarele tuburi de sticlă sau plastic:

Pentru măsurători cantitative:

- Tuburi care conțin EDTA sau anticoagulanți cu acid citric, citrat de sodiu și dextroză (ACD)
- Tuburi de preparare a plasmei (PPT).

Pentru determinare calitativă:

- Tuburi care conțin EDTA sau anticoagulanți ACD sau
- PPT sau
- Tuburi de ser sau
- Tuburi separatoare de ser (SST).

Pentru ser, permiteți formarea coagulului înainte de o procesare ulterioară.

A. Prelevarea eșantioanelor

Sângele integral poate fi păstrat între 2°C și 30°C și trebuie centrifugat în decurs de 24 de ore de la prelevarea eșantionului. Separați plasma sau serul de globulele roșii peletizate, în conformitate cu instrucțiunile producătorului pentru tubul utilizat. Plasma sau serul pot fi testate pe sistemul Panther într-un tub primar sau transferate într-un tub secundar, cum ar fi tubul pentru părți alicote din eșantion Aptima. Pentru a obține volumul de reacție de 500 µl, volumul minim de plasmă sau ser pentru tuburile de recoltare primare este de maximum 1200 µl, iar pentru tuburile secundare, volumul minim este de 700 µl. Tabelul următor identifică cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar.

Tub (dimensiune și tip)	Volum mort pe Panther
Tub pentru părți alicote din probă (SAT) Aptima	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm cu gel	0,3 ml
16 x 100 mm cu gel	0,7 ml

Dacă nu sunt testate imediat, plasma și serul pot fi depozitate în conformitate cu specificațiile de mai jos. Dacă este transferată într-un tub secundar, plasma poate fi congelată la -20°C sau -70°C, iar serul poate fi congelat la -20°C. Nu depășiți trei cicluri de congelare-decongelare pentru a nu afecta rezultatul. Nu congelați eșantioanele în EDTA, ACD sau în tuburile de recoltare primare pentru ser.

B. Condiții de depozitare a eșantioanelor

1. Eșantioane de plasmă în EDTA și ACD

Pentru o perioadă de până la 24 de ore de la prelevarea eșantioanelor, tuburile primare care conțin plasmă centrifugată pot fi păstrate la o temperatură cuprinsă între 2°C și 30°C (Figura 1, caseta de sus). După 24 de ore, plasma poate fi păstrată pentru o perioadă mai lungă de timp în una dintre următoarele condiții (Figura 1, casetele de jos):

- În tubul de prelevare primar la o temperatură cuprinsă între 2°C și 8°C timp de până la 3 zile,
- În tubul secundar la 2°C până la 8°C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la -20°C până la -70°C timp de până la 90 zile.

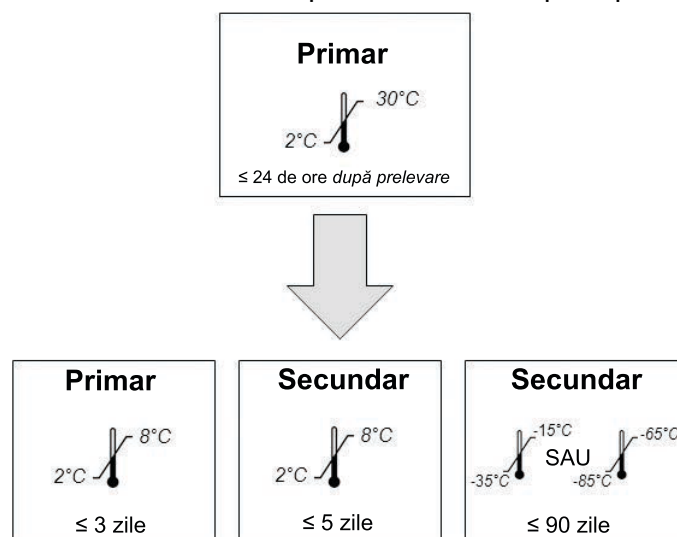


Figura 1. Condiții de păstrare pentru tuburile cu EDTA/ACD

2. Eșantioane PPT

Pentru o perioadă de până la 24 de ore de la prelevarea eșantioanelor, PPT-urile care conțin plasmă centrifugată pot fi păstrate la o temperatură cuprinsă între 2°C și 30°C (Figura 2, caseta de sus). După 24 de ore, plasma poate fi păstrată pentru o perioadă mai lungă de timp în una dintre următoarele condiții (Figura 2, casetele de jos):

- În PPT la 2°C până la 8°C timp de până la 3 zile,
- În tubul secundar la 2°C până la 8°C timp de până la 5 zile sau
- În tubul PPT sau secundar la -20°C până la -70°C timp de până la 90 zile.

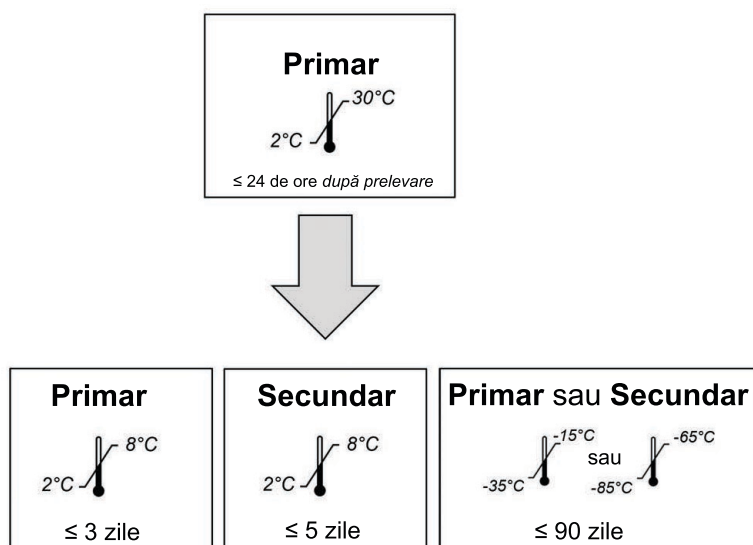


Figura 2. Condiții de păstrare pentru PPT-uri

3. Eșantioane în tuburi pentru ser

Pentru o perioadă de până la 24 de ore de la prelevarea eșantioanelor, tuburile pentru ser care conțin ser centrifugat pot fi păstrate la o temperatură cuprinsă între 2°C și 30°C (Figura 3, caseta de sus). După 24 de ore, serul poate fi păstrat pentru o perioadă mai lungă de timp în una dintre următoarele condiții (Figura 3, casetele de jos):

- În tubul pentru ser la 2°C până la 8°C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la 2°C până la 8°C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la o temperatură de -20°C timp de până la 7 de zile.

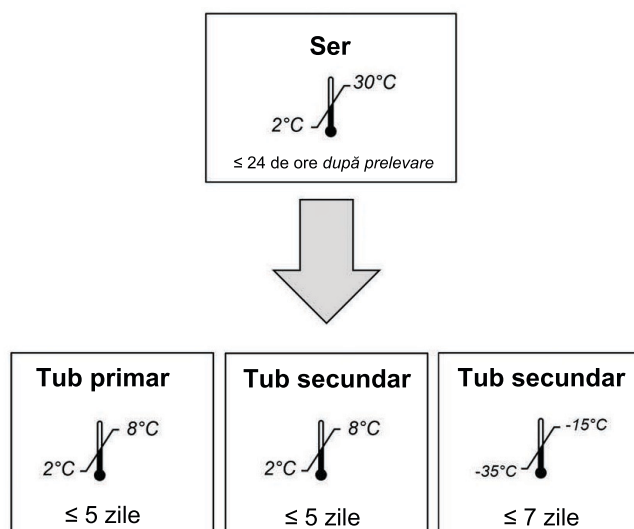


Figura 3. Condiții de păstrare pentru tuburile de ser

4. Eșantioane SST

Pentru o perioadă de până la 24 de ore de la prelevarea eșantioanelor, SST-urile care conțin ser centrifugat pot fi păstrate la o temperatură cuprinsă între 2°C și 30°C (Figura 4, caseta de sus). După 24 de ore, serul poate fi păstrat pentru o perioadă mai lungă de timp în una dintre următoarele condiții (Figura 4, casetele de jos):

- În SST la 2°C până la 8°C timp de până la 5 zile,
- În tubul secundar la 2°C până la 8°C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar sau SST la o temperatură de -20°C timp de până la 7 de zile.

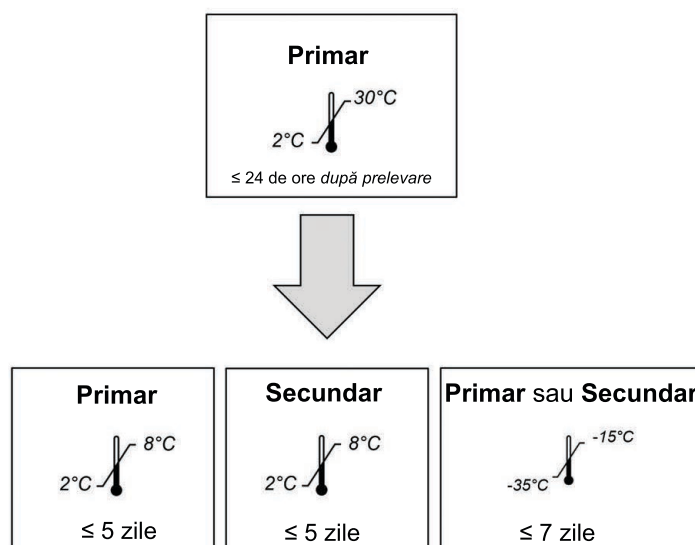


Figura 4. Condiții de păstrare pentru SST-uri

C. Diluarea eșantioanelor de plasmă

Un eșantion de plasmă poate fi diluat în SAT sau în tubul secundar pentru testare pe sistemul Panther. Consultați *Procedura de testare cu sistemul Panther*, pasul E.5 De mai jos pentru mai multe informații.

Notă: Dacă un eșantion este diluat, acesta trebuie testat imediat după diluare. Nu congelați un eșantion diluat.

⚠ *Diluarea eșantioanelor de plasmă poate fi utilizată numai pentru rezultate cantitative. Nu diluați probele de plasmă pentru rezultate de diagnosticare.*

Probe încărcate în sistemul Panther

Probele pot fi lăsate în sistemul Panther, fără capac, timp de până la 8 ore. Probele pot fi scoase din sistemul Panther și testate, atât timp cât timpul total pe sistem nu depășește 8 ore înainte de pipetarea probei prin intermediul sistemului Panther.

Transportarea eșantioanelor

Mențineți condițiile de păstrare a probelor descrise în *Recoltarea și păstrarea eșantioanelor*.

Notă: Eșantioanele trebuie expediate în conformitate cu reglementările naționale, internaționale și regionale aplicabile privind transportarea.

Sistem Panther®

Reactivii pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx sunt enumerați mai jos pentru sistemul Panther. De asemenea, simbolurile de identificare a reactivilor sunt menționate în dreptul denumirii reactivului.

Reactivi și materiale furnizate

Kit de teste Aptima HIV-1 Quant Dx, 100 teste, nr. cat. PRD-03000 (1 cutie de teste, 1 kit de calibrator și 1 kit de controale)

Pot fi comandate separat calibratoare și controale suplimentare. Consultați mai jos numerele de catalog respective.

Cutie de teste Aptima HIV-1 Quant Dx
(păstrați la 2°C – 8°C după primire)

Simbol	Componentă	Cantitate
A	Reactiv de amplificare qHIV-1 <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.</i>	1 flacon
E	Reactiv enzimatic qHIV-1 <i>Transcriptază inversă și polimerază ARN uscată în soluție tamponată HEPES.</i>	1 flacon
PRO	Reactiv promotor qHIV-1 <i>Acizi nucleici neinfecțioși uscați în soluție tamponată.</i>	1 flacon
AR	Soluție de reconstituire pentru amplificare qHIV-1 <i>Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Soluție de reconstituire pentru enzimă qHIV-1 <i>Soluție tamponată HEPES conținând surfactant și glicerol.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Soluție de reconstituire pentru promotor qHIV-1 <i>Soluție apoasă conținând glicerol și conservanți.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reactiv de captură a analitului qHIV-1 <i>Acizi nucleici într-o soluție salină tamponată conținând faza solidă, acizi nucleici neinfecțioși și calibrator intern.</i>	1 x 72,0 ml
	Manșoane pentru reconstituire	3
	Fișă cu codurile de bare ale lotului principal	1 pagină

Kit de calibrator Aptima HIV-1 Quant(nr. cat. PRD-03001)
(păstrați la -15°C – -35°C după primire)

Simbol	Componentă	Cantitate
PCAL	Calibrator pozitiv qHIV-1 <i>Transcripție în soluție tamponată.</i>	5 x 2,5 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru calibrator	—

Kit de controale Aptima HIV-1 Quant Dx (nr. cat. PRD-03002)
(păstrați la -15°C – -35°C după primire)

Simbol	Componentă	Cantitate
NC	Control negativ qHIV-1 <i>Plasmă umană defibrinată negativă HIV-1 conținând gentamicină și 0,2% azidă de sodiu cu rol de conservanți.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	Control scăzut pozitiv qHIV-1 <i>Armored RNA pentru HIV-1 neinfecțios în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și azidă de sodiu 0,2% cu rol de conservanți.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	Control ridicat pozitiv qHIV-1 <i>Armored RNA pentru HIV-1 neinfecțios în plasmă umană defibrinată conținând gentamicină și azidă de sodiu 0,2% cu rol de conservanți.</i>	5 x 1,5 ml
	Etichetă cu coduri de bare pentru control	—

Materiale necesare, însă disponibile separat

Notă: Materialele disponibile de la Hologic au numerele de catalog notate, cu excepția cazului în care se specifică altfel.

Material	Nr. cat.
Sistem Panther®	303095
Sistem Panther Fusion®	PRD-04172
Sistem Panther®, fluid continuu și reziduuri (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de controale Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Kit de calibrator Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Kit de procesare Panther pentru teste în timp real (numai pentru teste în timp real)	PRD-03455 (5000 de test)
<i>Kitul de lichide pentru testul Aptima® (cunoscut și drept Kit de lichide universale) conține soluție de spălare Aptima®, soluție-tampon pentru lichid de dezactivare Aptima® și reactiv ulei Aptima®</i>	303014 (1000 teste)
<i>Unități multitub (MTU-uri)</i>	104772-02
<i>Kit de pungi pentru reziduuri Panther</i>	902731
<i>Capac pentru coș de reziduuri Panther</i>	504405
Sau kit de procesare pentru sistem Panther <i>(la execuția testelor TMA nedesfășurate în timp real, în paralel cu testele TMA în timp real)</i> <i>conține MTU, pungi de reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri, auto detect și lichide pentru test</i>	303096 (5000 de teste)
Vârfuri, 1000 µl, filtrate, cu detectare de lichid, conductive și de unică folosință <i>Este posibil ca unele produse să nu fie disponibile în toate regiunile. Pentru informații specifice regiunii, contactați reprezentantul.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Înălțitor, soluție hipoclorit de sodiu între 5 și 8,25 % (0,7 M-1,16 M)	—
Mănuși de unică folosință, fără pudră	—
Capace de schimb nepenetrabile	103036A
Capace de schimb pentru reactivi <i>Sticle pentru reconstituirea reactivului de amplificare, enzimatic și promotor</i> <i>Sticlă TCR</i>	CL0041 (100 capace) CL0040 (100 capace)
Huse captușite cu plastic pentru masa de lucru din laborator	—
Șervețele fără fibre	—
Pipetor	—
Vârfuri	—
Opțiuni pentru tuburi de prelevare primare (ACD, EDTA, PPT, SST, ser): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifugă	—
Mixer cu turbionare	—

Materiale opționale

Material	Nr. cat.
Opțiuni pentru tuburi secundare:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tuburi pentru părți alicote din eșantion SAT Aptima® (pachet de 100 de bucăți)	FAB-18184
Capac pentru tub de transport (pachet de 100 de bucăți) capac pentru SAT	504415
Diluant pentru eșantioane Aptima®	PRD-03003
Kit de diluanți pentru eșantioane Aptima® conține diluant pentru eșantioane, 100 SAT-uri și 100 capace	PRD-03478
Pipete de transfer	—
Paneluri disponibile în comerț, de exemplu: HIV-1 de la Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) sau panel de studiu privind încărcătura virală HIV College of American Pathologists (CAP) sau paneluri HIV SeraCare ACCURUN	—
Bețișoare cu vârf de vată	
Huse căptușite cu plastic pentru masa de lucru	—
Agitator oscilant pentru tuburi	—

Procedura de testare cu sistemul Panther

Notă: Consultați Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion pentru informații suplimentare privind procedura.

A. Pregătirea zonei de lucru

1. Curățați suprafețele de lucru unde vor fi preparați reactivii. Ștergeți suprafețele de lucru cu soluție de hipoclorit de sodiu 2,5%–3,5% (0,35 M – 0,5 M). Lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să intre în contact cu suprafețele timp de cel puțin 1 minut, iar apoi clătiți cu apă deionizată (DI). Nu lăsați soluția de hipoclorit de sodiu să se usuce. Acoperiți suprafața bancului de lucru pe care vor fi pregătiți reactivii și probele cu huse pentru bancul de laborator căptușite cu plastic, absorbante, curate.
2. Curățați o suprafață de lucru separată, unde vor fi preparate probele. Utilizați procedura descrisă mai sus (pasul A.1).
3. Curățați toate pipetoarele. Utilizați procedura descrisă mai sus (pasul A.1).

B. Prepararea calibratorului și a controalelor

Lăsați calibratorul și controlul să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C înainte de procesare, după cum urmează:

1. Scoateți calibratorul și controalele din locul de păstrare (între -15°C și -35°C) și amplasați-le la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C. Pe tot parcursul procesului de decongelare, răsturnați ușor fiecare tub pentru o amestecare temeinică. Asigurați-vă că întregul conținut al tubului este decongelat înainte de utilizare.

Opțiune. Tuburile pentru calibrator și controalele pot fi plasate pe un agitator oscilant pentru tuburi, pentru o amestecare temeinică. Asigurați-vă că întregul conținut al tubului este decongelat înainte de utilizare.

Notă: *Evitați crearea de spumă excesivă la răsturnarea calibratorului și a controalelor. Spuma compromise detectarea nivelului de către sistemul Panther.*

2. După ce conținutul tubului s-a decongelat, uscați exteriorul tubului cu un șervețel de unică folosință, curat și uscat.
3. Pentru a preveni contaminarea, nu deschideți tuburile în acest moment.

C. Reconstituirea reactivului/Prepararea unui kit nou

Notă: *Reconstituirea reactivilor trebuie efectuată înainte de începerea oricăror activități pe sistemul Panther.*

1. Pentru pregătirea reactivului de capturare a analitului (TCR), efectuați următoarele acțiuni:
 - a. Scoateți TCR din locul de depozitare (2°C – 8°C). Verificați numărul de lot de pe flaconul cu TCR, pentru a vă asigura că acesta se potrivește cu numărul de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal.
 - b. Agitați imediat flaconul cu TCR de 10 ori, viguros. Lăsați flaconul cu TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, pentru a rămâne la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C. În această perioadă, rotiți și răsturnați flaconul cu TCR timp de cel puțin 10 minute.

Opțiune. Flaconul TCR poate fi pregătit pe un agitator oscilant pentru tuburi, urmând instrucțiunile de mai jos: Îndepărtați TCR din locul de depozitare (între 2°C și 8°C) și agitați imediat ferm de 10 ori. Amplasați flaconul cu TCR pe un agitator oscilant pentru tuburi și lăsați TCR să se încălzească timp de minimum 45 de minute, la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C.

- c. Asigurați-vă că tot precipitatul este în soluție și că particulele magnetice sunt suspendate înainte de utilizare.
2. Pentru reconstituirea reactivilor de amplificare, enzimatici și promotori, efectuați următoarele acțiuni:
 - a. Scoateți reactivii liofilizați și soluțiile de reconstituire corespunzătoare din locul de depozitare (între 2°C și 8°C). Asociați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul liofilizat al acesteia.
 - b. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare. Verificați numerele de lot de pe fișa cu codurile de bare ale lotului principal pentru a vă asigura că s-au împerecheat reactivii corespunzători.
 - i. Deschideți flaconul de reactiv liofilizat scoțând garnitura metalică și dopul din cauciuc.
 - ii. Introduceți cu fermitate capătul crestă al colierului de reconstituire (negru) pe flacon (Figura 5, Pasul 1).
 - iii. Deschideți flaconul aferent cu soluția de reconstituire și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, acoperită.
 - iv. Amplasați flaconul cu soluție de reconstituire pe o suprafață stabilă (de exemplu, masa de lucru). Apoi răsturnați flaconul de reactiv liofilizat peste flaconul cu soluție de reconstituire și fixați bine colierul pe flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Pasul 2).
 - v. Răsturnați lent flacoanele ansamblate (flacon atașat la flaconul cu soluție) pentru a permite scurgerea soluției în flaconul din sticlă (Figura 5, Pasul 3).

- vi. Ridicați flacoanele asamblate și rotiți-le timp de minimum 10 secunde (Figura 5, Pasul 4).
- vii. Așteptați cel puțin 30 de minute pentru ca reactivul liofilizat să pătrundă în soluție.
- viii. După pătrunderea reactivului liofilizat în soluție, rotiți ansamblul de flacoane timp de cel puțin 10 secunde și apoi oscilați ușor soluția în flaconul din sticlă înainte și înapoi, pentru o amestecare temeinică.
- c. Înclinați lent, din nou, ansamblul de flacoane, pentru a permite ca toată soluția să se scurgă înapoi în flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Pasul 5).
- d. Scoateți cu atenție colierul de reconstituire și flaconul din sticlă (Figura 5, Pasul 6).
- e. Puneți la loc capacul pe flacon. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe etichetă (Figura 5, Pasul 7).
- f. Aruncați colierul de reconstituire și fiola din sticlă (Figura 5, Pasul 8).

Avertisment: Evitați crearea de spumă excesivă în timpul reconstituirii reactivilor. Spuma compromise detectarea nivelului de către sistemul Panther.

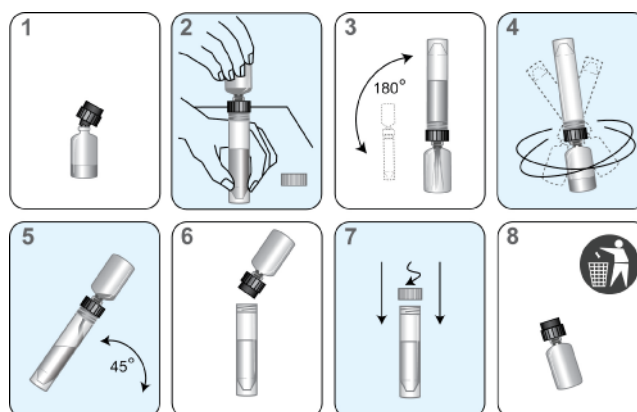


Figura 5. Procesul de reconstituire a reactivului

D. Prepararea reactivului pentru reactivi preparați anterior

1. Scoateți reactivii preparați anterior din locul de depozitare (2°C – 8°C).
2. Reactivii de amplificare, enzimatici, promotori și TCR pregătiți anterior trebuie să atingă 15°C – 30°C înainte de începerea testului.
3. Pentru TCR-ul preparat anterior, parcurgeți pașii C.1 de mai sus înainte de încărcarea pe sistem.
4. Rotiți și răsturnați reactivii de amplificare, enzimatici și promotori pentru o amestecare temeinică, înainte de încărcarea acestora pe sistem. Evitați crearea de spumă excesivă în timpul răsturnării reactivilor.
5. Nu umpleți recipientele cu reactiv până la refuz. Sistemul Panther va recunoaște și respinge flacoanele care au fost umplute până la refuz.

E. Manipularea eșantioanelor

1. Asigurați-vă că eșantioanele procesate din tuburile primare sau eșantioanele nediluate din tuburile secundare au fost păstrate în mod corespunzător, conform „Recoltarea și păstrarea eșantioanelor” la pagina 9.

2. Asigurați-vă că eșantioanele congelate sunt decongelate complet. Vortexați eșantioanele decongelate timp de 3 până la 5 secunde, pentru ca acestea să fie amestecate temeinic.
3. Lăsați eșantioanele să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15°C și 30°C, înainte de procesare. Consultați *Probe încărcate în sistemul Panther* pentru informații suplimentare de încărcare pe sistem.
4. Asigurați-vă că fiecare tub de recoltare primar conține până la 1200 µl de eșantion sau fiecare SAT conține cel puțin 700 µl de eșantion. Consultați tabelul furnizat în *Prelevarea eșantioanelor* la pagina 9 pentru a identifica cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar. Dacă este necesară diluarea eșantionului, consultați pasul E.5 de mai jos pentru informații suplimentare.
5. Diluați un eșantion 1:3 într-un SAT sau 1:100 într-un tub secundar.

Un eșantion de plasmă poate fi diluat într-un tub secundar pentru testare pe sistemul Panther.

- ⚠ Diluarea eșantioanelor de plasmă poate fi utilizată numai pentru rezultate cantitative. Nu diluați probele de plasmă pentru rezultate de diagnosticare.

Notă: Dacă un eșantion este diluat, acesta trebuie testat imediat după diluare.

a. Diluarea eșantioanelor cu volum redus

Volumul eșantioanelor de plasmă poate fi mărit până la volumul minim necesar (700 µl) utilizând diluantul pentru eșantioane Aptima. Eșantioanele cu cel puțin 240 µl de plasmă pot fi diluate cu două părți diluant pentru eșantioane (1:3), după cum urmează:

- i. Amplasați 240 µl de eșantion în SAT.
- ii. Adăugați 480 µl de diluant pentru eșantioane Aptima.
- iii. Acoperiți tubul cu un capac.
- iv. Răsturnați ușor de 5 ori pentru amestecare.

Eșantioanele diluate 1:3 pot fi testate utilizând opțiunea 1:3 pe sistemul Panther (consultați *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion* pentru mai multe informații). Software-ul va raporta automat rezultatul curat, prin aplicarea factorului de diluție. Aceste eșantioane vor fi marcate ca eșantioane diluate.

b. Diluarea eșantioanelor cu titru mare

Dacă rezultatul unui eșantion depășește limita superioară a cuantificării, acesta poate fi diluat cu 99 părți de diluant pentru eșantioane Aptima (1:100), după cum urmează:

- i. Amplasați 30 µl de eșantion în SAT sau într-un tub secundar.
- ii. Adăugați 2970 µl de diluant pentru eșantioane Aptima.
- iii. Acoperiți tubul cu un capac.
- iv. Răsturnați ușor de 5 ori pentru amestecare.

Eșantioanele diluate 1:100 pot fi testate utilizând opțiunea 1:100 pe sistemul Panther (consultați *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion* pentru mai multe informații). Software-ul va raporta automat rezultatul curat, prin aplicarea factorului de diluție. Aceste eșantioane vor fi marcate ca eșantioane diluate.

Notă: Pentru eșantioanele diluate cu concentrații pure mai mari decât ULoQ, rezultatele vor fi raportate utilizând notația științifică.

6. Chiar înainte de încărcarea eșantioanelor într-un stativ pentru probe, centrifugați fiecare eșantion la 1000–3000g timp de 10 minute. Nu scoateți capacele. Bulele din tub pot compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

Consultați *Pregătirea sistemului*, pasul F.2 De mai jos pentru informații despre încărcarea stativului și îndepărtarea capacelor.

F. Pregătirea sistemului

1. Configurați sistemul conform instrucțiunilor din *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion* și *Note privind procedura*. Asigurați-vă că s-au utilizat stativele pentru reactivi de dimensiuni corespunzătoare și adaptoarele TCR adecvate.
2. Încărcați probele în stativul pentru probe. Parcurgeți etapele următoare pentru fiecare tub pentru probe (eșantion și, dacă este necesar, calibrator și controale):
 - a. Desfaceți capacul unui tub pentru probe, dar nu-l îndepărtați încă.

Notă: Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor. Desfaceți ușor capacele de pe probe.

- b. Încărcați tubul pentru probe în stativul pentru probe.
- c. Repetați pașii 2.a și 2.b pentru fiecare probă rămasă.
- d. După încărcarea probelor în stativul pentru probe, scoateți și aruncați capacul fiecărui tub pentru probe dintr-un stativ pentru probe. Pentru a evita contaminarea, nu treceți niciun capac pe deasupra altor stative pentru probe sau tuburi pentru probe.
- e. Dacă este necesar, utilizați o pipetă de transfer de unică folosință nouă, pentru eliminarea oricăror bule sau a spumei.
- f. După îndepărtarea ultimului capac, încărcați stativul pentru probe în compartimentul de probe.

Notă: Dacă executați simultan teste și tipuri de probe diferite, securizați dispozitivul de fixare a probelor înainte de încărcarea stativului pentru probe în compartimentul de probe.

- g. Repetați pașii 2.a – 2.f pentru următorul stativ pentru probe.

Note privind procedura

A. Calibrator și controale

1. Tuburile de calibrator pozitiv qHIV-1, controlul scăzut pozitiv qHIV-1, control ridicat pozitiv qHIV-1 și control negativ qHIV-1 pot fi încărcate în orice poziție din stativul pentru probe și în orice compartiment de turbiprobe de pe sistemul Panther. Pipetarea eșantionului va începe în momentul în care este îndeplinită una dintre cele două condiții de mai jos:
 - a. Calibratorul și controalele sunt procesate în prezent de către sistem.
 - b. Pe sistem sunt înregistrate rezultate valide pentru calibrator și control.

2. De îndată ce tuburile pentru calibrator și tuburile pentru controale au fost pipetate și sunt în curs de procesare pentru un anumit kit de reactivi al testului Aptima HIV-1 Quant Dx, eșantioanele pot fi testate cu kitul asociat și reconstituit timp de maxim 24 de ore, **cu excepția cazului în care**:
 - a. Rezultatele calibratorului sau ale controalelor sunt nevalide.
 - b. Kitul asociat de reactivi ai testului este scos din sistem.
 - c. Kitul asociat de reactivi ai testului a depășit limitele de stabilitate.
 3. Calibratorul și fiecare tub de control pot fi utilizate o singură dată. Încercările de a folosi tubul de mai multe ori pot genera erori de procesare.
- B. Pudrarea mănușilor
- Ca în orice sistem cu reactiv, pudra în exces de pe anumite mănuși poate conduce la contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

Controlul calității

O procesare sau un rezultat al eșantionului poate fi invalidat(ă) de către un operator dacă sunt observate și documentate dificultăți de ordin tehnic legate de operator sau instrument pe parcursul efectuării testului. În acest caz, eșantioanele trebuie retestate.

Calibrarea testului

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie finalizată o calibrare a testului. Un singur calibrator pozitiv este procesat în triplicat, de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilită, calibrarea este valabilă până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când este necesară o calibrare. Operatorul scanează un coeficient de calibrare găsit în fișa cu codurile de bare ale lotului principal, furnizată cu fiecare kit de reactivi.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a calibratorului sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă sunt valabile mai puțin de două replicare ale calibratorului, software-ul invalidează automat rularea. Probele din orice procesare invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și controale proaspăt preparate.

Controale negative și pozitive

Pentru generarea unor rezultate valide, trebuie testat un set de controale ale testului. O replicare a controlului negativ, a controlului slab pozitiv și a controlului puternic pozitiv trebuie testate de fiecare dată când un kit de reactivi este încărcat pe sistemul Panther. Odată stabilite, controalele sunt valide până la 24 de ore. Software-ul sistemului Panther alertează operatorul atunci când sunt necesare controale.

În timpul procesării, criteriile de acceptare a controalelor sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Pentru a genera rezultate valide, substanța de control negativă trebuie să obțină un rezultat „Not Detected” („Nedetectat”), iar substanțele de control pozitive trebuie să obțină rezultate care să se încadreze în parametrii predefiniți. Dacă oricare dintre controale are un rezultat nevalid, software-ul invalidează automat procesarea. Probele din orice procesare invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și controale proaspăt preparate.

Calibrator intern/Control intern

Fiecare probă conține un calibrator intern/un control intern (IC). În timpul procesării, criteriile de acceptabilitate IC sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă un rezultat IC este nevalid, rezultatul probei este invalidat. Fiecare probă cu un rezultat IC nevalid trebuie retestată pentru a se obține un rezultat valid.

Software-ul sistemului Panther este conceput pentru a verifica cu exactitate procesele, atunci când procedurile sunt efectuate în conformitate cu instrucțiunile din acest prospect și din *Manualul operatorului pentru sistemul Panther/Panther Fusion*.

Interpretarea rezultatelor

Notă: Rezultatele cantitative ale testului Aptima HIV-1 Quant Dx au fost evaluate cu plasmă. Serul nu poate fi utilizat pentru a obține rezultate cantitative. Rezultatele calitative au fost evaluate atât cu plasmă, cât și cu ser.

Sistemul Panther determină automat concentrația de ARN HIV-1 pentru eșantioane și controale, prin compararea rezultatelor cu o curbă de calibrare. Concentrațiile de ARN HIV-1 sunt raportate în UI/ml și $\log_{10}$ copii/ml. Interpretarea rezultatelor este furnizată în Tabelul 1. Dacă este utilizată diluția 1:3 sau 1:100 pentru eșantioanele diluate, sistemul Panther calculează automat concentrația HIV-1 pentru eșantionul pur prin înmulțirea concentrației diluate cu factorul de diluție, iar probele diluate sunt marcate ca diluate.

Notă: Pentru eșantioanele diluate, rezultatele enumerate ca „Not Detected” („Nedetectat”) sau „<30 detected” („Detectat <30”) pot fi generate prin diluarea unui eșantion cu o concentrație mai mare, dar apropiată de LoD (limita de detecție) sau LLoQ (limita inferioară de cuantificare). Se recomandă recoltarea și testarea unui alt eșantion pur, dacă nu se obține un rezultat cantitativ.

Sistemul Panther nu oferă un rezultat calitativ (adică „Reactiv” sau „Nereactiv”) pentru utilizare în diagnosticare. Operatorul trebuie să interpreteze concentrația de ARN HIV-1 raportată într-un rezultat calitativ (Tabelul 1). Eșantioanele cu rezultate enumerate ca „Not Detected” („Nedetectat”) nu sunt reactive pentru ARN-ul HIV-1. Eșantioanele cu rezultate enumerate ca „<30 detected” („Detectat <30”) sau eșantioanele cu rezultate enumerate în intervalul liniar indică faptul că a fost detectat ARN HIV-1 și că aceste eșantioane sunt reactive pentru ARN-ul HIV-1.

Tabelul 1: Interpretarea rezultatelor

Rezultatul raportat al testului Aptima HIV-1 Quant Dx		Interpretarea concentrației de ARN HIV-1	Interpretarea calitativă de către utilizator a diagnosticării ^c
Copii/ml ^a	Valoare $\log_{10}$ ^b		
Not Detected	Not Detected	ARN HIV-1 nedetectat.	Nereactiv pentru ARN HIV-1
<30 detected ^e	<1,47	ARN-ul HIV-1 este detectat, dar la un nivel mai mic decât LLoQ.	Reactiv pentru ARN HIV-1
30 – 10.000.000	1,47 – 7,00	Concentrația de ARN HIV-1 se încadrează în intervalul liniar cuprins între 30 și 10.000.000 copii/ml.	Reactiv pentru ARN HIV-1
>10.000.000	>7,00	Concentrația de ARN HIV-1 este peste limita superioară de cuantificare (ULoQ).	Reactiv pentru ARN HIV-1
Invalid ^d	Invalid ^d	A existat o eroare la generarea rezultatului. Eșantionul trebuie retestat.	Nevalid

^a Factorul de conversie pentru copii în unități internaționale (UI) pentru AI 3-lea standard internațional pentru ARN HIV-1 (10/152) este 0,35 copii/UI.

^b Valoarea este trunchiată la două zecimale.

^c Poate fi făcută o interpretare a diagnosticării pe baza eșantioanelor de ser sau de plasmă care nu au fost diluate.

^d Rezultatele nevalide sunt afișate cu font de culoare albastră.

^e Cea mai mică valoare raportabilă a software-ului este de 30 de copii/ml. Cel mai mare LoD a testului este de 17,5 copii/ml pentru subtipul G. Pentru valorile LoD ale tuturor subtipurilor, consultați Tabelul 3. LoD utilizând AI 3-lea standard internațional al OMS (subtipul B) pentru ARN HIV-1 este de 12,1 copii/ml(consultați Tabelul 2).

Criteriile de acceptabilitate pentru fiecare dintre controalele testului Aptima HIV-1 Quant Dx sunt prezentate în Tabelul 2.

Notă: Intervalul de recuperare enumerat mai jos se modifică în funcție de valoarea atribuită fiecărui lot specific. Consultați concentrația atribuită de pe fișa de coduri de bare pentru control furnizată cu fiecare cutie de controale.

Tabelul 2: Criterii de acceptare pentru intervalul de recuperare pentru controalele testului Aptima HIV-1 Quant Dx

Componentă	Intervalul de recuperare pentru procesări valide
Control negativ	N/A
Control scăzut pozitiv	+/- 0,5 log ₁₀ copii/ml
Control ridicat pozitiv	+/- 0,5 log ₁₀ copii/ml

Limitări

- A. Utilizarea acestui test este limitată la personalul care a fost instruit cu privire la procedură. Nerespectarea instrucțiunilor din acest prospect poate duce la rezultate eronate.
- B. Rezultatele sigure depind de recoltarea, transportarea, păstrarea și procesarea adecvată a eșantioanelor.
- C. Acest test a fost validat pentru utilizare ca test cantitativ numai cu EDTA uman și plasmă ACD.
- D. Acest test a fost validat pentru utilizare ca test calitativ numai cu EDTA uman și plasmă ACD și ser.
- E. Deși rare, mutațiile din regiunile extrem de conservate ale genomului viral acoperite de primeri și/sau de sondele din testul Aptima HIV-1 Quant Dx pot determina cuantificarea insuficientă sau nedetectarea virusului.

Performanțe

Limita de detecție (LoD) utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1

Limita de detecție (LoD) este definită ca fiind concentrația de ARN HIV-1 care este detectată la o probabilitate de minimum 95% în conformitate cu CLSI EP17-A2 (39). LoD a fost determinat de paneluri de testare formate din diluții din AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1 (subtip B, cod NIBSC: 10/152) în plasmă negativă la HIV-1. Treizeci de replicări ale fiecărei diluții au fost rulate pe trei sisteme Panther folosind trei loturi de reactivi pentru un total de 90 de replicări pentru fiecare diluție. Conform CLSI EP17-A2, rezultatele din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație pentru limita de detecție preconizată sunt definite ca LoD și sunt prezentate în Tabelul 3. Prin analiza Probit, LoD pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx este de 12 copii/ml (35 UI/ml; 0,35 copii = 1 UI).

Tabelul 3: Limita de detecție a testului Aptima HIV-1 Quant Dx utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1

Limită de detecție previzionată	Concentrație (copii/ml)
10%	1,2
20%	1,6
30%	2,0
40%	2,5
50%	3,1
60%	3,8
70%	4,8
80%	6,2
90%	9,0
95%	12,1

Limita de detecție în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1

Pentru HIV-1 grupul M (subtipurile A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) și grupurile N și O, au fost create șapte panouri prin îmbogățirea fie cu virus HIV-1 cultivat, fie cu eșantioane clinice pozitive în plasmă umană negativă la HIV-1 (0–40 copii/ml). Fiecare membru al panelului a fost testat în 30 de replicări cu două loturi de reactivi pentru un total de 60 de replicări per membru al panelului. Atribuirea concentrației pentru eșantioanele clinice sau stocurile de virusuri cultivate a fost determinată utilizând un test de comparare. A fost efectuată analiza probit pentru a genera limitele de detecție previzionate 50% și 95%. Conform CLSI EP17-A2 (39), rezultatele din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație pentru limita de detecție previzionată sunt definite ca LoD și sunt prezentate în Tabelul 4.

Tabelul 4: Limita de detecție în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1

Subtip/Grup	Limită de detecție previzionată	Concentrație (copii/ml)
A	50%	3,0
	95%	12,3
CRF01_AE	50%	1,8
	95%	6,2
CRF02_AG	50%	3,4
	95%	15,4
C	50%	2,0
	95%	10,7
D	50%	3,7
	95%	14,0
F	50%	2,1
	95%	8,3
G	50%	3,1
	95%	17,5
N	50%	1,2
	95%	7,8
O	50%	1,8
	95%	8,0

Intervalul liniar

Intervalul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx a fost stabilit prin testarea unor paneluri formate din virus HIV-1 subtipul B cultivat diluat în plasmă umană negativă la HIV-1 în conformitate cu CLSI EP06-A (40). Concentrația panelurilor a variat între 1,30 și 7,30 log copii/ml. Testarea a fost efectuată pe șapte sisteme Panther cu două loturi de reactivi pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx. După cum se arată în Figura 6, testul Aptima Quant Dx a demonstrat liniaritate în intervalul testat.

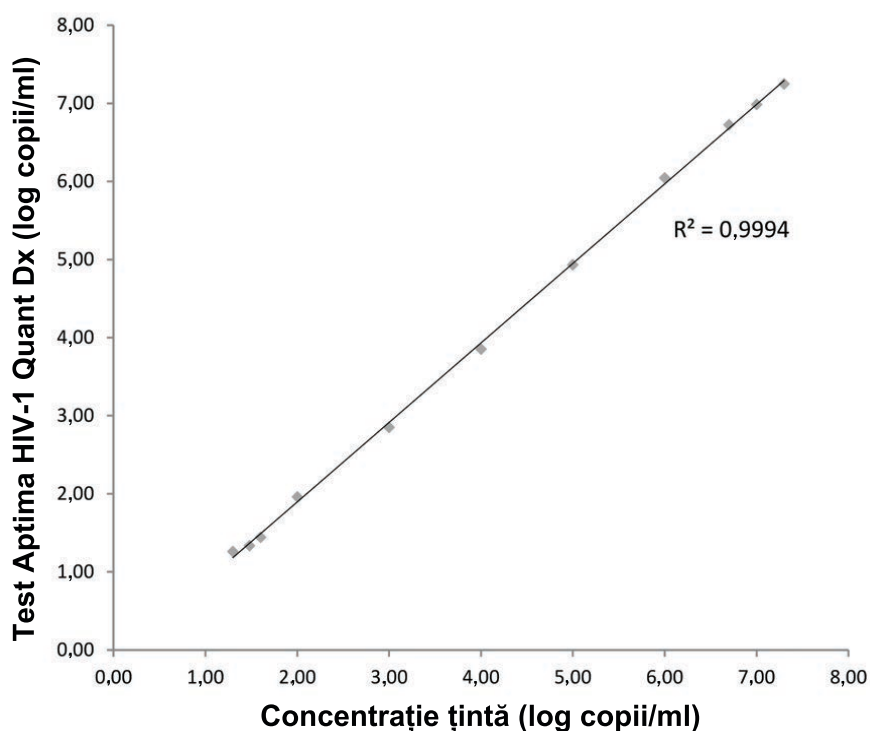


Figura 6. Liniaritatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx

Liniaritatea în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1

Răspunsul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx în grupul M (subtipurile A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) și în grupurile N și O a fost confirmat prin testarea panelurilor care constau în transcriptul de HIV-1 diluat în soluție-tampon la concentrații cuprinse între 2,00 și 6,70 log copii/ml. Testarea a fost efectuată pe patru sisteme Panther și șase curse. Liniaritatea a fost demonstrată în intervalul testat (Figura 7).

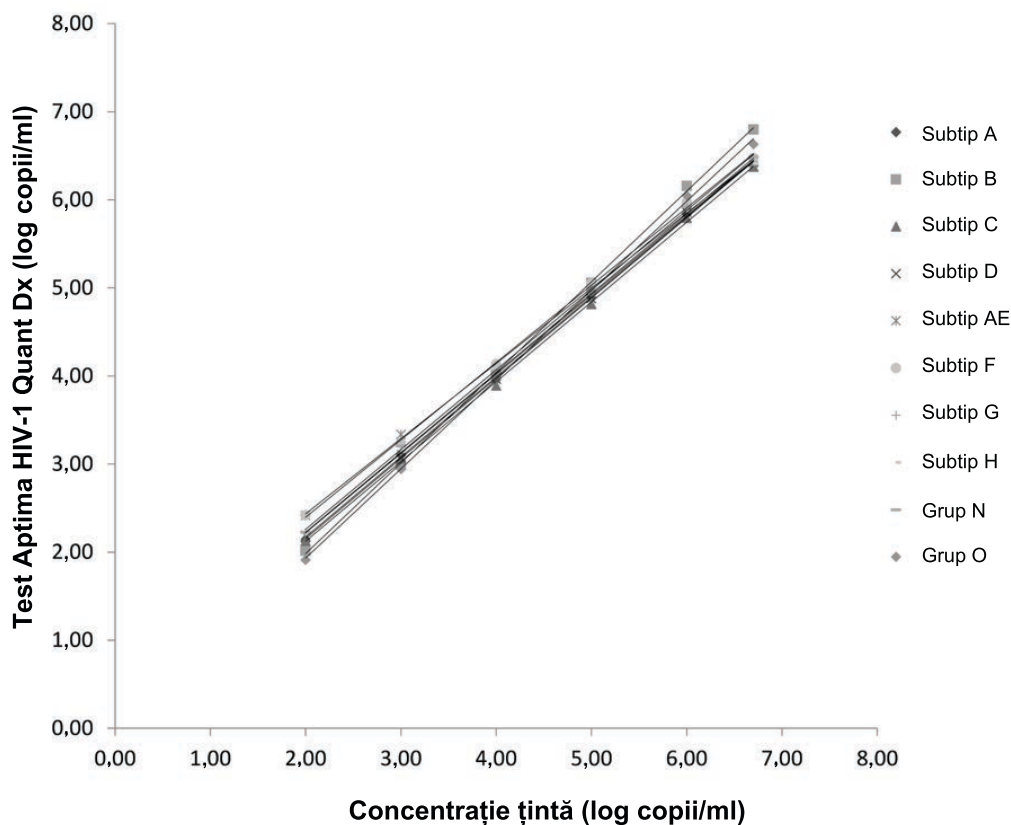


Figura 7. Liniaritatea între grupul M (subtipurile A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) și grupurile N și O

Limita inferioară de cuantificare utilizând AI 3-lea standard internațional al OMS pentru HIV-1

Limita inferioară de cuantificare (LLOQ) este definită drept cea mai scăzută concentrație la care ARN-ul HIV-1 este cuantificat în mod fiabil cu o eroare totală (TE) conform CLSI EP17-A2.39 TE a fost calculat utilizând modelul Westgard ($TE = |\text{eroarea sistematică}| + 2SD$). Pentru a asigura acuratețea și precizia măsurărilor, eroarea totală (TE) a testului Aptima HIV-1 Quant Dx a fost setată la 1 log copii/ml (adică, la LLOQ, diferența dintre două măsurători mai mare de 1 log copii/ml este semnificativă din punct de vedere statistic).

LLOQ fost determinat prin testarea de paneluri formate din diluții din AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1 (subtip B, cod NIBSC: 10/152) în plasmă negativă la HIV-1. Conform CLSI EP17-A2, panelurile au fost testate cu trei loturi de reactivi în replicări de 30 pentru fiecare lot din 23 de rulări. Rezultatele sunt prezentate în Tabelul 5. Cel mai mare LLOQ pentru cele trei loturi testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1 este de 15 copii/ml (1,17 log copii/ml; 42,9 UI/ml) (Tabelul 6).

Tabelul 5: Determinarea valorii LLOQ a testului Aptima HIV-1 Quant Dx utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1

Lot reactiv	Concentrație țintă (log copii/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log copii/ml)	SD (log copii/ml)	Eroare sistematică (log copii/ml)	TE calculat (log copii/ml)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

SD = deviație standard

Tabelul 6: Rezumatul LLoQ utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1 (3 loturi de reactivi)

Lot reactiv	LLoQ (log copii/ml)	LLoQ (copii/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verificarea LLoQ în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1

LLoQ în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1 a fost verificată în conformitate cu CLSI EP17-A2 (39). Panourile au fost realizate pentru fiecare grup M de HIV-1 (subtipurile A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) și pentru grupurile N și O prin îmbogățirea probelor compozită de plasmă umană negativă la HIV-1 cu probe clinice infectate natural sau cu izolate clinice. Testarea a constat într-un total de 30 de replicări pentru fiecare membru al panelului. Datele din Tabelul 7 prezintă cea mai mică concentrație pentru fiecare subtip sau grup la care TE a fost mai mic de 1 copie log/ml. Cea mai mare LLoQ pentru toate subtipurile și grupurile testate a fost de 30 copii/ml; prin urmare, această valoare mai mare a fost selectată ca LLoQ pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabelul 7: Verificarea LLoQ după subtipul sau grupul de HIV-1

Panel	LLoQ (copii/ml)
Subtip A	30
Subtip CRF01_AE	10
Subtip CRF02_AG	30
Subtip B	10
Subtip C	30
Subtip D	15
Subtip F	15
Subtip G	30
Grup N	10
Grup O	15

Precizia

Pentru a evalua precizia testului Aptima HIV-1 Quant Dx, un panel care a fost realizat prin îmbogățirea virusului HIV-1 de subtip B cultivat în plasmă negativă la HIV-1 a fost testat de trei operatori folosind trei loturi de reactivi pe trei sisteme Panther pe parcursul a 20 de zile (Tabelul 8). Grupul a fost format dintr-un membru negativ la HIV-1 și opt membri pozitivi la HIV-1. Atribuirea concentrației pentru eșantioanele clinice sau stocurile de virusuri cultivate a fost determinată utilizând un test de comparare.

Tabelul 8: Precizia testului Aptima HIV-1 Quant Dx

Număr de replicări valide	Concentrație medie (log copii/ml)	Între instrumente		Între operatori		Între loturi		Între rulări		În cadrul rulării		Total	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = coeficient de variație, SD = deviație standard

^aAcest membru al panelului a fost diluat 1:3 cu diluant de eșantioane și testat pentru a evalua precizia probei diluate.

Notă: Variabilitatea pentru unii factori poate fi negativă din punct de vedere numeric lucru valabil dacă variabilitatea este foarte scăzută din cauza factorilor respectivi. În acest caz, SD = 0 și CV = 0%. Numărul total de replicări testate a fost de 162 pentru fiecare panel; au fost analizate numai replicările cu o valoare numerică.

Substanțe cu potențial de interferență

A fost evaluată sensibilitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx la interferența generată de nivelurile ridicate de substanțe endogene și de medicamentele prescrise frecvent persoanelor infectate cu HIV-1. Au fost testate probe de plasmă negative la HIV-1 și probe îmbogățite la o concentrație de 3 log copii/ml a ARN-ului HIV-1.

Nu s-a observat nicio interferență în performanțele testului Aptima HIV-1 Quant Dx în prezența albuminei (90 mg/ml), a hemoglobinei (5 mg/ml), a trigliceridelor (30 mg/ml) sau a bilirubinei neconjugate (0,2 mg/ml).

Nu s-a observat nicio interferență în performanțele testului Aptima HIV-1 Quant Dx în prezența substanțelor exogene enumerate în Tabelul 9 la concentrații de cel puțin de trei ori mai mari decât $C_{\max}$ (plasmă umană).

Tabelul 9: Substanțe exogene

Grup de substanțe exogene	Substanțe exogene testate
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesilat, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapină, efavirenz, rilpivirină, claritromicină, amfotericină B
3	Tenofovir disoproxil fumarat, adefovir dipivoxil, ribavirină, enfuvirtid, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Sulfat de abacavir, didanosină, zidovudină, lamivudină, stavudină, entecavir, telbivudină, emtricitabină
5	Paroxetină HCl, fluoxetină, sertralină
6	Ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, rifampină/rifampicină, etambutol
7	Ciprofloxacină, azitromicină, amoxicilină, cefalexină, ampicilină, trimetoprim
8	Clorhidrat de valganciclovir, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Interferon alfa -2b pegilat, interferon alfa -2a, interferon alfa -2b
10	Heparină, EDTA, citrat de sodiu
11	Tipranavir
12	Isoniazid

Eșantioanele de plasmă clinică enumerate în Tabelul 10 de la pacienți cu niveluri crescute de substanțe definite sau de la pacienți cu bolile enumerate au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx cu și fără prezența a 3 copii log de ARN HIV-1. Nu a fost observată nicio interferență în performanțe.

Tabelul 10: Tipuri de eșantioane clinice testate

Tipuri de eșantioane clinice	
1	Factor reumatoid (RF)
2	Anticorp antinuclear (ANA)
3	Anticorpul Anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lupus eritematos sistemic (LES)
5	Artrită reumatoidă (AR)
6	Scleroză multiplă (MS)
7	Hiperglobulinemie
8	Alanin aminotransferază (ALT) crescută
9	Ciroză alcoolică (AC)
10	Mielom multiplu (MM)
11	Lipemic (lipide crescute)
12	Icteric (bilirubină crescută)
13	Hemolizat (hemoglobină crescută)
14	Albumină proteică crescută
15	Anticorpi pentru HCV
16	Anticorpi pentru HBV
17	Anticorpi pentru HIV-2

Specificitatea

Specificitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx a fost determinată folosind 120 de eșantioane de plasmă negative la HIV-1 proaspete și 510 congelate și folosind 120 de eșantioane de ser negative la HIV-1 proaspete și 510 congelate. Toate rezultatele au fost nereactive (specificitate de 100%; CI 95%: 99,4%–100%).

Tabelul 11: Specificitatea în eșantioane de plasmă și de ser

	Plasmă proaspătă	Plasmă congelată	Total plasmă	Ser proaspăt	Ser congelat	Total ser
Replicări valide (n)	120	510	630	120	510	630
Nereactiv	120	510	630	120	510	630
Specificitate (CI 95%)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)

CI = interval de încredere

Specificitatea analitică

Reactivitatea încrucișată potențială la agenții patogeni (Tabelul 12) a fost evaluată în testul Aptima HIV-1 Quant Dx în prezența sau absența a 3 copii log/ml de ARN HIV-1 în plasmă negativă la HIV-1. Nu s-a observat nicio interferență în performanțele testului în prezența agenților patogeni.

Tabelul 12: Agenți patogeni testați pentru specificitatea analitică

Agent patogen	Concentrație
Virusul hepatitei A	100.000 UFP/ml ^a
Virusul hepatitei B	100.000 UI/ml ^b
Virusul hepatitei C	100.000 UI/ml
Virusul hepatitei G	100.000 copii/ml
Virusul Herpes simplex de tip 1 (HSV-1)	100.000 UFP/ml
Virusul Herpes simplex de tip 2 (HSV-2)	75.000 UFP/ml
Virusul herpetic uman tip 6	100.000 copii/ml
Virusul herpetic uman tip 8	42.000 UFP/ml
HIV-2	5.500 UFP/ml
Virusul T-limfotrop ic uman (HTLV)	100.000 pv/ml ^c
Virusul West Nile	100.000 copii/ml
Parvovirus B19	100.000 UI/ml
Citomegalovirus	100.000 copii/ml
Virusul Epstein-Barr	100.000 copii/ml
Adenovirus de tip 5	100.000 UFP/ml
Virusul dengue	100.000 copii/ml
Virusul gripei tip A	100.000 UFP/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 UFC/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 UFC/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 UFC/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 UFC/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300.000 UFI/mL ^e
<i>Candida albicans</i>	1.000.000 UFC/ml

^a UFP/ml = unități formatoare de placă per ml.

^b UI/ml = unități internaționale per ml.

^c pv/mL = particule virale per ml.

^d UFC/ml = unități formatoare de colonii per ml.

^e UFI/ml = unități formatoare de incluziuni per ml.

Repetabilitatea eșantioanelor clinice

Zece probe de plasmă clinică au fost testate în trei replicări utilizând testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Concentrația medie și deviația standard sunt prezentate în Tabelul 13.

Tabelul 13: Repetabilitatea eșantioanelor clinice

Eșantion	Concentrație medie (log copii/ml)	SD
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00

Diluarea probelor utilizând diluant pentru eșantioane

Pentru a evalua diluarea probelor, un panel format din 11 probe cu concentrații care acopereau intervalul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx și format din două probe peste limita superioară de cuantificare a testului au fost testate în stare pură și diluate (1:3 sau 1:100 în diluant pentru eșantioane) în triplicat (Tabelul 14).

Tabelul 14: Diluția probelor

Diluție	Concentrație medie pură (log copii/ml)	Concentrație medie raportată ^a (log copii/ml)	Diferență
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^b	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

^a Concentrația raportată este valoarea raportată de sistemul Panther după aplicarea factorului de diluție

^b Eșantion îmbogățit

^c Toate rezultatele >7,00 log UI/ml au fost estimate utilizând analiză suplimentară

Corelația metodei

Performanțele testului Aptima HIV-1 Quant Dx au fost evaluate pe baza unui test comparator cu marcaj CE prin testarea de eșantioane clinice nediluate de la pacienți infectați cu HIV-1 pe patru sisteme Panther folosind două loturi de reactivi. Un total de 342 de probe de plasmă congelată și 108 de probe de plasmă proaspătă cu rezultate cuantificabile atât în testul Aptima HIV-1 Quant Dx, cât și în testul comparator au fost utilizate pentru regresia liniară (Figura 8). Eșantioanele au inclus HIV-1 din grupul M (subtipurile A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).

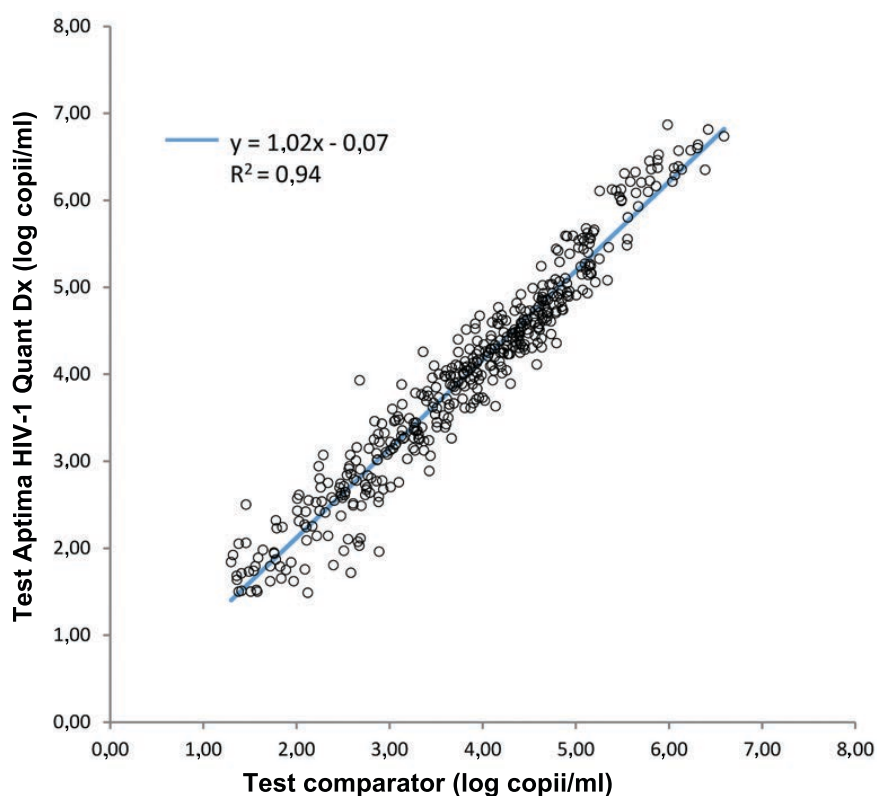


Figura 8. Corelația dintre testul Aptima HIV-1 Quant Dx și testul comparator

Acordul de diagnosticare

Pentru a evalua acordul de diagnosticare, s-au testat eșantioane de la persoane pozitive la HIV-1 utilizând testul Aptima HIV-1 Quant Dx și un test calitativ comparator pentru HIV-1 cu marcaj CE: 414 eșantioane au avut rezultate valide (Tabelul 15). Rezultatele pentru ambele teste au fost clasificate după cum urmează. Orice rezultat care obține un rezultat cuantificabil sau detectabil a fost clasificat drept „Detected” („Detectat”). Orice rezultat al țintei care nu a fost detectat a fost clasificat drept „Target Not Detected” („Țintă nedetectată”).

Tabelul 15: Acordul de diagnosticare între testul Aptima HIV-1 Quant Dx și testul comparator

		Test Aptima HIV-1 Quant Dx	
		Detected	Target Not Detected
Test comparator	Detected	214	0
	Target Not Detected	0	200

Transferul (Carryover-ul)

Pentru a determina dacă sistemul Panther minimizează riscul de rezultate fals pozitive generate în urma contaminării prin transfer (carryover), s-a efectuat un studiu analitic desfășurat în cadrul a mai multor procesări utilizând paneluri îmbogățite pe două sisteme Panther. Transferul (carryover-ul) a fost evaluat utilizând probe îmbogățite de HIV-1 cu titru ridicat (7 log copii/ml) intercalate între probe negative la HIV-1 într-un format în „tablă de șah”. Testarea a fost efectuată în mai mult de cinci rulări. Rata globală de transfer (carryover) a fost de 0% (n=469).

Panelul de seroconversie

Nouăsprezece seturi de paneluri de seroconversie HIV-1, formate din 204 probe, au fost testate cu ajutorul testului Aptima HIV-1 Quant Dx. Detectarea ARN HIV-1 a fost comparată cu detectarea cu teste pentru antigenul p24 și cu teste pentru anticorpi anti-HIV-1/2. Numărul de zile până la primul rezultat reactiv utilizând testele pentru antigenul p24, testele pentru anticorpii anti-HIV 1/2 și testul Aptima HIV-1 Quant Dx este specificat în Tabelul 16. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx a detectat ARN HIV-1 cu o medie de 5,58 și 11,16 zile înainte de testele pentru antigenul p24 și pentru anticorpii anti-HIV 1/2.

Tabelul 16: Rezumatul datelor panelului de seroconversie

ID panel	Număr de membri testați ai panelului	Număr de membri reactivi ai panelului			Zile până la primul rezultat reactiv			Diferența în zile până la primul rezultat reactiv (în funcție de data recoltării sângelui)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigen HIV p24	Anticorp Anti-HIV 1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigen HIV p24	Anticorp Anti-HIV 1/2	Nr. zile detectare mai devreme decât antigenul HIV p24	Nr. zile detectare mai devreme decât anticorpul anti-HIV 1/2
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Total		204	82	51	20	Medie		5,58	11,16
						Mediană		7	12

^a Toate recoltările de sânge din acest panel au fost nereactive pentru anticorp anti-HIV-1/2. Ultima zi de recoltare a sângelui a fost utilizată ca „Zile până la primul rezultat reactiv”.

Testarea pentru anticorpi anti-HIV-1/2 Testarea a fost finalizată cu testul Abbott Anti-HIV 1/2, cu următoarele excepții:

^b Panelurile PRB974, PRB975 și PRB978 au fost testate cu testul Siemens Anti-HIV 1/2 test.

Testarea pentru antigen p24 HIV-1 a fost finalizată cu Coulter HIV-1 p24 Ag, cu următoarele excepții:

^c Panelurile PRB974, PRB975 și PRB978 au fost testate cu testul BioMérieux p24 Ag test.

Studiu de echivalență ser- plasmă

Pentru a evalua echivalența, au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx seturi potrivite de ser și plasmă (25 pozitive la HIV-1 și 25 negative la HIV-1) și 40 de probe care au fost îmbogățite cu HIV-1 cultivat (50–1.000.000 copii/ml în plasmă și ser pozitive la HIV-1). Acordul negativ a fost de 100,0% (CI 95%: 97,0%–100,0%). Acordul pozitiv a fost de 98,4% (CI 95%: 95,4%-99,5%).

Bibliografie

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziou, W. Rozenbaum, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
9. Gaines, H., M. A. von Sydow, and L. V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B., and D. A. Cooper. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H. C. Lane. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. Coffin, J. M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton. 1996. 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.* **334**:426–431.

24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696-703.
25. Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn. 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704-712.
26. Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer. 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557-2564.
27. Schochetman, G., and J. R. George, ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok. 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292-300.
29. Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea. 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172-1179.
30. van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens. 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177-187.
31. **31. Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
32. **32. Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner.** 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639-2642.
33. Gill, P. and Ghaemi, A. 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224-43.
34. Hill, C. 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Rev. Mol. Diagn.* **1**(4): 445-455.
35. **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.
36. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); versiunea curentă.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
39. **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.
40. **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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Pentru adresa de e-mail și numărul de telefon ale Serviciului de asistență tehnică și de asistență pentru clienți specifice fiecărei țări, accesați www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther, Panther/Panther Fusion, TMA și siglele asociate sunt mărci comerciale sau mărci comerciale înregistrate ale Hologic, Inc. și/sau ale filialelor sale din Statele Unite și/sau din alte țări.

Armored RNA este o marcă comercială a Asuragen, Inc.

Toate celelalte mărci comerciale care apar în acest prospect aparțin proprietarilor respectivi.

Este posibil ca acest produs să fie acoperit de unul sau mai multe brevete S.U.A. identificate la adresa www.hologic.com/patents.

© 2014-2024 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.
AW-11853-3101 Rev. 001
2024-09