

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Istruzioni per l'uso
Per uso diagnostico *in vitro*
Solo per l'esportazione dagli USA

Informazioni generali	3
Uso previsto	3
Sintesi e spiegazione dell'analisi	3
Principi della procedura	4
Riepilogo di sicurezza e prestazioni	5
Avvertenze e precauzioni	5
Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti	9
Raccolta e conservazione dei campioni biologici	10
Campioni caricati sul Panther System	13
Trasporto dei campioni biologici	13
Panther System	14
Reagenti e materiali forniti	14
Materiali richiesti ma disponibili separatamente	16
Materiali opzionali	17
Procedura di analisi del Panther System	17
Note procedurali	22
Controllo della qualità	23
Calibrazione del test	23
Controlli positivi e negativi	23
Calibratore interno/Controllo interno	23
Interpretazione dei risultati	24
Limitazioni	26
Prestazioni analitiche	27
Limite di rilevamento (LoD) utilizzando il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1	27
Limite di rilevamento tra sottotipi e gruppi di HIV-1	28
Range lineare	29
Linearità tra sottotipi e gruppi di HIV-1	30
Determinazione del limite inferiore di quantificazione con il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1	31
Verifica LLoQ tra sottotipi e gruppi di HIV-1	32
Precisione	33
Sostanze endogene ed esogene potenzialmente interferenti	34
Prestazioni con campioni negativi all'HIV-1	36
Contaminanti microbici potenzialmente interferenti	36
Ripetibilità dei campioni clinici	38
Diluizione dei campioni con il diluente per campioni biologici	39
Contaminazione crociata	39
Pannello di sieroconversione	40
Studio sull'equivalenza di siero e plasma	41
Studi sulla riproducibilità	41

Prestazioni cliniche	44
Convalida della quantificazione della carica virale	44
Studi sulla specificità clinica	45
Studi sulla sensibilità clinica	45
Positività in campioni sierodiscordanti	46
Bibliografia	47
Recapiti e cronologia delle revisioni	49

Informazioni generali

Uso previsto

Il test Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay è un test di amplificazione dell'acido nucleico in vitro per il rilevamento e la quantificazione del virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1), gruppi RNA M, N e O sul Panther™ System interamente automatizzato. È destinato a essere utilizzato come ausilio nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, come conferma dell'infezione da HIV-1 e come ausilio nella gestione clinica dei pazienti infetti da HIV-1.

Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay può essere utilizzato come ausilio nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, inclusa l'infezione acuta o primaria. La presenza di RNA dell'HIV-1 nel plasma o nel siero di pazienti senza anticorpi anti-HIV-1 è indicativa di un'infezione acuta o primaria da HIV-1. L'Aptima HIV-1 Quant Dx Assay può essere utilizzato come test supplementare per i campioni che hanno risultati reattivi ripetuti con immunodosaggi HIV approvati. Se il campione è reattivo nell'Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, l'infezione da HIV-1 è confermata.

Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay può inoltre essere utilizzato in combinazione con la presentazione clinica e altri marker di laboratorio per la prognosi della malattia nelle persone affette da HIV-1. Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay può essere utilizzato come supporto nel monitoraggio dell'effetto del trattamento antiretrovirale mediante la misurazione delle modifiche nella concentrazione di RNA dell'HIV-1 nel plasma.

Quando il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay viene utilizzato come supporto nella diagnosi dell'infezione da HIV-1, le prestazioni per i risultati qualitativi vengono stabilite con campioni di plasma e siero.* Quando utilizzato come supporto nel monitoraggio dell'effetto della terapia antiretrovirale, le prestazioni per i risultati quantitativi vengono stabilite esclusivamente con campioni di plasma. I campioni di siero non possono essere utilizzati per risultati quantitativi.

Questo esame non è destinato all'uso nello screening dei donatori di sangue o plasma.

**Con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, è anche possibile utilizzare campioni biologici per il test DBS (Dried blood spot - Goccia di sangue essiccato). Per una descrizione dettagliata dell'uso previsto e per informazioni sui campioni biologici per DBS, consultare il supplemento dedicato al metodo Dried Blood Spot nel foglietto illustrativo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.*

Sintesi e spiegazione dell'analisi

Studi epidemiologici hanno identificato il virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1 (HIV-1) come l'agente eziologico della sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS) (1-7). L'HIV può essere trasmesso per contatto sessuale, esposizione a sangue o emoderivati infetti o attraverso la trasmissione da madre a figlio (8). Entro 3-6 settimane dall'esposizione all'HIV, gli individui infetti generalmente sviluppano una breve sindrome acuta caratterizzata da sintomi simil-influenzali ed è associata ad alti livelli di viremia nel sangue periferico (9-12). Nella maggior parte degli individui infetti, questa fase iniziale è seguita da una risposta immunitaria specifica per l'HIV e da un declino della viremia plasmatica, solitamente entro 4-6 settimane dall'esordio dei sintomi (13-14). Dopo la sierconversione, gli individui infetti entrano tipicamente in una fase clinicamente stabile e asintomatica che può durare anni (15-17). Il periodo asintomatico è caratterizzato da viremia plasmatica persistente e di basso livello (18) e una progressiva deplezione dei linfociti T CD4+. Tale deplezione porta a grave immunodeficienza, molteplici infezioni opportunistiche, tumori maligni e morte (19). Sebbene i livelli di virus nel sangue periferico siano relativamente bassi durante la fase asintomatica dell'infezione, la replica e l'eliminazione del virus sembrano essere processi dinamici in cui gli elevati tassi di produzione

del virus e di infezione delle cellule CD4+ sono bilanciati da tassi altrettanto elevati di eliminazione del virus, morte delle cellule infette e rifornimento di cellule CD4+, con conseguenti livelli relativamente stabili sia di viremia plasmatica sia di cellule CD4+ (20-22).

Misurazioni quantitative dell'HIV nel sangue periferico hanno dimostrato che livelli più elevati di virus possono essere correlati con un aumento del rischio di progressione clinica della malattia associata all'HIV e hanno inoltre dimostrato che riduzioni dei livelli di virus nel plasma possono essere associate a un ridotto rischio di progressione clinica (23-25). I livelli del virus nel sangue periferico possono essere quantificati mediante misurazione dell'antigene HIV p24 nel siero, mediante coltura quantitativa dell'HIV dal plasma o mediante misurazione diretta dell'RNA virale nel plasma utilizzando tecnologie di amplificazione dell'acido nucleico o di amplificazione del segnale (26-30).

Tecniche molecolari quali l'amplificazione mediata da trascrizione (Transcription Mediated Amplification, TMA) sono state ampiamente utilizzate per amplificare gli acidi nucleici (31). La TMA utilizza la cattura specifica del target e l'amplificazione isotermica per rilevare gli acidi nucleici in molteplici malattie infettive, tra cui CT, NG, HPV, TV e HIV/HCV/HBV per i test sui donatori di sangue (32).

Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, attraverso la TMA, utilizza diversi primer lunghi che mirano diverse regioni del genoma dell'HIV-1, al fine di compensare l'elevato tasso di mutazione dell'HIV-1. Il test include sistemi di amplificazione e rilevamento a doppio target, che prendono di mira due regioni del genoma dell'HIV-1 (pol e LTR) in modo indipendente. Il software del test non calcola la media dei segnali provenienti dai due sistemi.

Il sistema a doppio target Aptima è progettato per aumentare le possibilità di rilevare e quantificare accuratamente i campioni.

Principi della procedura

Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay comprende tre fasi principali che sono tutte compiute all'interno di un'unica provetta sul Panther System: cattura del target, amplificazione del target mediante Amplificazione mediata da trascrizione (Transcription Mediated Amplification, TMA) e rilevamento dei prodotti di amplificazione (amplicone) mediante sonde marcate con composti fluorescenti (torce).

Durante la cattura del target, gli acidi nucleici virali vengono isolati dai campioni biologici. Il campione biologico viene trattato con un detergente per solubilizzare l'envelope virale, denaturare le proteine e rilasciare l'RNA genomico virale. Gli oligonucleotidi di cattura ibridizzano con le regioni altamente conservate del genoma dell'HIV-1, se presente, nel campione biologico analizzato. Il target ibridizzato viene successivamente catturato su microparticelle magnetiche che sono separate dal campione biologico in un campo magnetico. Le fasi di lavaggio servono a rimuovere i componenti esterni dalla provetta di reazione.

L'amplificazione del target avviene tramite TMA, che è un metodo di amplificazione degli acidi nucleici mediato da trascrizione che utilizza due enzimi, la trascrittasi inversa del virus della leucemia murina di Moloney (MMLV) e la polimerasi dell'RNA T7. La trascrittasi inversa viene usata per generare una copia di DNA (contenente una sequenza promotrice della polimerasi dell'RNA T7) della sequenza target. La polimerasi dell'RNA T7 produce copie multiple dell'amplicone dell'RNA dal modello della copia di DNA. Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay utilizza il metodo TMA per amplificare due regioni dell'RNA dell'HIV-1 (pol e LTR). Un segnale indipendente viene generato dall'amplificazione di ciascuna regione utilizzando primer specifici, progettati per amplificare i gruppi M, N e O dell'HIV-1.

Il rilevamento si ottiene utilizzando torce di acido nucleico monofilamento presenti durante l'amplificazione di ciascun target, che si ibridizzano specificamente con gli ampliconi in tempo reale. Ogni torcia presenta un fluoroforo e un quencher. Quando la torcia non viene ibridizzata con l'amplicone, il quencher è in stretta prossimità del fluoroforo e sopprime la fluorescenza. Quando la torcia si lega all'amplicone, il quencher viene allontanato dal fluoroforo ed emetterà un segnale a una specifica lunghezza d'onda quando eccitato da una sorgente luminosa. Quando più torce ibridizzano con l'amplicone, viene generato un segnale fluorescente più elevato. Il tempo impiegato dal segnale fluorescente di ciascun target per raggiungere una soglia specificata ("tTime") è proporzionale alla concentrazione iniziale di HIV-1. Ogni reazione presenta un calibratore interno/controllo interno (IC) che controlla le potenziali variazioni nel trattamento, nell'amplificazione e nel rilevamento del campione biologico. La concentrazione di un campione viene quindi calcolata utilizzando tTime per l'amplificazione di pol e LTR tramite il software del Panther System. Attraverso il suo algoritmo e il confronto con le informazioni di calibrazione memorizzate, il software del Panther System restituisce un singolo risultato clinicamente convalidato per ciascun campione.


Riepilogo di sicurezza e prestazioni

La SSP (Sintesi relativa alla sicurezza e alla prestazione) è disponibile nella banca dati europea dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegato agli identificativi del dispositivo (UDI-DI di base). Per individuare la SSP relativa al test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, fare riferimento all'identificativo unico del dispositivo di base (Basic Unique Device Identifier - BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Avvertenze e precauzioni

- A. Per uso diagnostico *in vitro*.
- B. Per uso professionale.
- C. Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay non è destinato all'uso come test di screening per rilevare la presenza dell'HIV-1 nel sangue donato.
- D. Al fine di ridurre il rischio di risultati non validi, leggere attentamente l'intero foglietto illustrativo e il *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion™ System* prima di eseguire questo test.

Informazioni pertinenti al laboratorio

- E.  **ATTENZIONE:** i controlli di questo test contengono plasma umano. Il plasma è negativo all'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAg), agli anticorpi anti-HCV, agli anticorpi anti-HIV-1 e anti-HIV-2 e all'antigene dell'HIV quando analizzato con le procedure autorizzate dalla US Food and Drug Administration. Inoltre, il plasma non è reattivo all'RNA dell'HCV e all'RNA dell'HIV-1 quando analizzato con test degli acidi nucleici autorizzati che utilizzano campioni combinati in pool. Tutti i materiali provenienti da sangue umano devono essere considerati potenzialmente infettivi ed essere maneggiati nel rispetto delle Precauzioni universali (33-35).
- F. Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura. Se si verifica un versamento, disinfettare immediatamente seguendo le procedure del centro appropriate.

- G. Utilizzare solo contenitori da laboratorio monouso forniti o indicati in modo specifico come monouso.
- H. Adottare le consuete precauzioni di laboratorio. Non pipettare con la bocca. Non mangiare, bere né fumare nelle aree di lavoro designate. Quando si maneggiano campioni biologici e reagenti del kit, indossare guanti monouso senza talco, occhiali protettivi e camici da laboratorio. Lavarsi accuratamente le mani dopo aver maneggiato campioni e reagenti del kit.
- I. Le superfici di lavoro, le pipette e le altre apparecchiature devono essere decontaminate regolarmente con una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5-3,5% (da 0,35 M a 0,5 M).
- J. Smaltire tutti i materiali che sono entrati in contatto con campioni e reagenti in conformità alle normative locali in vigore (33-36). Pulire e disinfettare accuratamente tutte le superfici di lavoro.
- K. I controlli contengono azoturo di sodio come conservante. Non utilizzare tubi metallici per il trasferimento dei reagenti. Se soluzioni contenenti composti dell'azoturo di sodio vengono smaltite in un sistema idraulico, devono essere diluite e risciacquate con abbondanti quantità di acqua corrente. Queste precauzioni sono consigliate per evitare l'accumulo di depositi nelle tubazioni metalliche in cui potrebbero svilupparsi condizioni esplosive.
- L. Le buone pratiche standard per i laboratori molecolari includono il monitoraggio ambientale. Per monitorare l'ambiente di un laboratorio, si consiglia la seguente procedura.
 - 1. Munirsi di un bastoncino di ovatta e abbinarlo a una provetta per aliquota di campione Aptima® (SAT).
 - 2. Etichettare in maniera appropriata ogni SAT.
 - 3. Riempire ogni SAT con 1 ml di diluente dei campioni Aptima®.
 - 4. Per raccogliere i campioni dalle superfici, inumidire leggermente un bastoncino di ovatta con acqua deionizzata priva di nucleasi.
 - 5. Passare il bastoncino di ovatta sulla superficie di interesse con un movimento verticale dall'alto verso il basso. Ruotare il bastoncino di ovatta di circa mezzo giro mentre lo si passa sulla superficie.
 - 6. Collocare immediatamente nella provetta il bastoncino con il campione e roteare delicatamente il bastoncino nel diluente per estrarre gli eventuali materiali prelevati. Premere il bastoncino sul lato della provetta di trasporto per fare fuoriuscire quanto più liquido possibile. Gettare il bastoncino e tappare la provetta.
 - 7. Ripetere queste fasi per i rimanenti bastoncini con i campioni.
 - 8. Analizzare il bastoncino con il test molecolare.

Informazioni pertinenti ai campioni

- M. I campioni biologici potrebbero essere infettivi. Nell'eseguire questo test, adottare le precauzioni universali (33-35). Metodi adeguati di manipolazione e smaltimento devono essere stabiliti dal direttore del laboratorio (36). Solo il personale adeguatamente formato nell'utilizzo del test Aptima HIV-1 Dx Assay e nella manipolazione di materiali potenzialmente infettivi deve eseguire questa procedura.
- N. Mantenere le corrette condizioni di conservazione durante la spedizione del campione biologico per assicurarne l'integrità. La stabilità del campione biologico in condizioni di spedizione diverse da quelle raccomandate non è stata determinata.




- O. Evitare la contaminazione crociata durante i procedimenti di manipolazione dei campioni biologici. Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol quando si allentano o si tolgono i tappi dei contenitori dei campioni biologici. I campioni possono contenere livelli di organismi estremamente alti. Assicurarsi che i contenitori dei campioni biologici non vengano in contatto tra di loro ed eliminare i materiali usati senza farli passare sopra i contenitori aperti. Cambiare i guanti se vengono a contatto con i campioni biologici.

Informazioni pertinenti al test

- P. Risultati quantitativi del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sono stati valutati con il plasma. Il siero non può essere utilizzato per ottenere risultati quantitativi. I risultati qualitativi sono stati valutati sia con il plasma sia con il siero. L'uso di questo kit di test con campioni diversi da quelli specificatamente approvati per l'uso con questo kit di test può produrre risultati del test imprecisi.
- Q. Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stato validato clinicamente utilizzando l'algoritmo nel software del Panther System. Il risultato convalidato da refertare viene fornito dal software del Panther System nella schermata Risultati e nel report dei risultati.
- R. Non utilizzare il kit di reagenti, il calibratore o i controlli dopo la data di scadenza.
- S. Non scambiare, mescolare o combinare reagenti del test provenienti da kit con numeri di lotto master diversi. I liquidi del test possono avere numeri di lotto diversi. I controlli e il calibratore possono avere numeri di lotto diversi.
- T. Evitare la contaminazione microbica e da nucleasi dei reagenti.
- U. Tappare e conservare tutti i reagenti del test alle temperature specificate. Le prestazioni dell'esame possono essere compromesse dall'uso di reagenti di test conservati in modo inappropriato. Consultare *Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti e Materiali opzionali* per maggiori informazioni.
- V. Non combinare reagenti o liquidi dell'esame senza istruzioni specifiche. Non rabboccare i flaconi di reagenti o liquidi. Il Panther System verifica i livelli dei reagenti.
- W. Alcuni reagenti del kit riportano delle indicazioni di pericolo sulle rispettive etichette.

Nota: le informazioni relative alle comunicazioni correlate alle indicazioni di pericolo utilizzano le classificazioni delle schede di sicurezza (SDS) dell'UE. Per informazioni relative alle indicazioni di pericolo specifiche della propria nazione, fare riferimento alla scheda SDS specifica nella Raccolta delle schede di sicurezza all'indirizzo www.hologicds.com. Per ulteriori informazioni sui simboli, fare riferimento alla legenda dei simboli all'indirizzo www.hologic.com/package-inserts.

Informazioni sui rischi per l'UE	
—	Amplification Reagent Magnesium Chloride 60–65%
—	H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

<p>—</p>	<p>Enzyme Reagent HEPES 1–5% Triton X-100 1–5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p>—</p>	<p>Enzyme Reconstitution Reagent Glicerina 20–25% Triton X-100 5–10% HEPES 1–5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p>—</p>	<p>Promoter Reagent Magnesium Chloride 60–65%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<p>—</p>	<p>Target Capture Reagent HEPES 15–20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5% Succinic Acid 1–5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.</p>
<div data-bbox="305 1276 410 1381"></div> <div data-bbox="305 1409 410 1514"></div> <div data-bbox="305 1541 410 1646"></div>	<p>HIV VL Kit Controls Human Serum/Human Plasma 95–100% Azoturo di sodio <1%</p> <p>PERICOLO H300 - Letale se ingerito. H410 - Molto tossico per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P264 - Lavare accuratamente viso, mani ed eventuale superficie cutanea esposta dopo l'uso. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P301 + P310 - IN CASO DI INGESTIONE: contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. P321 - Trattamento specifico (vedere le istruzioni supplementari per il primo soccorso su questa etichetta). P330 - Sциacquare la bocca. P391 - Raccogliere il materiale fuoriuscito.</p>


—	HIV VL Kit Calibrators HEPES 15–20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10% Lithium Hydroxide Monohydrate 1–5% Succinic Acid 1–5%
—	H412 - Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. P273 - Non disperdere nell'ambiente. P501 - Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto di smaltimento approvato.

Requisiti di conservazione e manipolazione dei reagenti

- A. La seguente tabella mostra le condizioni di conservazione e la stabilità di reagenti, controlli e calibratore.

Reagente	Conservazione a confezione chiusa	Kit aperto (ricostituito)	
		Conservazione	Stabilità
Reagente di amplificazione qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione e amplificazione qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
Reagente enzimatico qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione enzimatica qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
Reagente promotore qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C		
Soluzione di ricostituzione promotore qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
Reagente di cattura del target qHIV-1	Da 2 °C a 8 °C	Da 2 °C a 8 °C	30 giorni ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (controllo negativo)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 20 ore
qHIV-1 LPC CONTROL + (controllo positivo basso)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 20 ore
qHIV-1 HPC CONTROL + (controllo positivo alto)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 20 ore
qHIV-1 PCAL (calibratore positivo)	Da -15 °C a -35 °C	Da 15 °C a 30 °C	Fiala monouso Utilizzare entro 20 ore

^a Quando i reagenti vengono rimossi dal Panther System, devono essere immediatamente riportati alle loro temperature di conservazione appropriate.

- B. Smaltire qualsiasi reagente ricostituito inutilizzato e il reagente di cattura del target (TCR) dopo 30 giorni o dopo la data di scadenza del lotto master, a seconda di quale data cada per prima.
- C. I reagenti conservati sul Panther System sono stabili per 72 ore quando sono conservati sullo strumento. I reagenti possono essere caricati nel Panther System fino a 8 volte. Il Panther System registra ogni volta che i reagenti vengono caricati.
- D. Dopo lo scongelamento del calibratore, la soluzione deve essere trasparente, ossia non torbida o con precipitati.
- E.  Il reagente promotore e il reagente promotore ricostituito sono fotosensibili. Proteggere questi reagenti dalla luce durante la conservazione e la preparazione per l'uso.

Raccolta e conservazione dei campioni biologici

Nota: maneggiare tutti i campioni biologici come se contenessero agenti potenzialmente infettivi. Adottare le precauzioni universali.

Nota: Prestare attenzione a evitare la contaminazione crociata durante le fasi di manipolazione dei campioni. Ad esempio, smaltire il materiale utilizzato senza farlo passare sulle provette aperte.

Nota: Per la conservazione si raccomandano solo provette secondarie in plastica.

È possibile utilizzare i campioni di sangue intero raccolti nelle seguenti provette di vetro o di plastica:

Per misurazioni quantitative:

- Provette contenenti EDTA o acido citrico-citrato-destrosio (ACD) come anticoagulanti oppure
- Provette di preparazione del plasma (PPT).

Per la determinazione qualitativa:

- Provette contenenti anticoagulanti EDTA o ACD oppure
- Provette di preparazione del plasma (PPT) oppure
- Provette con siero oppure
- Provette con separatore di siero (SST)

Per il siero, consentire la formazione del coagulo prima dell'ulteriore trattamento.

A. Raccolta dei campioni biologici

Il sangue intero può essere conservato a una temperatura compresa fra 2 °C e 30 °C e deve essere centrifugato entro 24 ore dalla raccolta del campione biologico. Separare il plasma o il siero dal pellet di globuli rossi seguendo le istruzioni del fabbricante della provetta utilizzata. Il plasma o il siero possono essere analizzati sul Panther System direttamente da provetta primaria o essere trasferiti in una provetta secondaria. Per ottenere il volume di reazione di 500 µL, il volume minimo suggerito di plasma o di siero per le provette di raccolta primarie è fino a 1.200 µL, mentre per le provette secondarie il volume minimo è 700 µL. La seguente tabella identifica i requisiti di volume morto per ciascun tipo di provetta primaria e secondaria:

Provetta (dimensioni e tipo)	Volume morto sul Panther System
Provetta per aliquota di campione (SAT) Aptima	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13x100 mm con gel	0,3 ml
16 x 100 mm con gel	0,7 ml

Se non analizzati immediatamente, il plasma o il siero possono essere conservati in conformità alle specifiche riportate in basso. Se trasferito in una provetta secondaria, il plasma può essere congelato a -20 °C o -70 °C e il siero può essere congelato a -20 °C. Non superare i tre cicli di congelamento-scongelo per evitare di influenzare il risultato. Non congelare i campioni in provette di raccolta primarie contenenti EDTA, ACD o siero.

B. Condizioni di conservazione dei campioni biologici

1. Campioni di plasma con EDTA e ACD

Fino a 24 ore dopo la raccolta del campione, le provette primarie contenenti plasma centrifugato possono essere conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (Figura 1, riquadro superiore). Dopo 24 ore, il plasma può essere conservato per un periodo di tempo più lungo in una delle seguenti condizioni (Figura 1, riquadri inferiori):

- Nella provetta di raccolta primaria a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 3 giorni.
- Nella provetta secondaria a 2-8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella provetta secondaria a -20 °C o -70 °C per un periodo massimo di 90 giorni.

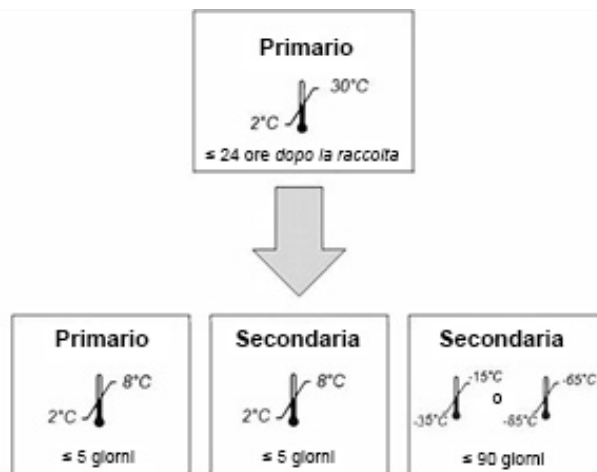


Figura 1. Condizioni di conservazione per le provette contenenti EDTA/ACD

2. Campioni nelle PPT

Fino a 24 ore dopo la raccolta del campione, le provette primarie contenenti plasma (PPT) centrifugato possono essere conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (Figura 2, riquadro superiore). Dopo 24 ore, il plasma può essere conservato per un periodo di tempo più lungo in una delle seguenti condizioni (Figura 2, riquadri inferiori):

- Nella PPT a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 3 giorni
- Nella provetta secondaria a 2-8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella PPT o nella provetta secondaria a -20 °C o -70 °C per un periodo massimo di 90 giorni

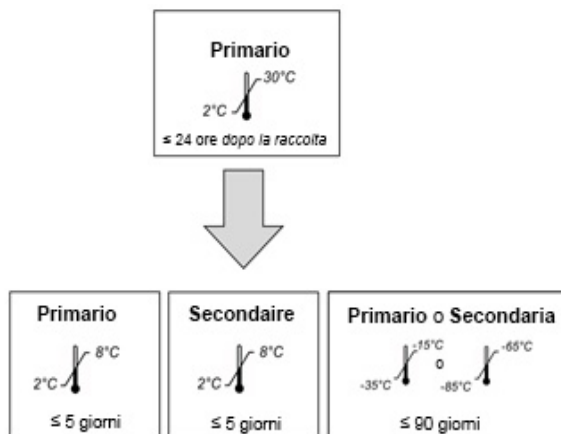


Figura 2. Condizioni di conservazione per le PPT

3. Campioni biologici in provette con siero

Fino a 24 ore dopo la raccolta del campione, le provette di siero contenenti siero centrifugato possono essere conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (Figura 3, riquadro superiore). Dopo 24 ore, il siero può essere conservato per un periodo di tempo più lungo in una delle seguenti condizioni (Figura 3, riquadri inferiori):

- Nella provetta di siero a 2-8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella provetta secondaria a 2-8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella provetta secondaria a -20 °C per un periodo massimo di 90 giorni

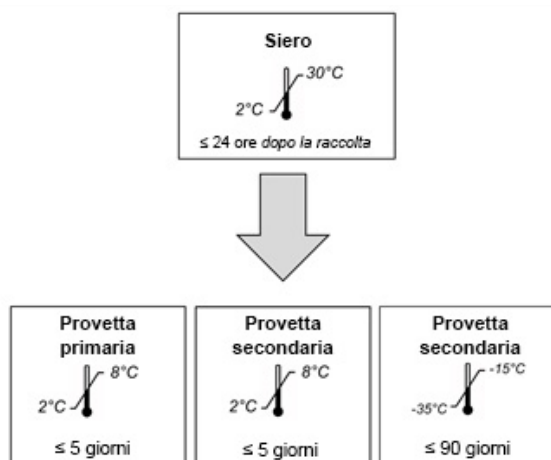


Figura 3. Condizioni di conservazione delle provette contenenti siero

4. Campioni biologici nelle SST

Fino a 24 ore dopo la raccolta del campione, le SST contenenti siero centrifugato possono essere conservate a una temperatura compresa tra 2 °C e 30 °C (Figura 4, riquadro superiore). Dopo 24 ore, il siero può essere conservato per un periodo di tempo più lungo in una delle seguenti condizioni (Figura 4, riquadri inferiori):

- Nella SST a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella provetta secondaria a 2-8 °C per un periodo massimo di 5 giorni oppure
- Nella provetta secondaria a -20 °C per un periodo massimo di 90 giorni

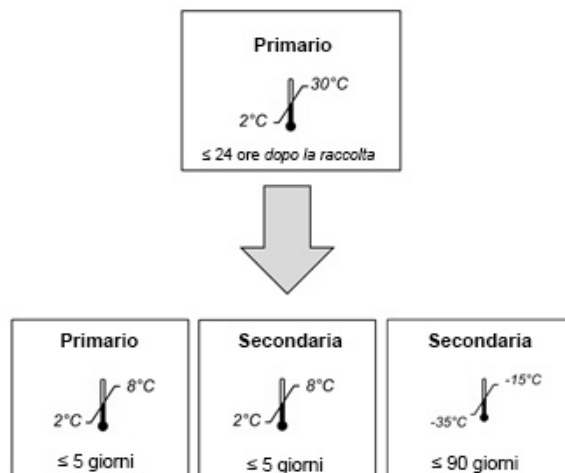


Figura 4. Condizioni di conservazione delle SST

C. Diluizione dei campioni di plasma

Nota: Un campione di plasma può essere diluito nella SAT o nella provetta secondaria per l'analisi con il Panther System. Consultare Procedura di analisi del Panther System, Passaggio E.4 per maggiori informazioni.

Nota: Se un campione biologico viene diluito, deve essere analizzato subito dopo la diluizione. Non congelare un campione biologico diluito.



Nota: La diluizione dei campioni di plasma può essere effettuata unicamente per ottenere risultati quantitativi. Non diluire campioni di plasma per ottenere risultati diagnostici.

Campioni caricati sul Panther System

I campioni estratti possono essere lasciati sul Panther System senza tappo per un periodo massimo totale di 8 ore. I campioni possono essere rimossi dal Panther System ed essere analizzati a condizione che il tempo totale di permanenza sullo strumento non superi le 8 ore prima del pipettaggio del campione da parte del Panther System.

Trasporto dei campioni biologici

Mantenere le condizioni di conservazione dei campioni come descritto in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.

Nota: I campioni biologici devono essere spediti in conformità alle normative sul trasporto nazionali, internazionali e regionali applicabili.

Panther System

Sono elencati di seguito i reagenti del test Aptima HIV-1 Quant Assay per il Panther System. Accanto al nome di ciascun reagente è indicato anche il rispettivo simbolo di identificazione.

Reagenti e materiali forniti

Kit del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

100 test (1 kit del test, 1 kit calibratore e 1 kit dei controlli) (n. cat. PRD-03000)

Calibratori e controlli aggiuntivi possono essere ordinati separatamente.
Consultare i relativi numeri di catalogo di seguito.

Kit del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

(alla consegna, conservare tra 2 °C e 8 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
A	Reagente di amplificazione qHIV-1 <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	1 fiala
E	Reagente enzimatico qHIV-1 <i>Transcriptasi inversa e polimerasi dell'RNA essiccate in soluzione tamponata HEPES.</i>	1 fiala
PRO	Reagente promotore qHIV-1 <i>Acidi nucleici non infettivi essiccati in soluzione tamponata.</i>	1 fiala
AR	Soluzione di ricostituzione e amplificazione qHIV-1 <i>Soluzione acquosa contenente glicerina e conservanti.</i>	1 x 7,2 ml
ER	Soluzione di ricostituzione enzimatica qHIV-1 <i>Soluzione tamponata con HEPES contenente un tensioattivo e glicerolo.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	Soluzione di ricostituzione promotore qHIV-1 <i>Soluzione acquosa contenente glicerina e conservanti.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	Reagente di cattura del target qHIV-1 <i>Acidi nucleici in una soluzione salina tamponata contenente acidi nucleici non infettivi in fase solida e il calibratore interno.</i>	1 x 72,0 ml
	Collari per ricostituzione	3
	Foglio dei codici a barre dei lotti master	1 scheda

Kit calibratore Aptima HIV-1 Quant Dx (N. cat. PRD-03001)
(alla consegna, conservare tra -15 °C e -35 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
PCAL	Calibratore positivo qHIV-1 <i>Trascritto in soluzione tamponata.</i>	5 x 2,5 ml
	Etichetta del codice a barre del calibratore	—

Kit dei controlli Aptima HIV-1 Quant Dx (N. cat. PRD-03002)
(alla consegna, conservare tra -15 °C e -35 °C)

Simbolo	Componente	Quantità
NC	Controllo negativo qHIV-1 <i>Plasma umano defibrinato negativo all'HIV-1 contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti</i>	5 x 1,5 ml
LPC	Controllo positivo basso qHIV-1 <i>Armored RNA (con rivestimento protettivo) dell'HIV-1 non infettivo in plasma umano defibrinato contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	Controllo positivo alto qHIV-1 <i>Armored RNA (con rivestimento protettivo) dell'HIV-1 non infettivo in plasma umano defibrinato contenente gentamicina e azoturo di sodio allo 0,2% come conservanti.</i>	5 x 1,5 ml
	Etichetta dei codici a barre dei controlli	—

Materiali richiesti ma disponibili separatamente

Nota: Salvo altrimenti specificato, per i materiali resi disponibili da Hologic sono indicati i rispettivi numeri di catalogo.

Materiale	N. Cat.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Smaltimento continuo di liquidi e rifiuti Panther System (Panther Plus)	PRD-06067
Kit del calibratore Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Kit dei controlli Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Kit sessione analitica Panther™ System per test in tempo reale (esclusivamente per test in tempo reale)	PRD-03455 (5000 test)
Kit di liquidi per test Aptima® (noto anche come kit dei liquidi universali) <i>contiene soluzione di lavaggio Aptima®, tampone per liquido di disattivazione Aptima® e reagente oleoso Aptima®</i>	303014 (1000 test)
<i>Unità multiprovetta (MTU)</i>	104772-02
Kit dei sacchetti di rifiuti Panther™	902731
Coperchio del contenitore di rifiuti Panther™	504405
Oppure kit procedurale Panther™ System <i>(durante l'esecuzione di test TMA non in tempo reale in parallelo con test TMA in tempo reale) contiene MTU, sacchetti di rifiuti, coperchi del contenitore di rifiuti, rilevamento automatico e liquidi per test</i>	303096 (5000 test)
Puntali da 1000 µL con filtro, conduttivi, rilevatori di liquido e monouso <i>Non tutti i prodotti sono disponibili in tutte le regioni geografiche. Contattare il rappresentante per informazioni specifiche sulla regione.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Candeggina, soluzione di ipoclorito di sodio al 5-8,25% (da 0,7 M a 1,16 M)	—
Guanti monouso senza talco	—
Tappi di ricambio per reagenti <i>Flaconi di soluzione di ricostituzione e di reagenti di amplificazione, enzimatici e promotori</i> <i>Flacone TCR</i>	CL0041 (100 tappi) CL0040 (100 tappi)
Teli da banco di laboratorio plastificati	—
Panni che non lasciano pelucchi	—
Pipettatore	—
Puntali	—
Opzioni provetta di raccolta primaria (EDTA, ACD, PPT, SST, siero): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifuga	—
Miscelatore vortex	—

Materiali opzionali

Materiale	N. Cat.
Opzioni provetta secondaria:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Provette per aliquota di campione (SAT) Aptima (confezione da 100)	FAB-18184
Tappo per provette di trasporto (confezione da 100)	504415
<i>tappo per SAT</i>	
Diluente dei campioni Aptima	PRD-03003
Kit diluente dei campioni Aptima	PRD-03478
<i>contiene diluente per campioni, 100 SAT e 100 tappi</i>	
Pipette di trasferimento	—
Pannelli disponibili in commercio; ad esempio:	—
<i>HIV-1 di Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) oppure</i>	
<i>Pannello di indagine sulla carica virale dell'HIV del College of American</i>	
<i>Pathologists (CAP) oppure Pannelli ACCURUN HIV di SeraCare</i>	
Bastoncini di ovatta	—
Agitatore oscillante per provette	PRD-03488

Procedura di analisi del Panther System

Nota: Per ulteriori informazioni procedurali, consultare il Manuale per l'operatore del Panther/ Panther Fusion System.

A. Preparazione dell'area di lavoro

1. Pulire le superfici di lavoro dove verranno preparati i reagenti. Passare sulle superfici di lavoro una soluzione di ipoclorito di sodio al 2,5 – 3,5% (0,35 – 0,5 M). Lasciare la soluzione di ipoclorito di sodio a contatto con le superfici per almeno 1 minuto, quindi risciacquare con acqua deionizzata (DI). Non lasciare asciugare la soluzione di ipoclorito di sodio. Coprire la superficie del banco sul quale verranno preparati reagenti e campioni con teli da banco di laboratorio puliti, assorbenti e plastificati.
2. Pulire una superficie di lavoro separata su cui preparare i campioni. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A)1.
3. Pulire eventuali pipettatori. Utilizzare la procedura descritta in precedenza (passaggio A)1.

B. Preparazione del calibratore e dei controlli

Consentire al calibratore e ai controlli di raggiungere una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C prima del trattamento, come indicato di seguito:

1. Togliere il calibratore e i controlli dal luogo in cui sono conservati (a una temperatura compresa fra -15 °C e -35 °C) e porli a una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C. Durante l'intero processo di scongelamento, capovolgere delicatamente ciascuna provetta per miscelarla accuratamente. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Opzione. Le provette di calibratore e controlli possono essere collocate su un agitatore oscillante per essere miscelate accuratamente. Assicurarsi che il contenuto delle provette sia completamente scongelato prima di utilizzarlo.

Nota: *Non generare schiuma eccessiva quando si capovolgono calibratore e controlli. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento dei livelli nel Panther System.*

2. Quando il contenuto della provetta si è scongelato, asciugare l'esterno della provetta con un panno monouso pulito e asciutto.
3. Per prevenire la contaminazione, non aprire le provette.

C. Ricostituzione del reagente/preparazione di un nuovo kit

Nota: *Eseguire la ricostituzione dei reagenti prima di iniziare qualsiasi lavoro sul Panther System.*

1. Per preparare il reagente di cattura del target (TCR), procedere nel modo seguente:
 - a. Rimuovere il TCR dal luogo in cui è conservato (a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C). Controllare il numero di lotto sul flacone del TCR per assicurarsi che corrisponda al numero di lotto riportato sulla scheda del codice a barre del lotto master.
 - b. Agitare immediatamente il flacone di TCR in modo vigoroso per 10 volte. Lasciare riscaldare il flacone di TCR a una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C per almeno 45 minuti. Durante questo periodo, roteare e capovolgere il flacone di TCR almeno ogni 10 minuti.

Opzione. Il flacone di TCR può essere preparato su un agitatore oscillante per provette attenendosi a queste istruzioni: rimuovere il TCR dal luogo in cui è conservato (a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C) e agitarlo immediatamente con vigore per 10 volte. Collocare il flacone di TCR su un agitatore oscillante per provette e lasciare riscaldare il TCR a una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C per almeno 45 minuti.

- c. Prima di utilizzarlo, assicurarsi che tutto il precipitato sia in soluzione e che le particelle magnetiche siano in sospensione.
2. Per ricostituire il reagente di amplificazione, il reagente enzimatico e il reagente promotore, procedere nel modo seguente:
 - a. Rimuovere i reagenti liofilizzati e le corrispondenti soluzioni di ricostituzione dal luogo in cui sono conservati (a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C). Abbinare ciascuna soluzione di ricostituzione al rispettivo reagente liofilizzato.
 - b. Assicurarsi che l'etichetta della soluzione di ricostituzione e l'etichetta del reagente liofilizzato abbiano colori corrispondenti. Controllare i numeri di lotto sul foglio dei codici a barre dei lotti master per assicurarsi di abbinare i reagenti appropriati.

- i. Aprire la fiala di reagente liofilizzato rimuovendo il sigillo metallico e il tappo di gomma.
- ii. Inserire con decisione sulla fiala l'estremità indentata del collare di ricostituzione (nero) (Figura 5, passaggio 1).
- iii. Aprire il flacone di soluzione di ricostituzione corrispondente e disporre il cappuccio su una superficie di lavoro pulita e coperta.
- iv. Appoggiare il flacone con la soluzione di ricostituzione su una superficie stabile (sul banco). Quindi capovolgere la fiala del reagente liofilizzato sul flacone con la soluzione di ricostituzione e fissare saldamente il collare al flacone con la soluzione di ricostituzione (Figura 5, passaggio 2).
- v. Capovolgere lentamente i flaconi assemblati (fiala fissata al flacone con la soluzione) per consentire alla soluzione di drenare nella fiala di vetro (Figura 5, passaggio 3).
- vi. Raccogliere i flaconi assemblati e rotarli per almeno 10 secondi (Figura 5, passaggio 4).
- vii. Attendere almeno 30 minuti per permettere al reagente liofilizzato di andare in soluzione.
- viii. Dopo che il reagente liofilizzato è andato in soluzione, roteare i flaconi assemblati per almeno 10 secondi, quindi fare oscillare leggermente avanti e indietro la soluzione all'interno della fiala di vetro per miscelare bene.
- c. Inclinare di nuovo lentamente i flaconi assemblati per consentire a tutta la soluzione di drenare nuovamente nel flacone della soluzione di ricostituzione (Figura 5, passaggio 5).
- d. Rimuovere con cautela il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 5, passaggio 6).
- e. Rimettere il cappuccio sul flacone. Registrare sull'etichetta le iniziali dell'operatore e la data di ricostituzione (Figura 5, passaggio 7).
- f. Rimuovere il collare di ricostituzione e la fiala di vetro (Figura 5, passaggio 8).

Avvertenza: evitare la formazione di schiuma eccessiva durante la ricostituzione dei reagenti. La schiuma pregiudica la sensibilità di rilevamento dei livelli nel Panther System.

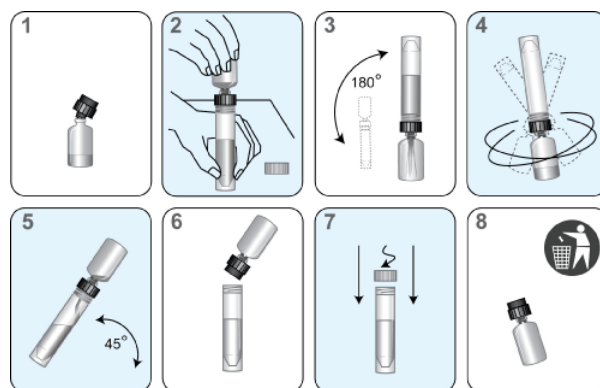


Figura 5. Processo di ricostituzione dei reagenti

D. Preparazione di reagenti per i reagenti precedentemente preparati

1. Rimuovere i reagenti precedentemente preparati dal luogo in cui sono conservati (a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C).

2. I reagenti TCR, di amplificazione, enzimatico e promotore precedentemente preparati devono raggiungere una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C prima dell'avvio del test.
3. Prima di caricare il TCR precedentemente preparato sul sistema, eseguire il passaggio C.1 descritto in precedenza.
4. Roteare e capovolgere i reagenti di amplificazione, enzimatico e promotore per miscelarli bene prima di caricarli sul sistema. Evitare la formazione di schiuma eccessiva quando si capovolgono i reagenti.
Opzione: i reagenti preparati in precedenza possono essere preparati su un agitatore oscillante per provette attenendosi a queste istruzioni: rimuovere i reagenti dal luogo di conservazione (a una temperatura compresa fra 2 °C e 8 °C). Collocare i reagenti su un agitatore oscillante per provette e lasciarli riscaldare a una temperatura compresa fra 15 °C e 30 °C per almeno 30 minuti.
5. Evitare di riempire i flaconi dei reagenti fino all'orlo. Il Panther System riconosce e rifiuta i flaconi rabboccati.

E. Manipolazione dei campioni biologici

1. Assicurarsi che i campioni lavorati nelle provette primarie o i campioni non diluiti nelle provette secondarie siano stati conservati correttamente secondo quando indicato in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici*.
2. Assicurarsi che i campioni biologici congelati siano scongelati del tutto. Miscelare con vortex i campioni biologici scongelati per 3-5 secondi per miscelarli bene.
3. Lasciare che i campioni biologici raggiungano una temperatura compresa fra 15 e 30 °C prima del trattamento. Per ulteriori informazioni sul caricamento dei campioni sullo strumento, fare riferimento alla sezione *Campioni caricati sul Panther System*.
4. Assicurarsi che ciascuna provetta di raccolta primaria contenga fino a un massimo di 1200 µL di campione o che ciascuna SAT contenga almeno 700 µL di campione. Consultare la tabella riportata in *Raccolta e conservazione dei campioni biologici* per identificare i requisiti di volume morto per ogni tipo di provetta primaria e secondaria. Se si rende necessario diluire il campione biologico, per ulteriori informazioni vedere il Passaggio E.5 di seguito.
5. Diluire un campione di plasma 1:3 nella SAT o 1:100 in una provetta secondaria.
Un campione di plasma può essere diluito in una provetta secondaria per l'analisi con il Panther System.



Nota: La diluizione dei campioni di plasma può essere effettuata unicamente per ottenere risultati quantitativi. Non diluire campioni di plasma per ottenere risultati diagnostici.

Nota: Se un campione biologico viene diluito, deve essere analizzato subito dopo la diluizione.

a. Diluizione di campioni biologici con volume ridotto

Per portare il volume dei campioni biologici di plasma al volume minimo richiesto (700 µL) utilizzare il Diluente dei campioni Aptima. I campioni biologici con volume di almeno 240 µL di plasma possono essere diluiti nel modo seguente con due parti di diluente dei campioni (1:3):

- i. Trasferire 240 µL di campione biologico nella SAT.
- ii. Aggiungere 480 µL di diluente dei campioni Aptima.
- iii. Tappare la provetta.
- iv. Capovolgerla delicatamente 5 volte per miscelarla.

I campioni biologici diluiti 1:3 possono essere analizzati utilizzando l'opzione 1:3 sul Panther System (per ulteriori informazioni consultare il *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*). Il software riporterà automaticamente il risultato per il campione non diluito applicando il fattore di diluizione. Questi campioni biologici saranno segnalati come campioni diluiti.

b. Diluizione di campioni biologici con alto titolo

Se il risultato dell'analisi di un campione è al di sopra del limite superiore di quantificazione, il campione può essere diluito nel modo seguente con 99 parti di diluente dei campioni Aptima (1:100):

- i. Trasferire 30 µL di campione nella SAT o nella provetta secondaria.
- ii. Aggiungere 2970 µL di diluente dei campioni Aptima.
- iii. Tappare la provetta.
- iv. Capovolgerla delicatamente 5 volte per miscelarla.

I campioni biologici diluiti 1:100 possono essere analizzati utilizzando l'opzione 1:100 sul Panther System (per ulteriori informazioni consultare il *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*). Il software riporterà automaticamente il risultato per il campione non diluito applicando il fattore di diluizione. Questi campioni biologici saranno segnalati come campioni diluiti.

Nota: per i campioni diluiti con concentrazioni di campioni non diluiti superiori all'ULoQ, i risultati saranno riportati utilizzando la notazione scientifica.

6. Immediatamente prima di caricare i campioni biologici in una rastrelliera dei campioni, centrifugare ciascun campione biologico a 1000 – 3000 g per 10 minuti. Non togliere i tappi. La presenza di bolle nella provetta può pregiudicare il rilevamento del livello di liquido nel Panther System.

Vedere *Preparazione del sistema*. Per informazioni su come caricare la rastrelliera e togliere i tappi, consultare il passaggio F.2 indicato di seguito.

F. Preparazione del sistema

1. Impostare il sistema in base alle istruzioni fornite nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System* e nelle *Note procedurali*. Assicurarsi di utilizzare rastrelliere reagenti e adattatori TCR di dimensioni appropriate.
2. Caricare i campioni nella rastrelliera dei campioni. Eseguire i seguenti passaggi per ciascuna provetta del campione (campione biologico e, quando necessario, calibratore e controlli):
 - a. Allentare il tappo di una delle provette del campione, senza però rimuoverlo.

Nota: Prestare particolare attenzione a evitare la contaminazione provocata dalla diffusione degli aerosol. Allentare delicatamente i tappi dei campioni.
 - b. Caricare la provetta del campione nella rastrelliera dei campioni.
 - c. Ripetere i passaggi a e b per ciascun campione rimanente.
 - d. Dopo il caricamento dei campioni nella rastrelliera dei campioni, rimuovere e gettare tutti i tappi delle provette del campione di una rastrelliera dei campioni. Per evitare la contaminazione, non far passare i tappi sopra le altre rastrelliere dei campioni o sopra le provette del campione.
 - e. Se necessario, utilizzare una pipetta di trasferimento monouso nuova per rimuovere eventuali bolle o schiuma.

- f. Dopo aver rimosso l'ultimo tappo, caricare la rastrelliera dei campioni in uno scomparto dei campioni.

***Nota:** Se contemporaneamente si eseguono altri test e si analizzano altri tipi di campioni, fissare il fermo campioni prima del caricamento della rastrelliera dei campioni nello scomparto dei campioni.*

- g. Ripetere i passaggi da "a" a "f" per la successiva rastrelliera dei campioni.

Note procedurali

A. Calibratore e controlli

1. Le provette del calibratore positivo qHIV-1, del controllo positivo basso qHIV-1, del controllo positivo alto qHIV-1 e del controllo negativo qHIV-1 possono essere caricate in una posizione qualsiasi nella rastrelliera dei campioni e in una corsia qualsiasi dello scomparto dei campioni sul Panther System. Il pipettaggio dei campioni inizierà quando verrà soddisfatta una delle due seguenti condizioni:
 - a. Il calibratore e i controlli sono in fase di trattamento sul sistema.
 - b. I risultati validi del calibratore e dei controlli sono stati registrati nel sistema.
2. Quando le provette del calibratore e dei controlli sono state pipettate e sono in fase di trattamento per il kit di reagenti del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, i campioni biologici possono essere analizzati con il kit ricostituito ad essi associato per un massimo di 24 ore, **a meno che:**
 - a. I risultati del calibratore o del controllo risulti non sono validi.
 - b. Il kit di reagenti del test associato è rimosso dal sistema.
 - c. Il kit di reagenti del test associato abbia superato i limiti di stabilità.
3. Ciascuna provetta di calibratore e controllo può essere utilizzata solo una volta. Se si tenta di utilizzare la provetta più di una volta, è possibile che si verifichino errori di trattamento.

B. Polvere dei guanti

Come in qualsiasi sistema di reagenti, la polvere eccessiva in alcuni guanti può causare la contaminazione delle provette aperte. Si consigliano guanti privi di polvere.

Controllo della qualità

Il risultato di una sessione analitica o di un campione può essere annullato da un operatore se durante l'esecuzione del test si riscontrano problemi tecnici o difficoltà riconducibili all'operatore o allo strumento e tali difficoltà vengono documentate. In questo caso, i campioni biologici devono essere ritestati.

Calibrazione del test

Per generare risultati validi è necessario completare la calibrazione del test. Un singolo calibratore positivo viene analizzato in triplicato tutte le volte che un kit reagenti viene caricato sul Panther System. Una volta stabilita, la calibrazione è valida per un periodo massimo di 24 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario eseguire la calibrazione. L'operatore esegue la scansione di un coefficiente di calibrazione riportato nella scheda del codice a barre del lotto master fornita con ciascun kit reagenti.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità del calibratore vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se risultano validi meno di due dei replicati del calibratore, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere rianalizzati utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Controlli positivi e negativi

Per generare risultati validi è necessario analizzare una serie di controlli del test. È necessario analizzare un replicato del controllo negativo, del controllo positivo basso e del controllo positivo alto tutte le volte che un kit reagenti viene caricato sul Panther System. Una volta stabiliti, i controlli sono validi per un periodo massimo di 24 ore. Il software del Panther System avvisa l'operatore quando è necessario utilizzare i controlli.

Durante il trattamento, i criteri per l'accettabilità dei controlli vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Per generare risultati validi, il controllo negativo deve dare un risultato di "Non rilevato" e i controlli positivi devono dare risultati entro i parametri predefiniti (target LPC: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ copie/ml, target HPC: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ copie/ml). Se uno qualsiasi dei controlli genera risultati non validi, il software annulla automaticamente la sessione analitica. I campioni di una sessione analitica annullata devono essere rianalizzati utilizzando calibratore e controlli preparati al momento.

Calibratore interno/Controllo interno

Ciascun campione contiene un calibratore interno/controllo interno (IC). Durante il trattamento, i criteri di accettabilità CI vengono verificati automaticamente dal software del Panther System. Se il risultato CI risulta non valido, il risultato del campione viene annullato. Ciascun campione con un risultato IC non valido deve essere rianalizzato per ottenere un risultato valido.

Il software del Panther System è progettato per verificare in maniera accurata i processi quando le procedure vengono eseguite rispettando le istruzioni fornite nel presente foglietto illustrativo e nel *Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System*.

Interpretazione dei risultati

Nota: Risultati quantitativi del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sono stati valutati con il plasma. Il siero non può essere utilizzato per ottenere risultati quantitativi. I risultati qualitativi sono stati valutati sia con il plasma sia con il siero.

Il Panther System determina automaticamente la concentrazione di RNA dell'HIV-1 nei campioni biologici e nei controlli mettendo a confronto i risultati con una curva di calibrazione.

Le concentrazioni di RNA dell'HIV-1 vengono riportate in Uicopie/ml e \log_{10} copie/ml.

L'interpretazione dei risultati è inclusa nella Tabella 1. Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è dotato di sistemi di amplificazione e rilevamento a doppio target, che prendono come target pol e LTR in modo indipendente. Il risultato riportato dal sistema sarà basato sul sistema primario, pol, a meno che pol non sia amplificato. In questi casi, il sistema riporterà il risultato dal sistema secondario, LTR.

Se si usa la diluizione 1:3 o 1:100 per i campioni biologici diluiti, il Panther System calcola automaticamente la concentrazione di HIV-1 per il campione biologico non diluito moltiplicando la concentrazione diluita per il fattore di diluizione e i campioni diluiti vengono contrassegnati come tali.

Nota: Per i campioni biologici diluiti, i risultati riportati come "Non rilevato" o "<30 rilevati" possono essere generati diluendo un campione biologico con una concentrazione superiore, ma vicina al LoD (limite di rilevamento) o al LLoQ (limite inferiore di quantificazione). Se non si ottiene un risultato quantitativo, si consiglia di raccogliere e analizzare un altro campione biologico non diluito.

Il Panther System non fornisce un risultato qualitativo (cioè, "Reattivo" oppure "Non reattivo") per uso diagnostico. L'operatore deve interpretare in un risultato qualitativo la concentrazione di RNA dell'HIV-1 riportata (Tabella 1). I campioni biologici con risultati elencati come "Non rilevato" sono non reattivi per l'RNA dell'HIV-1. I campioni biologici con risultati elencati come "<30 rilevati" o i campioni biologici con risultati che rientrano nel o superano il range lineare indicano il rilevamento dell'RNA dell'HIV-1 e questi campioni sono reattivi per l'RNA dell'HIV-1.

Tabella 1: Interpretazione dei risultati

Risultato Aptima HIV-1 Quant Dx Assay riportato		Interpretazione della concentrazione di HIV-1 RNA	Interpretazione diagnostica qualitativa dell'utilizzatore ^c
Copie/ml ^a	Valore \log_{10} ^b		
Non rilevato	Non rilevato	RNA dell'HIV-1 non rilevato.	Non reattivo per l'RNA dell'HIV-1
<30 rilevati	<1,47	L'RNA dell'HIV-1 è stato rilevato, ma a un livello inferiore all'LLoQ	Reattivo per l'RNA dell'HIV-1
Da 30 a 10.000.000	Da 1,47 a 7,00	La concentrazione di RNA dell'HIV-1 rientra nel range lineare compreso fra 30 e 10.000.000 copie/ml.	Reattivo per l'RNA dell'HIV-1
>10.000.000	>7,00	La concentrazione di RNA dell'HIV-1 è al di sopra del limite di quantificazione superiore (ULoQ).	Reattivo per l'RNA dell'HIV-1
Non valido ^d	Non valido ^d	Si è verificato un errore nella generazione del risultato. Il campione biologico deve essere rianalizzato.	Non valido ^d

^aIl fattore di conversione delle copie in Unità Internazionali (UI) per il 3° standard internazionale per l'RNA dell'HIV-1 (10/152) è 0,35 copie/UI.

^bIl valore viene troncato a due cifre decimali.

^cNon si deve ricavare un'interpretazione diagnostica da un risultato "non reattivo" per campioni che sono stati diluiti. Ottenere un nuovo campione non diluito e ripetere il test.

^dI risultati non validi vengono visualizzati in blu.

Dopo che i risultati sono disponibili nella schermata Results (Risultati), è possibile accedere al valore di quantificazione per ciascun target utilizzando la funzione Sample Curve Report (Rapporto della curva campione) nel software del Panther System. Per visualizzare i valori e le curve di amplificazione, selezionare ID campione per il campione nella schermata Risultati del software del Panther System. Quindi selezionare il pulsante "Curve Data" (Dati curva). Si apre una finestra contenente il report della curva del campione, che include i profili di fluorescenza e i valori di quantificazione per il campione.

Nota: I dati ottenuti dal report della curva campione vengono forniti solo a scopo informativo (ad esempio, risoluzione dei problemi e verifica della curva). Il risultato convalidato da refertare per il campione viene fornito dal software del Panther System nella schermata Risultati e nel report dei risultati.

Nota: Fare riferimento al Manuale per l'operatore del Panther/Panther Fusion System per informazioni sul funzionamento del Panther System.

I criteri di accettabilità per ciascuno dei controlli del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sono delineati nella Tabella 2 di seguito.

Nota: L'intervallo di recupero elencato di seguito varia in base al valore assegnato a ciascun lotto specifico. Fare riferimento alla concentrazione assegnata elencata nell'inserito del foglio dei codici a barre di controllo fornito con ciascuna scatola dei controlli.

Tabella 2: Criteri di accettabilità per l'intervallo di recupero per il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Componente	Range di recupero per sessioni analitiche valide
Controllo negativo	N/D
Controllo positivo basso	+/- 0,5 log ₁₀ copie/ml
Controllo positivo alto	+/- 0,5 log ₁₀ copie/ml

Limitazioni

- A. L'uso di questo esame va limitato al personale che è stato addestrato all'esecuzione della procedura. La mancata osservanza delle istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo può determinare risultati erranei.
- B. L'affidabilità dei risultati è subordinata alla raccolta, al trasporto, alla conservazione e al trattamento adeguati del campione biologico.
- C. Questo test è stato convalidato per l'uso come test quantitativo solo con campioni di plasma umano raccolti in provette con anticoagulante EDTA o ACD.
- D. Questo test è stato convalidato per l'uso come test qualitativo con campioni di plasma e siero umani raccolti in provette con anticoagulante EDTA e ACD.
- E. Sebbene siano rare, le mutazioni all'interno delle regioni altamente conservate del genoma virale coperto dai primer e/o le sonde nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay potrebbero comportare una quantificazione inferiore del virus o un errore nel rilevamento di quest'ultimo.
- F. Questo test non è stato convalidato per l'uso in pazienti sottoposti a terapie basate su vettori lentivirali, come la terapia con cellule T CAR. Le regioni potenzialmente sovrapposte del genoma virale coperte dai primer e/o dalle sonde del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay possono provocare l'amplificazione dei vettori lentivirali utilizzati nelle terapie basate su vettori lentivirali.

Prestazioni analitiche

Limite di rilevamento (LoD) utilizzando il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Si definisce limite di rilevamento (LoD) la concentrazione di RNA dell'HIV-1 rilevata con una probabilità del 95% o maggiore in conformità alla procedura CLSI EP17-A2 (37). Il valore LoD è stato determinato analizzando i pannelli composti da diluizioni del 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (sottotipo B, codice NIBSC: 10/152) nel plasma e nel siero EDTA negativi all'HIV-1. Trenta replicati per ogni diluizione sono stati eseguiti su tre Panther System utilizzando tre lotti di reagente, per un totale di 90 replicati per ciascuna diluizione. In base alla procedura CLSI EP17-A2, i LoD sono stati definiti facendo uso dei risultati del lotto di reagente con la concentrazione più elevata per il limite di rilevamento previsto sono definiti come LoD e sono visualizzati nella Tabella 3. Attraverso l'analisi Probit, il limite di rilevamento previsto del 95% per il LoD per il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è 12 copie/ml (35 UI/ml) nel plasma e 8,9 copie/ml (25 UI/ml) nel siero (0,35 copie =1 UI).

Tabella 3: Limite di rilevamento del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Limite di rilevamento previsto	Plasma		Siero	
	Concentrazione (copie/ml)	Concentrazione (UI/ml)	Concentrazione (copie/ml)	Concentrazione (UI/ml)
10%	1,2	3,3	0,8	2,2
20%	1,6	4,6	1,1	3,1
30%	2,0	5,7	1,4	4,0
40%	2,5	7,2	1,7	4,9
50%	3,1	8,8	2,1	5,9
60%	3,8	11	2,5	7,2
70%	4,8	14	3,1	8,9
80%	6,2	18	4,0	11
90%	9,0	26	5,8	17
95%	12,1	35	8,9	26

Limite di rilevamento tra sottotipi e gruppi di HIV-1

Per il gruppo M dell'HIV-1 (sottotipi A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) e i gruppi N e O, sei pannelli positivi e un pannello negativo sono stati creati aggiungendo virus HIV-1 in coltura o campioni clinici positivi in Plasma e siero umano EDTA negativi all'HIV-1 (da 0 a 40 copie/ml). Ciascun elemento del pannello è stato analizzato in 30 replicati con due lotti di reagenti per un totale di 60 replicati per elemento del pannello. L'assegnazione della concentrazione dei campioni biologici clinici o degli stock di virus in coltura è stata determinata utilizzando un test di confronto. L'analisi Probit è stata eseguita per generare limiti di rilevamento previsti del 50% e 95%. In base alla procedura CLSI EP17-A2 (37), i LoD sono stati definiti facendo uso dei risultati del lotto di reagente con la concentrazione più elevata per il limite di rilevamento previsto definito come LoD come mostrato nella Tabella 4.

Tabella 4: Limite di rilevamento tra sottotipi e gruppi di HIV-1

Sottotipo/ Gruppo	Limite di rilevamento previsto	Plasma	Siero
		Concentrazione (copie/ml)	Concentrazione (copie/ml)
A	50%	3,0	4,0
	95%	11,5	14,5
CRF01_AE	50%	1,5	4,5
	95%	4,5	15,7
CRF02_AG	50%	3,8	4,3
	95%	15,1	14,3
C	50%	2,0	4,1
	95%	9,8	16,7
D	50%	4,2	3,7
	95%	13,8	15,2
F	50%	2,4	4,9
	95%	8,9	15,0
G	50%	3,5	2,5
	95%	15,7	6,5
N	50%	1,4	2,1
	95%	6,1	5,9
O	50%	1,9	6,5
	95%	6,5	27,2

Range lineare

Il range lineare del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stato stabilito mediante l'analisi di pannelli composti da virus del sottotipo B dell'HIV-1 in coltura diluito in plasma EDTA umano negativo all'HIV-1 in base al CLSI EP06-A (38). Pannelli con range di concentrazione da 1,30 a 7,30 \log_{10} copie/ml. L'analisi è stata eseguita su sette Panther System utilizzando due lotti di reagenti. Come mostrato nella Figura 6, il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ha dimostrato linearità nel range analizzato.

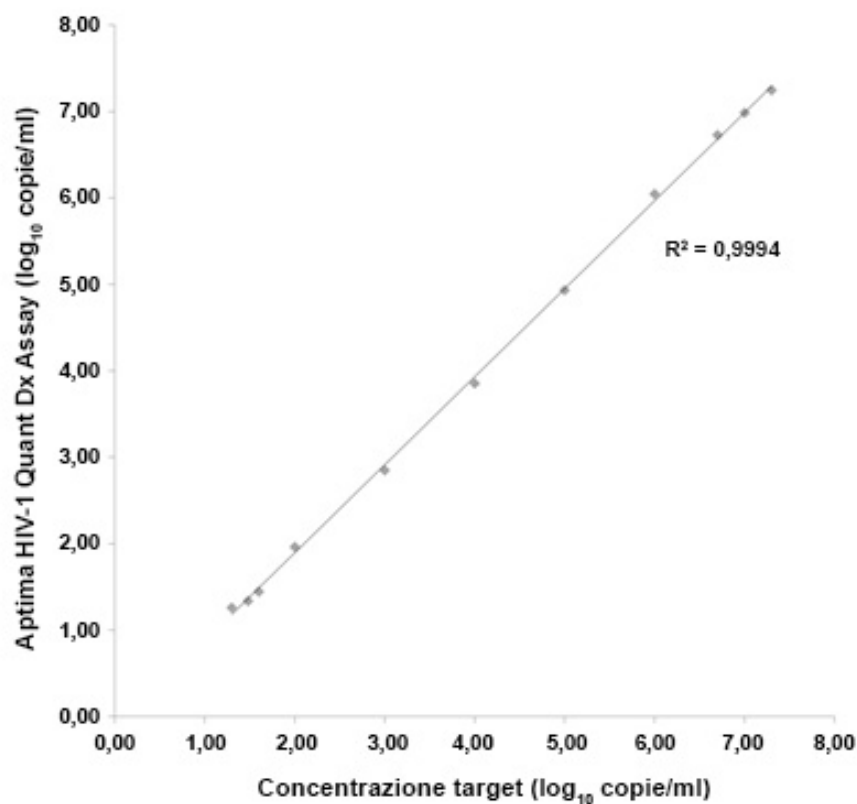


Figura 6. Linearità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Linearità tra sottotipi e gruppi di HIV-1

La risposta lineare del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay nel gruppo M (sottotipi A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) e nei gruppi N e O è stata confermata mediante l'analisi di pannelli costituiti dal trascritto dell'HIV-1 diluito in tampone a concentrazioni comprese tra 2,00 e 6,70 \log_{10} copie/ml. L'analisi è stata eseguita su quattro Panther System e in sei sessioni analitiche. La linearità è stata dimostrata nell'intero range testato (Figura 7).

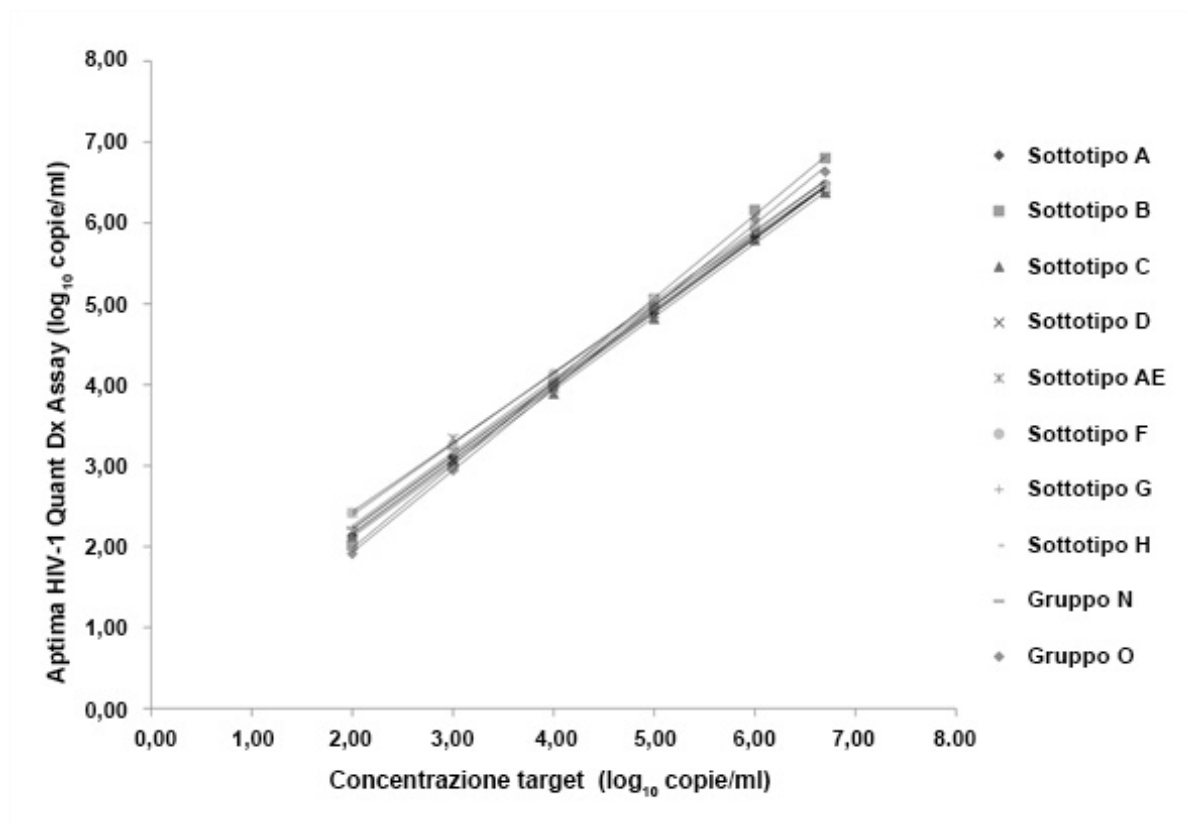


Figura 7. Linearità nel gruppo M (sottotipi A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) e nei gruppi N e O

Determinazione del limite inferiore di quantificazione con il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Si definisce limite inferiore di quantificazione (LLoQ) la concentrazione più bassa alla quale il RNA dell'HIV-1 viene quantificato in modo affidabile entro i limiti di un errore totale (TE), in conformità alla procedura CLSI EP17-A2 (37). TE è stato calcolato utilizzando il modello di Westgard ($TE = |bias| + 2DS$). Per garantire l'accuratezza e la precisione delle misurazioni, l'errore totale (TE) del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stato impostato a 1 \log_{10} copie/ml (vale a dire che al LLoQ, la differenza tra due misurazioni di più di 1 \log_{10} copie/ml ha significatività statistica).

Il valore LLoQ è stato determinato analizzando i gruppi composti da diluizioni del 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1 (sottotipo B, codice NIBSC: 10/152) nel plasma EDTA umano negativo all'HIV-1. Secondo la procedura CLSI EP17-A2, i pannelli sono stati testati con tre lotti di reagenti in replicati di 30 per ciascun lotto da 23 sessioni analitiche. I risultati sono riportati nella Tabella 5. L'LLoQ più alto tra i tre lotti analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1 è 15 copie/ml (1,17 \log_{10} copie/ml) (Tabella 6).

Tabella 5: Determinazione del LLoQ del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con il 3° Standard Internazionale dell'OMS per l'HIV-1

Lotto di reagenti	Concentrazione target (\log_{10} copie/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (\log_{10} copie/ml)	DS (\log_{10} copie/ml)	Bias (\log_{10} copie/ml)	TE calcolato (\log_{10} copie/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

DS = deviazione standard TE = errore totale.

Tabella 6: Riepilogo del LLoQ con il 3° standard internazionale-1 dell'OMS per l'HIV-1 (3 lotti di reagenti)

Lotto di reagenti	LLoQ (log ₁₀ copie/ml)	LLoQ (copie/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verifica LLoQ tra sottotipi e gruppi di HIV-1

Il LLoQ tra i sottotipi e i gruppi di HIV-1 è stato verificato seguendo la procedura CLSI EP17-A2 (37). Sono stati realizzati pannelli per ciascun gruppo M dell'HIV-1 (sottotipi A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) e per i gruppi N e O aggiungendo plasma umano EDTA negativo all'HIV-1 raggruppato con campioni clinici infetti naturalmente o isolati clinici. Il test consisteva in un totale di 30 replicati per elemento del pannello. I dati nella Tabella 7 mostrano la concentrazione più bassa per ciascun sottotipo o gruppo in cui TE era inferiore a 1 log₁₀ copie/ml. Il LLoQ più alto per tutti i sottotipi e gruppi testati è stato di 30 copie/ml; questo valore più elevato, pertanto, è stato selezionato come LLoQ per il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay (Tabella 7).

Tabella 7: Verifica di LLoQ per sottotipo o gruppo di HIV-1

Pannello	LLoQ (copie/ml)
Sottotipo A	30
Sottotipo CRF01_AE	10
Sottotipo CRF02_AG	30
Sottotipo B	10
Sottotipo C	30
Sottotipo D	15
Sottotipo F	15
Sottotipo G	30
Gruppo N	10
Gruppo O	15

Precisione

Per valutare la precisione del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, un pannello ottenuto aggiungendo il virus HIV-1 sottotipo B in coltura al plasma EDTA negativo all'HIV-1 è stato testato da tre operatori utilizzando tre lotti di reagenti su tre Panther System per 20 giorni (Tabella 8). Il pannello era composto da un elemento del pannello negativo all'HIV-1 e da otto elementi del pannello positivi all'HIV-1. L'assegnazione della concentrazione dei campioni biologici clinici o degli stock di virus in coltura è stata determinata utilizzando un test di confronto.

Tabella 8: Precisione del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Numero di replicati validi	Concentrazione media (\log_{10} copie/ml)	Tra strumenti		Tra operatori		Tra lotti		Tra sessioni analitiche		Nella sessione analitica		Totale	
		DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	CV (%)	DS	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 = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard.

^aQuesto elemento del pannello è stato diluito 1:3 con diluente per campioni e analizzato per valutare la precisione del campione diluito.

Nota: la variabilità di alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, cosa che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola. Quando questo si verifica, DS = 0 e CV = 0%. Il numero totale di replicati testati è stato di 162 per ciascun pannello; sono stati analizzati solo replicati con un valore numerico.

Sostanze endogene ed esogene potenzialmente interferenti

È stata valutata la suscettibilità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay a interferenza da livelli elevati di sostanze endogene e da farmaci comunemente prescritti ai soggetti con infezione da HIV-1. Sono stati analizzati campioni di plasma umano EDTA negativo all'HIV-1 e campioni con aggiunta di HIV-1 a una concentrazione di $3 \log_{10}$ copie/ml di RNA dell'HIV-1.

Non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in presenza di albumina (90 mg/ml), emoglobina (5 mg/ml), trigliceridi (30 mg/ml) o bilirubina non coniugata (0,2 mg/ml).

Non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in presenza delle sostanze esogene elencate nella Tabella 9 a concentrazioni almeno tre volte superiori a C_{\max} (plasma umano).

Tabella 9: Sostanze esogene

Pool di sostanze esogene	Sostanze esogene analizzate
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesilato, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapina, efavirenz, rilpivirina, claritromicina, amfotericina B
3	Tenofovir disoproxil fumarato, adefovir dipivoxil, ribavirina, enfuvirtide, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abacavir solfato, didanosina, zidovudina, lamivudina, stavudina, entecavir, telbivudina, emtricitabina
5	Paroxetina HCl, fluoxetina, sertralina
6	Ganciclovir, valaciclovir, aciclovir, rifampicina/rifampicina, etambutolo
7	Ciprofloxacina, azitromicina, amoxicillina, cefalexina, ampicillina, trimetoprim
8	Valganciclovir cloridrato, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Peginterferone alfa-2b, interferone alfa-2a, interferone alfa-2b
10	Eparina, EDTA, citrato di sodio
11	Tipranavir
12	Isoniazide

I campioni clinici di plasma EDTA elencati nella Tabella 10 provenienti da pazienti con livelli elevati di sostanze definite o da pazienti affetti dalle malattie elencate sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con e senza la presenza di 3 log₁₀ copie dell'RNA dell'HIV-1. Non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni.

Tabella 10: Tipi di campioni clinici testati

Tipi di campioni clinici	
1	Fattore reumatoide (RF)
2	Anticorpo antinucleare (ANA)
3	Anticorpo anti-Jo-1 (JO-1)
4	Lupus eritematoso sistemico (SLE)
5	Artrite reumatoide (RA)
6	Sclerosi multipla (MS)
7	Iperglobulinemia
8	Alanina aminotransferasi (ALT) elevata
9	Cirrosi alcolica (AC)
10	Mieloma multiplo (MM)
11	Lipemici (lipidi elevati)
12	Itterici (bilirubina elevata)
13	Emolizzati (emoglobina elevata)
14	Albumina elevata
15	Anticorpi HCV
16	Anticorpi anti-HBV
17	Anticorpi anti-HIV-2

Prestazioni con campioni negativi all'HIV-1

La specificità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è stata determinata utilizzando 120 campioni di plasma EDTA negativi all'HIV-1 freschi e 510 congelati. L'RNA dell'HIV-1 non è stato rilevato in tutti i 630 campioni (specificità del 100%; IC al 95%: dal 99,4 al 100%) (Tabella 11).

Tabella 11: Specificità nei campioni di plasma

	Plasma appena preparato	Plasma congelato	Tutti
Replicati validi (n)	120	510	630
Non reattivo	120	510	630
Specificità (IC 95%)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)

IC = intervallo di confidenza

Contaminanti microbici potenzialmente interferenti

La potenziale reattività crociata ai patogeni (Tabella 12) è stata valutata nel test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in presenza o assenza di 3 log₁₀ copie/ml di RNA dell'HIV-1 nel plasma umano EDTA negativo all'HIV-1. Non è stata osservata alcuna interferenza nelle prestazioni del test in presenza dei patogeni.

Tabella 12: Patogeni testati per reattività crociata

Patogeno	Concentrazione
Virus dell'epatite A	100.000 PFU/ml ^a
Virus dell'epatite B	100.000 UI/ml ^b
Virus dell'epatite C	100.000 UI/ml
Virus dell'Epatite G	100.000 copie/ml
Virus dell'herpes simplex 1 (HSV-1)	100.000 PFU/ml
Virus dell'herpes simplex 2 (HSV-2)	75.000 PFU/ml
Virus dell'herpes umano 6	100.000 copie/ml
Virus dell'herpes umano 8	42.000 PFU/ml
HIV-2	5.500 PFU/ml
Virus linfotropo delle cellule T di tipo umano (HTLV)	100.000 vp/ml ^c
Virus del Nilo occidentale	100.000 copie/ml
Parvovirus B19	100.000 UI/ml
Cytomegalovirus	100.000 copie/ml
Virus di Epstein-Barr	100.000 copie/ml
Adenovirus tipo 5	100.000 PFU/ml
Virus Dengue	100.000 copie/ml
Virus dell'influenza A	100.000 PFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 CFU/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300.000 IFU/ml ^e
<i>Candida albicans</i>	1.000.000 CFU/ml

^aPFU/ml = unità formanti placche per ml.^bUI/ml = unità internazionali per ml.^cvp/ml = Particelle virali per ml.^dCFU/ml = unità formanti colonie per ml.^eIFU/ml = unità formanti inclusioni per ml.

Ripetibilità dei campioni clinici

Dieci campioni clinici di plasma EDTA e dieci campioni di siero sono stati analizzati in tre replicati utilizzando il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. La concentrazione media e la deviazione standard (DS) sono mostrate nelle tabelle Tabella 13 e Tabella 14.

Tabella 13: Ripetibilità dei campioni clinici di plasma

Campione	Plasma	
	Concentrazione media (log ₁₀ copie/ml)	DS
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

DS = deviazione standard

Tabella 14: Ripetibilità dei campioni clinici di siero

Campione	Siero	
	Concentrazione media (log ₁₀ copie/ml)	DS
1	1,68	0,10
2	2,44	0,19
3	3,08	0,03
4	3,37	0,06
5	4,05	0,04
6	4,55	0,06
7	5,06	0,04
8	5,49	0,05
9	6,28	0,02
10	6,79	0,04

DS = deviazione standard

Diluizione dei campioni con il diluente per campioni biologici

Per valutare la diluizione del campione, un pannello composto da 11 campioni con concentrazioni che coprivano l'intervallo lineare del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e che consisteva di due campioni al di sopra dell'ULoQ del test è stato analizzato puro e diluito (1:3 o 1:100 nel diluente del campione) in triplice copia (Tabella 15).

Tabella 15: Diluizione campione

Diluizione	Concentrazione media del campione non diluito (\log_{10} copie/ml)	Concentrazione media riportata ^a (\log_{10} copie/ml)	Differenza
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

^aLa concentrazione riportata è il valore riportato dal Panther System dopo che è stato applicato il fattore di diluizione.

^bCampione biologico con aggiunta.

^cTutti i risultati >7,00 \log_{10} copie/ml sono stati stimati utilizzando un'analisi addizionale.

Contaminazione crociata

Per stabilire che il Panther System riduce al minimo il rischio di risultati falsi positivi derivanti dalla contaminazione crociata, è stato condotto uno studio analitico di più sessioni analitiche utilizzando pannelli con aggiunta su due Panther System. La contaminazione crociata è stata valutata utilizzando campioni con aggiunta di HIV-1 ad alto titolo (7 \log_{10} copie/ml) disseminati fra campioni negativi all'HIV-1 in una disposizione a scacchiera. L'analisi è stata eseguita nel corso di cinque sessioni analitiche. Il tasso generale di contaminazione crociata era dello 0% (n = 469).

Pannello di sieroconversione

Diciannove set di pannelli di sieroconversione dell'HIV-1, costituiti da 204 campioni, sono stati analizzati utilizzando il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Il rilevamento dell'RNA dell'HIV-1 è stato confrontato con il rilevamento con i test dell'antigene p24 e con i test degli anticorpi HIV-1/2. Il numero di giorni prima del primo risultato reattivo utilizzando i test dell'antigene p24, i test degli anticorpi anti-HIV 1/2 e il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay è elencato nella Tabella 16. Il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ha rilevato l'RNA dell'HIV-1 in media 5,58 e 11,16 giorni prima dei test dell'antigene p24 e dell'anticorpo anti-HIV 1/2.

Tabella 16: Riepilogo dei dati dei pannelli di sieroconversione

ID pannello	Numero di elementi del pannello testati	Numero di elementi del pannello reattivi			Giorni al primo risultato reattivo			Differenza in giorni al primo risultato reattivo (in base alla data del prelievo)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigen e p24 dell'HIV	Anticorpo anti HIV 1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antigen e p24 dell'HIV	Anticorpo anti HIV 1/2	Giorni di anticipo del rilevamento rispetto all'antigene p24 dell'HIV	Giorni di anticipo del rilevamento rispetto all'anticorpo 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
12.008	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
Totale	204	82	51	20			Media Mediana	5,58 7	11,16 12

^aTutti i prelievi di questo pannello sono risultati non reattivi per l'anticorpo anti-HIV 1/2. Il giorno dell'ultimo prelievo è stato usato come il valore "Giorni al primo risultato reattivo".

Il test degli anticorpi anti-HIV-1/2 è stato completato con Abbot Anti-HIV 1/2, con le seguenti eccezioni:

^bI pannelli PRB974, PRB975 e PRB978 sono stati testati con il test Siemens Anti-HIV 1/2.

Il test dell'antigene HIV-1 p24 è stato completato con Coulter HIV-1 p24 Ag, con le seguenti eccezioni:

^bI pannelli PRB974, PRB975 e PRB978 sono stati testati con il test BioMerieux p24 Ag.

Studio sull'equivalenza di siero e plasma

Per valutare l'equivalenza sono stati utilizzati set corrispondenti di siero e plasma (25 positivi all'HIV-1 e 25 negativi all'HIV-1) e 40 campioni arricchiti con HIV-1 in coltura (50-1.000.000 di copie/ml in plasma e siero negativi all'HIV-1) sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. La concordanza negativa è stata del 100,0% (IC al 95%: dal 97,0% al 100,0%). La concordanza positiva è stata del 98,4% (IC al 95%: dal 95,4% al 99,5%).

Studi sulla riproducibilità

Riproducibilità in campioni di plasma

La riproducibilità del test Aptima HIV-1 Quant Assay in campioni di plasma è stata valutata in 3 centri esterni. Due operatori hanno eseguito i test in ciascun centro. Ciascun operatore ha eseguito 2 sessioni analitiche al giorno nell'arco di 3 giorni, utilizzando 3 lotti di reagente nel corso dell'analisi. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da 3 replicati di ciascun elemento del pannello.

La riproducibilità è stata testata utilizzando componenti del pannello costituiti da plasma EDTA negativo all'HIV-1. Gli elementi positivi del pannello sono stati creati aggiungendo al plasma negativo il virus in coltura (HIV-1 sottotipo B) in concentrazioni che coprivano l'intervallo lineare del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabella 17 mostra la riproducibilità e la precisione dei risultati del test per ciascun elemento positivo del pannello tra i diversi centri, operatori, lotti e giorni, tra diverse sessioni analitiche, nella stessa sessione analitica e complessive. Quando sono stati inclusi solo i campioni con risultati superiori al limite inferiore di quantificazione (LLOQ) (i campioni con risultati inferiori a LLOQ sono stati esclusi), la DS totale era $\leq 0,2 \log_{10}$ copie/ml per tutti gli elementi del pannello. Quando sono stati inclusi tutti i campioni con RNA dell'HIV-1 rilevabile, i valori DS totali sono rimasti invariati, ad eccezione dell'elemento del pannello 1, che aveva una DS totale di $0,3 \log_{10}$ copie/ml.

Per tutti gli elementi del pannello positivi all'HIV-1, è stata raggiunta una concordanza del 100%. Per l'elemento del pannello negativo all'HIV-1, sono stati analizzati 108 replicati e l'RNA dell'HIV-1 non è stato rilevato in tutti i 108 replicati (concordanza negativa = 100%, punteggio IC al 95%: dal 96,6% al 100%).

Tabella 17: Riproducibilità e precisione del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sul Panther System in elementi del pannello plasma positivi

Pannello	N ^a	Media Log ₁₀ Copie/ml	Tra siti diversi		Tra operatori diversi		Tra lotti diversi		Tra giorni diversi		Tra sessioni analitiche diverse		All'interno della stessa sessione analitica		Totale	
			DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
1	107	1,71 ^b	0,05	2,66	0,07	4,10	0,07	4,09	0,00	0,00	0,17	9,90	0,25	14,62	0,32	18,77
	85 ^c	1,84	0,07	3,51	0,00	0,00	0,02	0,97	0,00	0,00	0,06	3,07	0,17	8,98	0,19	10,17
2	108	2,94	0,08	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	1,49	0,00	0,00	0,11	3,69	0,14	4,83
3	108	3,84	0,07	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,95	0,04	0,98	0,06	1,62	0,11	2,75
4	108	4,94	0,08	1,52	0,00	0,00	0,03	0,57	0,03	0,50	0,05	1,01	0,06	1,18	0,11	2,30
5	108	5,71	0,07	1,26	0,00	0,00	0,01	0,22	0,05	0,85	0,04	0,77	0,07	1,23	0,12	2,11
6	108 ^d	6,71	0,05	0,80	0,00	0,00	0,02	0,32	0,03	0,43	0,07	1,03	0,06	0,85	0,11	1,65

CV = coefficiente di variazione, DS = deviazione standard

^aNumero di risultati del test validi con RNA dell'HIV-1 rilevabile.

^bInclude 22 replicati riportati come <1,47 log₁₀ copie/ml. A questo campione era assegnato un valore di 1,176 log₁₀ copie/ml.

^cNumero di risultati validi all'interno dell'intervallo lineare del test.

^dInclude un replicato riportato come >7 log₁₀ copie/ml. A questo campione era assegnato un valore di 7,18 log₁₀ copie/ml.

Nota: La variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa, condizione che può verificarsi se la variabilità dovuta a quei fattori è molto piccola (inferiore a 0,01). In tali casi, i valori DS e CV sono uguali a 0.

Riproducibilità in campioni di siero

La riproducibilità del test Aptima HIV-1 Quant Assay in campioni di siero è stata valutata in 3 centri esterni. Due operatori hanno eseguito i test in ciascun centro. Ciascun operatore ha eseguito 1 sessione analitica al giorno nell'arco di 5 giorni, utilizzando 1 lotto di reagente nel corso del test. Ciascuna sessione analitica è stata caratterizzata da 3 replicati di ciascun elemento del pannello.

La riproducibilità è stata analizzata usando gli elementi del pannello preparati mediante l'utilizzo di siero negativo all'HIV-1. Due elementi positivi del pannello sono stati creati aggiungendo alla matrice sierica negativa concentrazioni di virus in coltura (HIV-1 sottotipo B) 3-5 volte il LoD e 10 volte il LoD.

Tabella 18 mostra la riproducibilità e la precisione dei risultati del test per ciascun elemento positivo del pannello tra i diversi centri, operatori e giorni, tra diverse sessioni analitiche, nella stessa sessione analitica e complessive.

Per tutti gli elementi del pannello positivi all'HIV-1, è stata raggiunta una concordanza del 100%. Per l'elemento del pannello negativo all'HIV-1, sono stati analizzati 90 replicati e l'RNA dell'HIV-1 non è stato rilevato in tutti gli 89/90 replicati (concordanza negativa = 98,9%, punteggio IC al 95%: dal 94,0 % al 99,8 %).

Tabella 18: Riproducibilità e precisione del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sul Panther System negli elementi del pannello del siero positivo

Pannello	N	Media log ₁₀ copie/ml	Tra siti diversi		Tra operatori diversi		Tra giorni diversi		Tra sessioni analitiche diverse		All'interno della stessa sessione analitica		Totale	
			DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV	DS	%CV
1	90	1,34	0,07	5,41	0,00	0,00	0,04	2,63	0,00	0,00	0,22	16,26	0,23	17,34
2	89	1,95	0,05	2,41	0,02	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	9,67	0,20	10,01

CV = coefficiente di variazione log-normale, DS = deviazione standard (log₁₀ copie/ml).

Nota: La variabilità da alcuni fattori potrebbe essere numericamente negativa. Ciò può verificarsi se la variabilità dovuta a tali fattori è piuttosto ridotta. In tali casi, i valori DS e CV sono uguali a 0,00.

Prestazioni cliniche

Convalida della quantificazione della carica virale

La quantificazione dell'RNA dell'HIV-1 è stata confrontata tra il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e un test di confronto. Lo studio ha incluso l'analisi di campioni clinici di plasma EDTA (conservati freschi o congelati) e di campioni artificiali (virus in coltura aggiunti a campioni di plasma clinici negativi). Ciascun campione è stato analizzato in duplicato con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e il test di confronto. I test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sono stati eseguiti presso 3 centri esterni, ciascuno dei quali ha utilizzato 3 lotti di kit di reagenti; l'analisi del test di confronto è stata eseguita presso 1 laboratorio esterno.

628 serie di campioni corrispondenti (entro il range lineare di entrambi i test) creati da 484 soggetti arruolati e 144 campioni artificiali sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e il test di confronto. Figura 8 mostra i risultati dell'analisi di regressione di Deming ($y = -0,03 + 1,04x$).

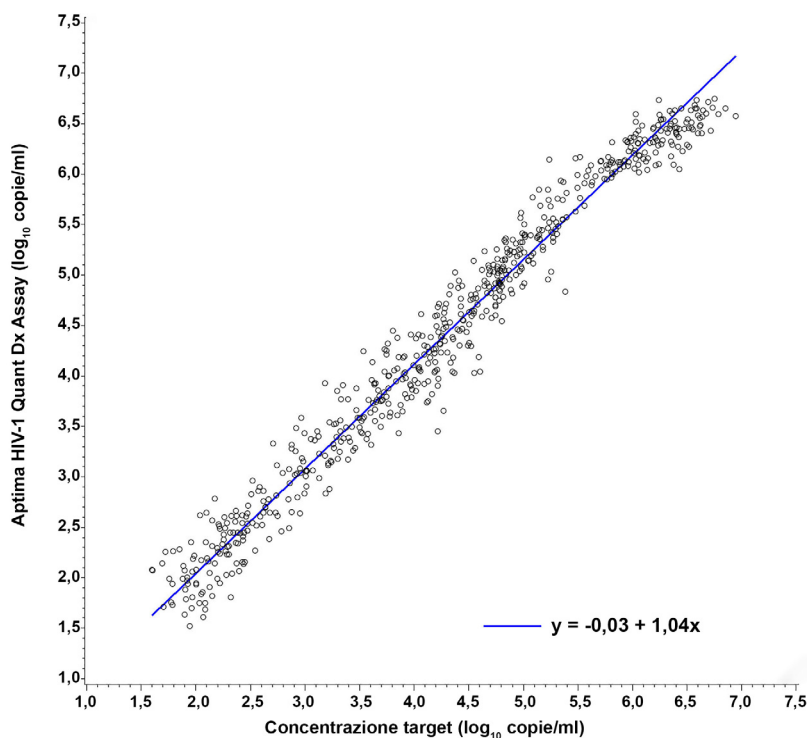


Figura 8: Correlazione fra il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay e il test di confronto

Studi sulla specificità clinica

Specificità clinica nei campioni negativi all'HIV-1

I campioni di plasma EDTA negativi all'HIV-1 precedentemente congelati ottenuti da donatori di sangue intero volontari sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. I test sono stati eseguiti con 3 lotti di kit di reagenti in 3 centri esterni. La specificità clinica è stata calcolata come percentuale di campioni negativi all'HIV-1 con risultati di "Non rilevato". Sono stati analizzati seicento (600) campioni di plasma negativi all'HIV-1 e l'RNA dell'HIV-1 non è stato rilevato in nessuno dei 600 campioni. La specificità nei campioni di plasma negativi era del 100% (600/600, Punteggio IC al 95%: dal 99,4% al 100%).

Specificità clinica nella popolazione a basso rischio

I campioni precedentemente congelati ottenuti da donatori di sangue per la prima volta e da donatori non di sangue a basso rischio di infezione da HIV-1 sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. I test sono stati eseguiti con 1 lotto di kit di reagenti in 1 centro esterno. La specificità clinica è stata calcolata confrontando i risultati del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con i risultati del test NAT.

La Tabella 19 mostra la specificità del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in una popolazione a basso rischio per tipo di campione.

Tabella 19: Specificità clinica del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in una popolazione a basso rischio per tipo di campione

Tipo di campione	n	TP	FP	TN	FN	Specificità in % (IC al 95%) ^a
Tutti	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Siero	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plasma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, FP = falso positivo, VN = vero negativo, VP = vero positivo.

^aIC Clopper-Pearson.

^b1 dei 2 campioni di siero con risultati falsi positivi è risultato positivo quando testato utilizzando un test immunologico combinato antigene/anticorpo HIV-1/HIV-2 di quarta generazione.

Studi sulla sensibilità clinica

Sensibilità clinica nei campioni positivi all'HIV-1

I campioni positivi all'HIV-1 precedentemente congelati sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. I test sono stati eseguiti con 2 lotti di kit di reagenti presso 3 centri, di cui 2 esterni.

La Tabella 20 mostra la sensibilità del test Aptima HIV 1 Quant Dx Assay in campioni positivi per tipo di campione.

Tabella 20: Sensibilità clinica del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in campioni positivi all'HIV-1 per tipo di campione

Tipo di campione	n	TP	FN	Sensibilità in % (IC al 95%) ^a
Tutti	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Siero	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plasma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

Tabella 20: Sensibilità clinica del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in campioni positivi all'HIV-1 per tipo di campione (continua)

IC = intervallo di confidenza, FN = falso negativo, VP = vero positivo.

^aIC Clopper-Pearson.

Sensibilità clinica nella popolazione ad alto rischio

I campioni raccolti in modo prospettico da soggetti ad alto rischio di infezione da HIV-1 sono stati analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. I test sono stati eseguiti con 1 lotto di kit di reagenti presso 3 centri, di cui 2 esterni. La sensibilità clinica è stata calcolata confrontando i risultati del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay con i risultati del test NAT.

Dei 498 campioni valutabili, 332 erano campioni di plasma e 166 erano campioni di siero. La sensibilità è stata del 100% (1/1, IC al 95%: dal 20,7% al 100%) nei campioni di siero. Non è stato possibile valutare la sensibilità nei campioni di plasma poiché non esistono campioni con risultati del test veri positivi o falsi negativi osservati.

Positività in campioni sierodiscordanti

Campioni sierodiscordanti precedentemente congelati (ovvero, ripetutamente reattivi a un test immunologico HIV iniziale e indeterminati o negativi a un test immunologico supplementare) sono stati ottenuti da donatori di sangue e i donatori non di sangue sono stati testati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Dei 473 campioni valutabili, 76 sono stati selezionati dai pannelli di sieroconversione. I test sono stati eseguiti con 2 lotti di kit di reagenti in 1 centro interno. La positività è stata calcolata per i campioni sierodiscordanti analizzati con il test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

La Tabella 21 seguente mostra la positività del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay nei campioni sierodiscordanti per gruppo di campioni, tipo di test HIV supplementare e risultato del test HIV supplementare.

Tabella 21: Positività del test Aptima HIV-1 Quant Dx Assay in campioni sierodiscordanti

Tipo di test supplementare	Risultato del test supplementare	Positività % (n/N) IC al 95% ^a		
		Gruppo pannelli senza sieroconversione		Gruppo pannelli di sieroconversione
		3 ^a gen	4 ^a gen	4 ^a gen
HIV-1/2 immunocromatografico	Negativo	N/D	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
HIV-1/2 immunocromatografico	indeterminato	N/D	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
HIV-1/2 rapido	Negativo	N/D	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
HIV-1/2 rapido	indeterminato	N/D	0,0 (0/2) 0,0-65,8	N/D
HIV-1 WB o IFA	Negativo	0,4 (1/239) 0,1-2,3	100 (4/4) 51,0-100	100 (35/35) 90,1-100
HIV-1 WB o IFA	indeterminato	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

3^a gen = test immunologico di terza generazione, 4^a gen = test immunologico di quarta generazione, IC = intervallo di confidenza, IFA = test di immunofluorescenza indiretta, N/D = non disponibile, WB = Western blot.

^aPunteggio IC.

Bibliografia

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. Rouzioux, 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-Ferraira, 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. DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
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. Quantificazione dell'RNA dell'HIV-1 nel plasma utilizzando NASBA durante l'infezione primaria da HIV-1. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
33. **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.
34. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* Documento CLSI EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
38. **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.

Recapiti e cronologia delle revisioni



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Per l'indirizzo e-mail e il numero di telefono dell'assistenza tecnica e del servizio clienti specifici del Paese, visitare www.hologic.com/support.

Incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo nell'Unione europea devono essere segnalati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion e i relativi loghi sono marchi commerciali o marchi registrati di Hologic, Inc. e/o delle aziende consociate negli U.S.A. e/o in altri Paesi.

Armored RNA è un marchio commerciale di Asuragen, Inc.

Tutti gli altri marchi commerciali che possono apparire in questo foglietto illustrativo appartengono ai rispettivi proprietari.

Questo prodotto potrebbe essere protetto da uno o più brevetti USA identificati nel sito www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic Inc. Tutti i diritti riservati in tutto il mondo.

AW-28214-701 Rev. 002

2025-10

Cronologia delle revisioni	Data	Descrizione
AW-28214-701 Rev. 001	Aprile 2025	• Versione iniziale in conformità con i requisiti IVDR.
AW-28214-701 Rev. 002	Ottobre 2025	• Questa versione è conforme a AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).