

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Használati útmutató
In vitro diagnosztikai használatra
 Kizárólag az Egyesült Államokba történő exportra

Általános tudnivalók	3
Alkalmazási terület	3
A teszt összefoglalása és leírása	3
Az eljárás alapelve	4
A biztonságosság és a teljesítőképesség összefoglalása	5
Figyelmeztetések és óvintézkedések	5
Reagenstárolási és -kezelési előírások	9
Mintavétel és -tárolás	10
Minták a Panther Systemben	13
A vizsgálati minta szállítása	13
Panther System	14
Mellékelt reagensok és anyagok	14
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok	16
Opcionális anyagok	17
A Panther System teszteljárás	17
Megjegyzések az eljáráshoz	22
Minőség-ellenőrzés	23
A vizsgálat kalibrálása	23
Negatív és pozitív kontrollok	23
Belső kalibrátor/Belső kontroll	23
Az eredmények értelmezése	24
Korlátozások	26
Analitikai teljesítőképesség	27
Kimutatási határérték (LoD) a HIV-1 WHO 3. nemzetközi standard használatával	27
A kimutatási határérték a HIV-1 altípusok és csoportok között	28
Lineáris tartomány	29
Linearitás a HIV-1 altípusok és csoportok között	30
A HIV-1 WHO 3. nemzetközi standard alkalmazásával megállapított mennyiségi meghatározás alsó határértéke	31
A LLoQ ellenőrzése a HIV-1 altípusok és csoportok között	32
Precizitás	33
Potenciálisan zavaró endogén és exogén anyagok	34
Teljesítőképesség HIV-1-negatív vizsgálati mintákkal	36
Potenciálisan zavaró mikrobiális szennyező anyagok	36
Klinikai vizsgálati minták megismételhetősége	38
Minta hígítása mintahígítóval	39
Átvitel	39
Szerokonverziós panel	40
Szérum, plazma egyenértékűségi vizsgálat	41
Reprodukálhatósági vizsgálatok	41

Klinikai teljesítőképesség	44
A vírusterhelés kvantitatív meghatározásának validálása	44
Klinikai specifikitási vizsgálatok	45
Klinikai érzékenységi vizsgálatok	45
Pozitivitás a szerodiszzkordáns mintákban	46
Irodalomjegyzék	47
Elérhetőségek és változtatási előzmények	49

Általános tudnivalók

Alkalmazási terület

Az Aptima® HIV-1 Quant Dx assay egy in vitro nukleinsav-amplifikációs teszt az 1-es típusú humán immundeficiencia vírus (HIV-1) M, N és O jelölésű RNS-csoportjainak kimutatására és mennyiségi meghatározására a teljesen automatizált Panther™ Systemen. A HIV-1 okozta fertőzés diagnosztizálásának segédeszközeként szolgál a HIV-1 fertőzés visszaigazolására, valamint a HIV-1 vírussal fertőzött betegek klinikai kezelésének támogatására.

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay a HIV-1-fertőzés (akut vagy primer fertőzés) diagnosztizálásának segédeszközeként is használható. A HIV-1 RNS jelenléte a HIV-1 elleni antitestekkel nem rendelkező betegek plazmájában vagy szérumában akut vagy elsődleges HIV-1 fertőzésre utal. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay kiegészítő tesztként használható olyan minták esetében, amelyeknél a jóváhagyott HIV immunoassay-k ismételten reaktív eredményt adnak. Ha a minta reaktívnek bizonyul az Aptima HIV-1 Quant Dx assay során, az megerősíti a HIV-1 fertőzést.

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay a klinikai tünetekkel és más laboratóriumi markerekkel együtt használható a betegséggel kapcsolatos prognózis előrejelzésére is HIV-1-fertőzött egyéneknél. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay az antiretrovirális kezelés hatásának nyomon követésére használható a HIV-1 RNS koncentráció változásának mérésével plazmamintákban.

Amikor az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-t a HIV-1-fertőzés diagnosztizálásának segédeszközeként használják, a kvalitatív eredmények teljesítőképessége plazma és szérum vizsgálati minták esetében is megalapozott.* Az antiretrovirális terápia hatásának nyomon követését segítő eszközként történő alkalmazásakor a kvantitatív eredmények teljesítőképessége csak plazma vizsgálati mintákkal megállapított. Szérumminták nem használhatók mennyiségi eredményekhez.

Ez az assay nem alkalmas vér- vagy plazmadonorok szűrésére.

**Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel szárazvérfolt- (dried blood spot, DBS) minták is használhatók. A DBS vizsgálati minták rendeltetésszerű használatának teljes leírását és a DBS vizsgálati mintákra vonatkozó információkat lásd az Aptima HIV-1 Quant Dx assay használati utasításában.*

A teszt összefoglalása és leírása

Az epidemiológiai vizsgálatok az 1-es típusú humán immundeficiencia vírust (HIV-1) azonosították a szerzett immunhiányos szindróma (AIDS) kórokozójaként (1-7). A HIV szexuális érintkezés, fertőzött vérrel vagy vérkészítményekkel való érintkezés vagy anyáról gyermekre történő átvitel útján terjedhet (8). A HIV-expozíciót követő 3-6 héten belül a fertőzötteknél általában rövid, akut szindróma alakul ki, amelyet influenzaszerű tünetek jellemeznek, és a perifériás vérben magas virémia szintekkel jár (9-12). A legtöbb fertőzött egyénnél ezt a korai szakaszt HIV-specifikus immunválasz és a plazma virémia csökkenése követi, általában a tünetek megjelenésétől számított 4–6 héten belül (13-14). A szerokonverziót követően a fertőzöttek általában klinikailag stabil, tünetmentes fázisba lépnek, amely évekig is eltarthat (15-17). A tünetmentes időszakot tartós, alacsony szintű plazma virémia (18) és a CD4+ T-limfociták fokozatos csökkenése jellemzi. Ez a kimerülés súlyos immunhiányhoz, több opportunista fertőzéshez, rosszindulatú daganatokhoz és halálhoz vezet (19). Bár a fertőzés tünetmentes fázisában a perifériás vérben a vírusszint viszonylag alacsony, a vírusszaporodás és a vírusürítés dinamikus folyamatnak tűnik, amelyben a vírustermelés és a CD4+ sejtek fertőzésének magas arányát a vírusürítés, a fertőzött sejtek elhalása és a CD4+ sejtek újrateermelődése ugyanolyan magas aránya ellensúlyozza, ami viszonylag stabil plazmavirémia- és CD4+ sejt szintet eredményez (20-22).

A HIV kvantitatív mérései a perifériás vérben kimutatták, hogy a magasabb vírusszintek összefüggésbe hozhatók a HIV-vel összefüggő betegség klinikai progressziójának fokozott kockázatával, és igazolták, hogy a plazma vírusszintjének csökkenése összefüggésbe hozható a klinikai progresszió csökkent kockázatával (23-25). A perifériás vér vírusszintje a HIV p24 antigén mérésével a szérumban, a HIV kvantitatív tenyésztésével a plazmából, vagy a vírus RNS közvetlen mérésével a plazmában nukleinsav-amplifikációs vagy jelamplifikációs technológiák alkalmazásával határozható meg (26-30).

Az olyan molekuláris technikákat, mint a transzkripciómediált amplifikáció (TMA), széles körben használják nukleinsavak amplifikálására (31). A TMA a nukleinsavak kimutatására specifikus célmolekula-megkötést és izotermikus amplifikációt alkalmaz több fertőző betegségben, beleértve a CT, NG, HPV, TV és HIV/HCV/HBV kimutatására a véradók vizsgálatához (32).

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat a TMA segítségével több hosszú primert használ, amelyek a HIV-1 genom több régióját célozzák, hogy kompenzálják a HIV-1 magas mutációs rátáját. A vizsgálat kettős célpontú amplifikációs és detektáló rendszereket tartalmaz, amelyek a HIV-1 genom két régióját (pol és LTR) egymástól függetlenül célozzák meg. A vizsgálati szoftver nem átlagolja a két rendszer jeleit.

Az Aptima kettős célpontú rendszert úgy tervezték, hogy növelje a minta pontos kimutatásának és kvantitatív meghatározásának esélyét.

Az eljárás alapelve

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay három fő lépést foglal magában, amelyek mindegyike egyetlen csőben zajlik a Panther Systemben: a célmolekula megkötése, a célmolekula transzkripciómediált amplifikáció (TMA) általi amplifikációja és az amplifikációs termékek (amplikon) kimutatása fluoreszcens jelölésű próbákkal (fáklyákkal).

A célmolekula megkötése során a vírus-nukleinsavakat izolálják a vizsgálati mintákból. A vizsgálati mintát detergenssel kezelik a vírusburok szolubilizálása, a fehérjék denaturálása és a vírusgenom RNS-ének felszabadítása érdekében. A megkötő oligonukleotidok a HIV-1 genom erősen konzervált régióhoz hibridizálódnak, ha azok jelen vannak a vizsgálati mintában. A hibridizált célmolekulát ezután mágneses mikroszemcsékre rögzítik, amelyeket mágneses térben választanak el a vizsgálati mintától. A mosási lépések eltávolítják az idegen komponenseket a reakciócsőből.

A célmolekulák amplifikációja TMA-val, egy transzkripciómediált nukleinsav-amplifikációs módszerrel történik, amely két enzimet, a Moloney egér leukémiavírus (MMLV) reverz transzkriptázát és a T7 RNS-polimerázt használ fel. A reverz transzkriptáz segítségével létrehozzák a célszekvencia DNS-kópiáját (amely a T7 RNS-polimeráz promóterszekvenciáját tartalmazza). A T7 RNS-polimeráz a DNS-kópia alapján több kópiát készít az RNS amplikonról. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay a TMA-módszert alkalmazza a HIV-1 RNS két régiójának (pol és LTR) amplifikálásához. Az egyes régiók amplifikációjából független jel keletkezik, olyan specifikus primerekkel, amelyeket a HIV-1 M, N és O csoportjainak amplifikálására terveztek.

A kimutatás egyszálú nukleinsav fáklyákkal történik, amelyek az egyes célmolekulák amplifikációja során jelen vannak, és valós időben specifikusan hibridizálnak az amplikonokhoz. Minden fáklya rendelkezik egy fluorofórral és egy csillapítóval. Amikor a fáklya nem hibridizálódik az amplikonhoz, a csillapító a fluorofór közelében van, és elnyomja a fluoreszcenciát. Amikor a fáklya az amplikonhoz kötődik, a csillapító távolabb kerül a fluorofortól, és egy fényforrás által gerjesztve egy adott hullámhosszon jelet fog kibocsátani. Minél több fáklya hibridizálódik az amplikonhoz annál nagyobb fluoreszcens jel keletkezik. Az egyes célmolekulák fluoreszcens jele

esetében meghatározott küszöbérték eléréséhez szükséges idő („tTime”) arányos a kiindulási HIV-1-koncentrációval. Minden reakció rendelkezik egy belső kalibrátorral/belső kontrollal (IC), amely ellenőrzi a vizsgálati minta feldolgozásában, az amplifikációban és a detektálásban előforduló potenciális eltéréseket. A minta koncentrációját ezután a Panther System szoftvere a pol- és LTR-amplifikáció tTime értékének felhasználásával számítja ki. Algoritmus és a tárolt kalibrációs információkkal való összehasonlítás révén a Panther System szoftvere minden egyes mintára egyetlen, klinikailag validált eredményt ad vissza.

A biztonságosság és a teljesítőképesség összefoglalása

A biztonság és a teljesítőképesség összefoglalása (summary of safety and performance, SSP) az orvostechikai eszközök európai adatbázisában (Eudamed) érhető el, ahol az alapvető eszközazonosítókhoz (Basic UDI-DI) kapcsolódik. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay SSP-jének megkereséséhez tekintse meg az alapvető egyedi eszközazonosítót (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Figyelmeztetések és óvintézkedések

- A. *In vitro* diagnosztikai használatra.
- B. Szakemberek általi használatra.
- C. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay nem alkalmas a HIV-1 donor vérben való jelenlétének szűrővizsgálatára.
- D. Az érvénytelen eredmények kockázatának csökkentése érdekében a vizsgálat elvégzése előtt figyelmesen olvassa el a teljes használati utasítást és a *Panther/Panther Fusion™ System kezelői kézikönyvét*.

Laboratóriumhoz kapcsolódó

- E.  FIGYELEM: A vizsgálat kontrolljai humán plazmát tartalmaznak. A plazma negatív a hepatitis B felszíni antigénre (HBsAg), a HCV elleni antitestekre, a HIV-1 és HIV-2 antitestekre és a HIV antigénre, ha az USA Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága által engedélyezett eljárásokkal vizsgálják. Ezenkívül a plazma nem reaktív a HCV-RNS-re és a HIV-1 RNS-re, ha engedélyezett nukleinsav-tesztekkel vizsgálják, egyesített minták felhasználásával. Minden emberi vérből származó anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedések betartásával kell kezelni (33-35).
- F. Ezt az eljárást kizárólag az Aptima HIV-1 Quant Dx assay használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően képzett személyzet végezheti el. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsa a megfelelő viaszgálóhelyi eljárásokkal.
- G. Kizárólag a gyártótól beszerezett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- H. Tartsa be a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipettázzon szájon át. A kijelölt munkaterületeken tilos az étkezés, ivás vagy dohányzás. A minták és a készletek reagenseinek kezelése során viseljen egyszer használatos, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A minták és a készletek reagenseinek kezelését követően a kezet alaposan meg kell mosni.

- I. A munkafelületeket, pipettákat és egyéb felszereléseket rendszeresen fertőtleníteni kell 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal.
- J. A vizsgálati mintákkal és reagensekkel érintkezésbe került anyagokat a helyi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa (33-36). Alaposan tisztítson meg és fertőtlenítsen minden munkafelületet.
- K. A kontrollok nátrium-azidot tartalmaznak tartósítószerként. Ne használjon fémcsövet a reagensek átviteléhez. Ha a nátrium-azid vegyületeket tartalmazó oldatokat vízvezetékrendszerbe juttatják, azokat hígítani kell, és bőséges mennyiségű folyóvízzel át kell öblíteni. Ezek az óvintézkedések a lerakódások felhalmozódásának elkerülése érdekében javasoltak a fémcsővezetékben, amelyekben robbanásveszélyes állapotok alakulhatnak ki.
- L. A molekuláris laboratóriumokra vonatkozó bevett szabványos gyakorlatok közé tartozik a környezeti ellenőrzés. A laboratóriumi környezet ellenőrzésére a következő eljárás javasolt.
 - 1. Vegyen elő egy vattapálcát, és párosítsa az Aptima® vizsgálatiminta-alikvot csővel (SAT).
 - 2. Címkezzon fel megfelelően minden SAT csövet.
 - 3. Töltsön meg minden SAT csövet 1 ml Aptima® vizsgálatiminta-hígítóval.
 - 4. A felületi minták levételéhez enyhén nedvesítse meg a vattapálcát nukleázmentes, ionmentes vízzel.
 - 5. Függőleges fel-le mozdulatokkal törölje át a vizsgálni kívánt területet. Forgassa el a vattapálcát körülbelül másfél fordulattal, miközben áttörli a területet.
 - 6. Azonnal helyezze a kenetmintát a csőbe, és óvatosan forgassa meg a vattapálcát a hígítószerben, hogy kivonja a vattapálcában lévő lehetséges anyagokat. Nyomja a vattapálcát a szállítócső oldalára, hogy a lehető legtöbb folyadékot kiperéselje. Dobja ki a vattapálcát, és zárja le a csövet.
 - 7. Ismételje meg ezeket a lépéseket minden kenetminta esetében.
 - 8. Tesztelje a kenetmintákat molekuláris vizsgálattal.

Mintához kapcsolódó

- M. A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket (33-35). A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszereket a helyi szabályozásoknak megfelelően kell meghatározni (36). Ezt az eljárást kizárólag az Aptima HIV-1 Quant Dx assay használatára és a fertőző anyagok kezelésére megfelelően képzett személyzet végezheti.
- N. A vizsgálati minta épségének megőrzése érdekében megfelelő tárolási körülményeket kell biztosítani a minta szállítása során. A vizsgálati minta stabilitását az ajánlástól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- O. A minták kezelési lépései során kerülje el a keresztszennyeződést. Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyezést, amikor a vizsgálati mintákat fellazítja vagy kibontja. A vizsgálati minták rendkívül nagy mennyiségű mikroorganizmust tartalmazhatnak. Ügyeljen arra, hogy a vizsgálatiminta-tartályok ne érintkezzenek egymással, és a felhasznált anyagokat ne a nyitott csövek felett áthaladva dobja ki. Ha megérinti a mintát, cserélje le a kesztyűjét.

Vizsgálathoz kapcsolódó

- P. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay kvantitatív eredményeit plazmamintákkal értékelték. Szérum nem használható kvantitatív eredményekhez. A minőségi eredményeket plazma és szérum esetében is értékelték. Ha a tesztkészletet a kifejezetten a tesztkészlettel való használatra jóváhagyott vizsgálati mintákon kívül más vizsgálati mintákkal használja, az pontatlan teszteredményeket eredményezhet.
- Q. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-t a Panther System szoftverének algoritmusai segítségével klinikailag validálták. A jelentendő validált eredményt a Panther System szoftvere adja meg az Eredmények képernyőn és az Eredmények jelentésben.
- R. A lejáratási idő után ne használja a reagenskészletet, a kalibrátort vagy a kontrollokat.
- S. A különböző törzstételszámú készletekből származó vizsgálati reagenseket nem szabad felcserélni, összekeverni vagy kombinálni. A vizsgálati folyadékok különböző tételszámúak lehetnek. A kontrollok és a kalibrátor különböző tételszámúak lehetnek.
- T. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy nukleázzal történő szennyeződését.
- U. Zárja le és tárolja az összes vizsgálati reagenst a megadott hőmérsékleten. A nem az előírt módon tárolt vizsgálati reagensek befolyásolhatják a vizsgálat teljesítőképességét. További információkért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások* és *Opcionális anyagok*.
- V. Ne öntse össze a vizsgálati reagenseket vagy folyadékokat erre vonatkozó utasítás nélkül. A reagenseket és folyadékokat nem szabad utántölteni. A Panther System ellenőrzi a reagensek szintjét.
- W. A készletben lévő egyes reagensek veszélyjelzésekkel vannak ellátva.

Megjegyzés: A veszélyt jelző mondatok megfelelnek az EU-s biztonsági adatlapokon (SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a www.hologicsds.com honlapon található Biztonságiadatlap-könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS). A szimbólumokkal kapcsolatos további információért lásd a www.hologic.com/package-inserts honlapon található szimbólummagyarázatot.

EU-s veszélyességi információk	
—	Amplifikációs reagens Magnézium-klorid 60–65% — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Enzimreagens HEPES 1–5% Triton X-100 1–5% — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

—	Enzimrekonstitúciós oldat <i>Glicerín 20–25%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>HEPES 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Promoterreagens <i>Magnézium-klorid 60–65%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
—	Célmolekula-megkötő reagens <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauril-szulfát, lítiumsó 5–10%</i> <i>Lítium-hidroxid, monohidrát 1–5%</i> <i>Borostyánkősav 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.
  	HIV VL Kit kontrollok <i>Humán szérum / Humán plazma 95–100%</i> <i>Nátrium-azid < 1%</i> VESZÉLY H300 – Lenyelve halálos. H410 – Nagyon mérgező a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P264 – A használatot követően az arcot, kezét és a kitett bőrt alaposan meg kell mosni. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P301 + P310 – LENYELES ESETÉN: azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ vagy orvoshoz. P321 – Szakellátás (lásd a kiegészítő elsősegély-nyújtási utasításokat a címkén). P330 – A száját ki kell öblíteni. P391 – A kiömlött anyagot össze kell gyűjteni.
—	HIV VL Kit kalibrátorok <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%</i> <i>Succinic Acid 1–5%</i> — H412 – Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. P273 – Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P501 – A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

Reagenstárolási és -kezelési előírások

- A. Az alábbi táblázat a reagensek, kontrollok és a kalibrátor tárolási körülményeit és stabilitását tartalmazza.

Reagens	Bontatlanul tárolás	Bontott készlet (feloldott)	
		Tárolás	Stabilitás
qHIV-1 amplifikációs reagens	2 °C és 8 °C között		
qHIV-1 amplifikációs oldószer	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHIV-1 enzimreagens	2 °C és 8 °C között		
qHIV-1 enzimoldószer	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHIV-1 promoterreagens	2 °C és 8 °C között		
qHIV-1 promoteroldószer	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHIV-1 célmolekula-megkötő reagens	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (negatív kontroll)	–15 °C és –35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 20 órán belül
qHIV-1 LPC CONTROL + (alacsony pozitív kontroll)	–15 °C és –35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 20 órán belül
qHIV-1 HPC CONTROL + (magas pozitív kontroll)	–15 °C és –35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 20 órán belül
qHIV-1 PCAL (pozitív kalibrátor)	–15 °C és –35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg Használja fel 20 órán belül

^a Amikor a reagenseket kiveszik a Panther Systemből, azonnal vissza kell helyezni őket a megfelelő tárolási hőmérsékletre.

- B. A fel nem használt feloldott reagenseket és a célmolekula-megkötő reagenst (target capture reagent, TCR) 30 nap után, vagy a törzstétel lejárat ideje után ki kell dobni, amelyek hamarabb következnek be.
- C. A Panther System készülékben tárolt reagensek a készülékben 72 órán át stabilak. A reagensek akár 8 alkalommal is betölthetők a Panther Systembe. A Panther System a reagensek betöltését minden alkalommal naplózza.
- D. A kalibrátor felolvasztása után az oldatnak tisztának kell lennie, azaz nem lehet zavaros vagy nem tartalmazhat csapadékot.
- E.  A promoterreagens és a feloldott promoterreagens fényérzékeny. A tárolás és a felhasználásra való előkészítés során védje ezeket a reagenseket a fénytől.

Mintavétel és -tárolás

Megjegyzés: Minden vizsgálati mintát úgy kell kezelni, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Be kell tartani az általános óvintézkedéseket.

Megjegyzés: A minták kezelési lépései során ügyeljen arra, hogy ne alakuljon ki keresztszennyeződés. Például a felhasznált anyagokat ne nyitott csövek felett átnyúlva dobja ki.

Megjegyzés: Csak műanyag másodlagos csövek tárolása ajánlott.

A következő üveg- vagy műanyag csövekbe levett teljes vérminták használhatók:

Kvantitatív mérésekhez:

- EDTA vagy savas citrát-dextróz (ACD) véralvadásgátlót tartalmazó csövek vagy
- plazmaelőkészítő csövek (PPT-k)

Kvalitatív meghatározáshoz:

- EDTA vagy ACD véralvadásgátlót tartalmazó csövek, vagy
- PPT-k, vagy
- szérumszeparátor csövek (SST-k).

Szérum esetében hagyja, hogy a további feldolgozás előtt kialakuljon az alvadék.

A. Vizsgálatiminta-vétel

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintát a mintavételtől számított 24 órán belül centrifugálni kell. Válassza el a plazmát vagy szérumot a vörösvértest-pellettől a gyártó által a használt csőre vonatkozóan megadott utasításokat követve. A plazma vagy szérum a Panther Systemben elsődleges csőben vizsgálható, vagy átvihető egy másodlagos csőbe. Az 500 µl-es reakciótér fogat eléréséhez az elsődleges gyűjtőcsövek esetében a plazma vagy szérum minimális térfogata legfeljebb 1200 µl, a másodlagos csövek esetében pedig 700 µl. A következő táblázat meghatározza az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusok holt térfogati követelményeit:

Cső (méret és típus)	Holt térfogat a Panther Systemen
Aptima minta alikvot cső (SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm géllal	0,3 ml
16 x 100 mm géllal	0,7 ml

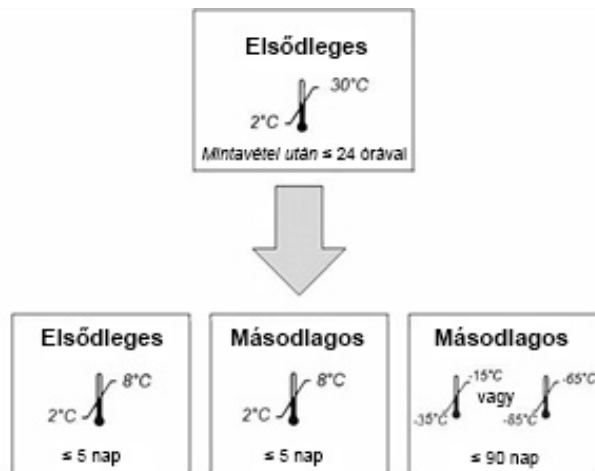
Ha nem vizsgálják meg azonnal, a plazma vagy a szérum az alábbi előírásoknak megfelelően tárolható. Ha másodlagos csőbe helyezi át, a plazma -20 °C-on vagy -70 °C-on, a szérum pedig -20 °C-on fagyasztható. Az eredmény befolyásolásának elkerülése érdekében ne lépje túl a három fagyasztási-felolvasztási ciklust. Ne fagyassza le a vizsgálati mintákat EDTA, ACD vagy szérumszeparátor elsődleges gyűjtőcsövekben.

B. Vizsgálati minta tárolási feltételei

1. EDTA és ACD plazma vizsgálati minták

A centrifugált plazmát tartalmazó elsődleges csövek a vizsgálatiminta-vételt követően legfeljebb 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók (1. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a plazma hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (1. ábra, alsó dobozok):

- Az elsődleges gyűjtőcsőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 3 napig, vagy
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C vagy -70 °C-on legfeljebb 90 napig.

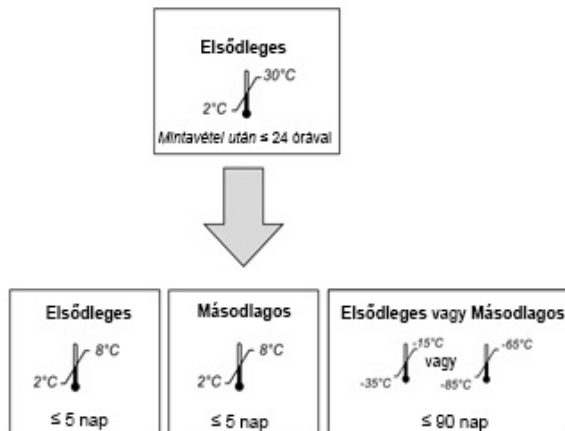


1. ábra. EDTA/ACD csövek tárolási feltételei

2. PPT vizsgálati minták

A centrifugált plazmát tartalmazó PPT-k a vizsgálatiminta-vételt követően legfeljebb 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók (2. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a plazma hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (2. ábra, alsó dobozok):

- A PPT-ben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 3 napig, vagy
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A PPT-ben vagy másodlagos csőben -20 °C vagy -70 °C-on legfeljebb 90 napig.

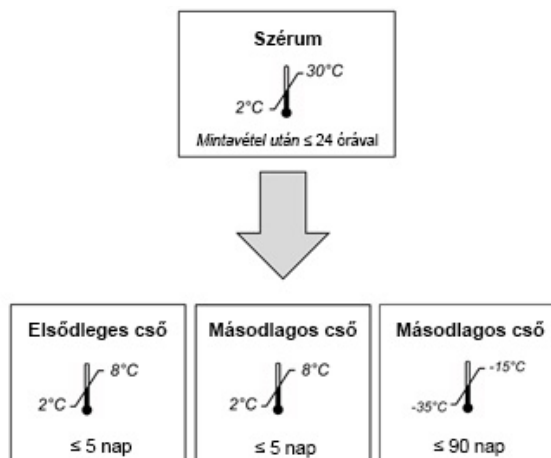


2. ábra. A PPT-k tárolási feltételei

3. Szérumcső vizsgálati minták

A centrifugált szérumot tartalmazó szérumcsövek a vizsgálatiminta-vételt követően legfeljebb 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók (3. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a szérum hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (3. ábra, alsó dobozok):

- A szérumcsőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig,
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 90 napig.

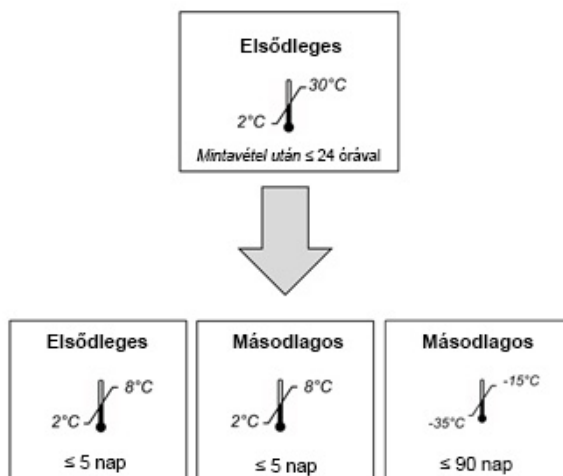


3. ábra. A szérumcsövek tárolási feltételei

4. SST vizsgálati minták

A centrifugált szérumot tartalmazó SST-k a vizsgálatiminta-vételt követő 24 óráig 2 °C és 30 °C között tárolhatók (4. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a szérum hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (4. ábra, alsó dobozok):

- A SST-ben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 90 napig.



4. ábra. Az SST-k tárolási feltételei

C. A plazma vizsgálati minták hígítása

Megjegyzés: A plazma vizsgálati minták a Panther Systemmel történő vizsgálathoz a SAT csőben vagy egy másodlagos csőben hígíthatók. További információkért lásd az E.4. lépést itt: A Panther System teszteljárás.

Megjegyzés: Ha a vizsgálati mintát hígítják, a hígítás után azonnal meg kell vizsgálni. Ne fagyassza le a hígított mintát.



Megjegyzés: A plazma vizsgálati minták hígítása nem használható kvantitatív eredményekhez. Diagnosztikai eredményekhez ne hígítsa a plazmamintákat.

Minták a Panther Systemben

A mintákat a Panther Systemben legfeljebb összesen 8 órán át lehet fedetlenül hagyni.

A minták kivehetők a Panther Systemből és vizsgálhatók, amennyiben a készülékben töltött teljes idő nem haladja meg a 8 órát a minta Panther System általi pipettázása előtt.

A vizsgálati minta szállítása

Biztosítsa a *Mintavétel és -tárolás* című részben leírt mintaanyag-tárolási feltételeket.

Megjegyzés: A vizsgálati minták szállítását a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell végezni.

Panther System

A Panther Systemen végzett Aptima HIV-1 Quant Dx assay-hoz szükséges reagensek felsorolását lásd alább. A reagensek neve mellett a reagensazonosító szimbólumok is fel vannak tüntetve.

Mellékelt reagensek és anyagok

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit

100 teszt (1 vizsgálati készlet, 1 kalibrátor készlet és 1 kontroll készlet) (kat. sz. PRD-03000)

További kalibrátorok és kontrollok külön rendelhetők. A vonatkozó katalógusszámokat lásd alább.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit

(kézhezvétel után 2 °C és 8 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
A	qHIV-1 amplifikációs reagens <i>Nem fertőző nukleinsav pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
E	qHIV-1 enzimreagens <i>Reverz transzkriptáz és RNS-polimeráz térfogatnövelő szert tartalmazó, HEPES pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
PRO	qHIV-1 promoterreagens <i>Nem fertőző nukleinsav pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
AR	qHIV-1 amplifikációs oldószer <i>Glicerint és tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHIV-1 enzimoldószer <i>Felületaktív anyagot és glicerint tartalmazó, HEPES-sel pufferelt oldat.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHIV-1 promoteroldószer <i>Glicerint és tartósítószereket tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHIV-1 célmolekula-megkötő reagens <i>Nukleinsavak pufferelt sóoldatban, amely szilárd fázisú, nem fertőző nukleinsavakat és belső kalibrátort tartalmaz.</i>	1 x 72,0 ml
	Feloldáshoz használt feltétek	3
	Törzstétel vonalkódos lapja	1 lap

Aptima HIV-1 Quant Dx Calibrator Kit (Kat. Sz. PRD-03001)

(kézhezvétel után –15 °C és –35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
PCAL	qHIV-1 pozitív kalibrátor <i>Transzkriptum pufferoldatban.</i>	5 × 2,5 ml
	Kalibrátor vonalkódcímke	—

Aptima HIV-1 Quant Dx Controls Kit (Kat. Sz. PRD-03002)

(kézhezvétel után –15 °C és –35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
NC	qHIV-1 negatív kontroll <i>HIV-1 negatív fibrinmentes humán plazma, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 × 1,5 ml
LPC	qHIV-1 alacsony pozitív kontroll <i>Nem fertőző HIV-1 Armored RNS fibrinmentes humán plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 × 1,5 ml
HPC	qHIV-1 magas pozitív kontroll <i>Nem fertőző HIV-1 Armored RNS fibrinmentes humán plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 × 1,5 ml
	Kontroll vonalkódcímke	—

Szükséges, de külön beszerezhető anyagok

Megjegyzés: Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

Anyag	Kat. sz.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System Continuous Fluids and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx Calibrator Kit	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx Controls Kit	PRD-03002
Panther™ Run Kit for Real Time Assays (csak valós idejű vizsgálatokhoz)	PRD-03455 (5000 teszt)
Aptima® Assay Fluids Kit (más néven Universal Fluids kit) <i>tartalma: Aptima® Wash Solution, Aptima® Buffer for Deactivation Fluid és Aptima® Oil Reagent</i>	303014 (1000 teszt)
<i>Többcsöves egységek (MTU-k)</i>	104772-02
<i>Panther™ Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther™ Waste Bin Cover</i>	504405
Vagy Panther™ System Run Kit <i>(nem valós idejű TMA vizsgálatok valós idejű TMA vizsgálatokkal párhuzamos futtatása esetén) MTU-kat, hulladéktároló zsákokat, hulladéktároló fedeleket, automatikus detektálót és vizsgálati folyadékokat tartalmaz</i>	303096 (5000 teszt)
Hegyek, 1000 µl-es filteres, vezetőképes, folyadékérzékelő, eldobható <i>Nem minden termék érhető el minden régióban. Régióspecifikus információkért forduljon képviselőjéhez</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Fehéritőszér 5% – 8,25% (0,7 M – 1,16 M) nátrium-hipoklorit oldat	—
Eldobható púdermentes kesztyűk	—
Reagens cserekupakok <i>Amplifikációs reagens, enzimreagens és promoterreagens oldószer palackok</i> <i>TCR palack</i>	CL0041 (100 kupak) CL0040 (100 kupak)
Műanyag hátlappal borított laboratóriumi terítők	—
Szálmentes törülköző	—
Pipettor	—
Hegyek	—
Elsődleges gyűjtőcső (EDTA, ACD, PPT, SST, szérum) opciók: <i>13 mm × 100 mm</i> <i>13 mm × 75 mm</i> <i>16 mm × 100 mm</i>	— — —
Centrifuga	—
Vortex keverő	—

Opcionális anyagok

Anyag	Kat. sz.
Másodlagos cső opciók:	
12 mm × 75 mm	—
13 mm × 100 mm	—
16 mm × 100 mm	—
Aptima Specimen Aliquot Tubes (SAT-ok) (100 csomag)	FAB-18184
Szállítócső kupak (100 csomag) kupak SAT csőhöz	504415
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit vizsgálatiminta-hígítót, 100 SAT csövet és 100 kupakot tartalmaz	PRD-03478
Átviteli pipetták	—
A kereskedelemben kapható panelek például: HIV-1 a Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) vagy College of American Pathologists (CAP) HIV-vírusterhelés értékelő panel vagy SeraCare ACCURUN HIV panelek	—
Vattapálcák	—
Csőrázó	PRD-03488

A Panther System teszteljárás

Megjegyzés: A további eljárásleírásokat lásd a Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyvében.

A. A munkaterület előkészítése

1. Tisztítsa meg a reagensek készítéséhez használt munkafelületeket. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le ioncserélt (DI) vízzel. Ne hagyja rászáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Takarja le a reagensek és minták készítéséhez használt munkafelületeket tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.
2. Tisztítson meg egy külön munkafelületet a minták előkészítéséhez. A fent leírt eljárás szerint járjon el (A.1 lépés).
3. Tisztítsa meg a pipettorokat. A fent leírt eljárás szerint járjon el (A.1 lépés).

B. Kalibrátor és kontrollok előkészítése

Hagyja, hogy a kalibrátor és a kontrollok elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a feldolgozás előtt az alábbiak szerint:

1. Vegye ki a kalibrátort és a kontrollokat a tárolóból (-15 °C és -35 °C között), és helyezze 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletre. A felolvasztás során óvatosan fordítsa meg az egyes csöveket, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a cső tartalma teljesen felolvadt.

Választható. A kalibrátor- és kontrollocsöveket csőrázóra helyezheti, hogy a tartalmuk alaposan összekeveredjen. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a cső tartalma teljesen felolvadt.

Megjegyzés: Kerülje a túlzott habképződést a kalibrátor és a kontrollok megfordításakor. A hab zavarja a Panther System szintérzékelő funkcióját.

2. Amikor a cső tartalma felolvadt, törölje szárazra a cső külsejét egy tiszta, száraz, eldobható törlőkendővel.
3. A szennyeződés megelőzése érdekében ekkor még ne nyissa ki a csöveket.

C. Reagens feloldása/Új készlet előkészítése

Megjegyzés: Mindig kezdje a reagens feloldásával, és csak utána kezdje el a munkát a Panther Systemen.

1. A célmolekula-megkötő reagens (TCR) előkészítéséhez tegye az alábbiakat:

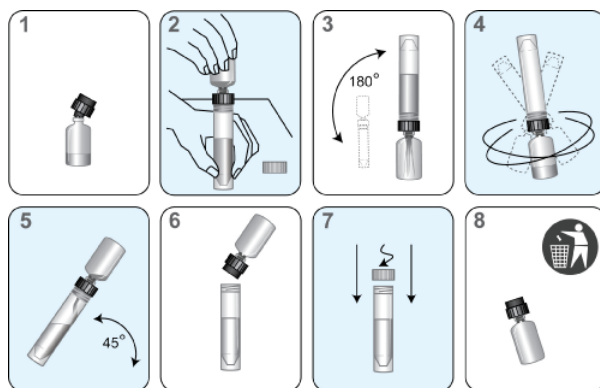
- a. Vegye ki a TCR-t a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Ellenőrizze a TCR palackján lévő tételszámot, hogy az megegyezik-e a törzstétel vonalkódos lapján szereplő tételszámmal.
- b. Azonnal rázza fel 10-szer erőteljesen a TCR palackot. Hagyja a TCR palackot legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni. Ez idő alatt legalább 10 percenként meg kell keverni és meg kell fordítani a TCR palackot.

Választható. A TCR palack előkészíthető egy csőrázón a következő utasításokat követve: Vegye ki a TCR-t a tárolóból (2 °C és 8 °C között), és azonnal rázza fel erőteljesen, 10-szer. Helyezze a TCR palackot egy csőrázóra, és hagyja a TCR-t legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni.

- c. Használat előtt győződjön meg arról, hogy az összes csapadék oldatban van, és a mágneses részecskék szuszpendálva vannak.
2. Az amplifikációs reagens, enzimreagens és promoterreagens újragyártásához végezze el a következőket:
 - a. Vegye ki a liofilizált reagenset és a megfelelő oldószereket a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Párosítsa össze az oldószereket a megfelelő liofilizált reagenssel.
 - b. Győződjön meg arról, hogy az oldószer és a liofilizált reagens címkéjének színe megegyezik. A törzstétel vonalkódos lapja segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenset párosított-e össze.
 - i. A fémzár és a gumidugó eltávolításával nyissa ki a liofilizált reagens üvegét.
 - ii. Határozott mozdulattal illessze be a feloldáshoz használatos gallér bevágott végét (fekete) az üveg nyílásába (5. ábra, 1. lépés).
 - iii. Nyissa fel a megfelelő oldószeres palackot, és helyezze a kupakját tiszta, lefedett munkafelületre.

- iv. Helyezze az oldószeres palackot egy stabil felületre (pl. asztalra). Ezután fordítsa a liofilizált reagens üvegét az oldószeres palackra, és határozott mozdulattal csatlakoztassa a gallért az oldószeres palackhoz (5. ábra, 2. lépés).
- v. Lassan fordítsa fejjel lefelé az így összeállított palackokat (oldatos palackhoz csatlakoztatott üveg), hogy az oldat az üvegbe kerüljön (5. ábra, 3. lépés).
- vi. Fogja meg az összeállított palackokat, és legalább 10 másodpercig forgassa (5. ábra, 4. lépés).
- vii. Várjon legalább 30 percig, hogy a liofilizált reagens feloldódjon.
- viii. Miután a liofilizált reagens feloldódott, legalább 10 másodpercig forgassa az összeállított palackokat, majd az üvegben lévő oldatot az alapos keverés érdekében enyhén rázza előre-hátra.
- c. Lassan döntse meg újra az összeállított palackokat, hogy az összes oldat vissza tudjon folyni az oldószeres palackba (5. ábra, 5. lépés).
- d. Óvatosan vegye le a feloldáshoz használatos gallért és az üveget (5. ábra, 6. lépés).
- e. Tegye vissza a kupakot a palackra. Írja fel a kezelő monogramját és a feloldási dátumot a címkére (5. ábra, 7. lépés).
- f. Dobja ki a feloldáshoz használatos gallért és az üveget (5. ábra, 8. lépés).

Vigyázat: A reagensok feloldása során kerülje a túlzott habképződést. A hab zavarja a Panther System szintérzékelő funkcióját.



5. ábra. Reagensfeloldási eljárás

D. Előzőleg elkészített reagensok előkészítése

1. Távolítsa el az előzőleg elkészített reagenseket a tárolóból (2 °C–8 °C).
2. Az előzőleg elkészített amplifikációs reagenseknek, enzimreagenseknek, promoterreagenseknek és TCR-eknek el kell érnie a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a vizsgálat elindítása előtt.
3. Korábban elkészített TCR esetében a rendszerbe való betöltés előtt hajtva végre a fenti C.1. lépést.

4. Keveréssel és fel-le fordítással alaposan keverje össze az amplifikációs reagenseket, enzimreagenseket és promoterreagenseket, mielőtt betölti azokat a készülékbe. A reagensek fel-le fordítása során kerülje a habképződést.

Opció: A korábban előkészített reagensek előkészíthetők egy csőrázón a következő utasításokat követve: Távolítsa el a reagenseket a tárolóból (2–8 °C). Helyezze a reagenseket egy csőrázóra, és hagyja azokat legalább 30 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni.

5. A reagens palackokat nem szabad utántölteni. A Panther System felismeri és elutasítja az utántöltött palackokat.

E. Vizsgálati minta kezelése

1. Győződjön meg arról, hogy az elsődleges csövekben lévő feldolgozott vizsgálati mintákat vagy a másodlagos csövekben lévő hígítatlan vizsgálati mintákat megfelelően tárolták a következő szerint: *Mintavétel és -tárolás*
2. Ügyeljen arra, hogy a fagyasztott minták teljesen felolvadjanak. A felolvadt vizsgálati mintákat 3-5 másodpercig vortexelje.
3. Feldolgozás előtt hagyja a vizsgálati mintákat 15 °C–30 °C-ra melegedni. További készüléken belüli információkért lásd: *Minták a Panther Systemben*.
4. Biztosítsa, hogy minden egyes elsődleges gyűjtőcső legfeljebb 1200 µl vizsgálati mintát tartalmazzon, vagy minden egyes SAT cső legalább 700 µl vizsgálati mintát tartalmazzon. Az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusokhoz szükséges holt térfogati követelmények meghatározásához tekintse meg a táblázatot: *Mintavétel és -tárolás*. Ha a vizsgálati minta hígítására van szükség, további információkért lásd az alábbi E.5. lépést.
5. Hígítsa a plazma vizsgálati mintát 1:3 arányban egy SAT csőben vagy 1:100 arányban egy másodlagos csőben.

A plazma vizsgálati mintát egy másodlagos csőben fel lehet hígítani a Panther Systemmel történő vizsgálathoz.



Megjegyzés: A plazma vizsgálati minták hígítása nem használható kvantitatív eredményekhez. Diagnosztikai eredményekhez ne hígítsa a plazmamintákat.

Megjegyzés: Ha a vizsgálati mintát hígítják, a hígítás után azonnal meg kell vizsgálni.

a. Kis térfogatú vizsgálati minták hígítása

A plazma vizsgálati minták térfogata az Aptima vizsgálatiminta-hígító segítségével a minimálisan szükséges térfogatra (700 µl) növelhető. A legalább 240 µl-es plazma vizsgálati minták két rész vizsgálatiminta-hígítóval (1:3) hígíthatók az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 240 µl vizsgálati mintát a SAT csőbe.
- ii. Adjon hozzá 480 µl Aptima vizsgálatiminta-hígítót.
- iii. Kupakkal zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:3 arányban hígított vizsgálati minták a Panther rendszer 1:3 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezeket a vizsgálati mintákat hígított vizsgálati mintaként kell megjelölni.

b. Magas titerű vizsgálati minták hígítása

Ha egy vizsgálati minta eredménye a felső mennyiségi határérték felett van, a vizsgálati minta 99 rész Aptima Specimen Diluent mintahígítóval (1:100) hígítható az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 30 µl vizsgálati mintát egy SAT csőbe vagy egy másodlagos csőbe.
- ii. Adjon hozzá 2970 µl Aptima vizsgálatiminta-hígítót.
- iii. Kupakkal zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:100 arányban hígított vizsgálati minták a Panther System 1:100 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezeket a vizsgálati mintákat hígított vizsgálati mintaként kell megjelölni.

Megjegyzés: Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított vizsgálati minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.

6. Közvetlenül a mintáknak a mintába való betöltése előtt Mintatartó állványba való betöltése előtt centrifugálja az egyes vizsgálati mintákat 1000–3000 g-vel 10 percig. Ne távolítsa el a kupakokat. A csőben lévő buborékok veszélyeztethetik a Panther System szintérzékelését.

Lásd A rendszer előkészítése Az állvány betöltésével és a kupakok eltávolításával kapcsolatos információkat lásd alább: F.2 lépés.

F. A rendszer előkészítése

1. Állítsa be a rendszert a *Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyve* és a szerinti utasítások alapján *Megjegyzések az eljáráshoz*. Ügyeljen arra, hogy megfelelő méretű reagensállványokat és TCR adaptereket használjanak.
2. Töltse be a mintákat a mintatartó állványba. Végezze el a következő lépéseket minden egyes mintagyűjtő csövön (vizsgálati minta, és szükség esetén kalibrátor és kontrollok):
 - a. Lazítsa meg az egyik mintagyűjtő cső kupakját, de még ne vegye le.

Megjegyzés: Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszokok terjedése miatti szennyeződést. Óvatosan lazítsa meg a minták kupakját.

- b. Töltse be a mintagyűjtő csövet a mintatartó állványba.
- c. Ismételje meg az a. és a b. lépést minden egyes fennmaradó minta esetében.
- d. Miután a mintákat betöltötte a mintatartó állványba, vegye le és dobja ki a mintagyűjtő csövek kupakjait a mintatartó állványból. A szennyeződés elkerülése érdekében ne vigye át a kupakot más mintatartó állványok vagy mintagyűjtő csövek felett.
- e. Ha szükséges, használjon új, eldobható transzferpipettát az esetleges buborékok vagy hab eltávolításához.
- f. Amikor az utolsó kupakot is eltávolította, töltse be a mintatartó állványt a mintarekeszbe.

Megjegyzés: Ha egyidejűleg más vizsgálatokat és mintatípusokat is futtat, rögzítse a mintatartót, mielőtt a mintatartó állványt betölti a mintarekeszbe.

- g. A következő mintatartó állványnál ismételje meg az a–f. lépéseket.

Megjegyzések az eljáráshoz

A. Kalibrátor és kontrollok

1. A qHIV-1 pozitív kalibrátor, a qHIV-1 alacsony pozitív kontroll, a qHIV-1 magas pozitív kontroll és a qHIV-1 negatív kontrollcsövek a Panther rendszerben a mintatartó állvány bármelyik pozíciójába és bármelyik mintarekesz sávba betölthetők. A vizsgálati minták pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
 - a. A rendszerben jelenleg zajlik a kalibrátor és a kontrollok feldolgozása.
 - b. A kalibrátor és kontrollok érvényes eredményei regisztrálásra kerülnek a rendszerben.
2. Miután kipipettázták a kalibrátor- és kontrollcsöveket, és folyamatban van a feldolgozásuk az Aptima HIV-1 Quant Dx assay reagenskészlethez, az adott feloldott készlettel a vizsgálati minták legfeljebb 24 óráig tesztelhetők, **kivéve, ha:**
 - a. A kalibrátor- vagy a kontrolleredmények érvénytelenek.
 - b. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészletet eltávolítják a rendszerből.
 - c. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészlet túllépte a stabilitási határokat.
3. A kalibrátor és minden kontrollcső egyszer használható. A cső többszöri használatának megkísérlése feldolgozási hibához vezethet.

B. Púderes kesztyűk

Mint más reagensrendszerek esetében, bizonyos kesztyűkön található túlzott mennyiségű púder a felnyitott csövek szennyeződéséhez vezethet. Púdermentes kesztyűk használata javasolt.

Minőség-ellenőrzés

A futtatás vagy a vizsgálati minta eredményét a kezelő is érvénytelenítheti, ha a vizsgálat elvégzése során technikai, kezelői vagy műszeres nehézségeket észlel, és ezeket dokumentálja. Ebben az esetben a vizsgálati mintákat újra kell vizsgálni.

A vizsgálat kalibrálása

Az érvényes eredmények előállítása érdekében el kell végezni a vizsgálat kalibrálását. Egyetlen pozitív kalibrátort kell lefuttatni három példányban minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betölt a Panther Systembe. Miután megtörtént, a kalibrálás legfeljebb 24 óráig érvényes. A Panther System szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kalibrációra van szükség. A kezelő beolvassa a kalibrációs együtthatót, amely az összes reagenskészlethez mellékelt törzstétel vonalkódos lapján található.

A feldolgozás során a kalibrátorok elfogadási feltételeit a Panther System szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha a kalibrátor ismétlések közül kettőnél kevesebb érvényes, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell vizsgálni.

Negatív és pozitív kontrollok

Az érvényes eredmények előállításához egy vizsgálati kontroll sorozatot kell tesztelni. A negatív kontroll, az alacsony pozitív kontroll és a magas pozitív kontroll egy-egy ismétlését kell tesztelni minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther Systembe. A kontrollok 24 órán keresztül érvényesek. A Panther System szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kontrollok szükségesek.

A feldolgozás során a kontrollok elfogadási feltételeit a Panther System szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ahhoz, hogy az eredmények érvényesek legyenek, a negatív kontrollnak „Nem mutatható ki” eredményt kell adnia, a pozitív kontrolloknak pedig az előre meghatározott paramétereken belüli eredményeket kell adniuk (LPC célérték: kb. $3 \log_{10}$ kópia/ml, HPC célérték: kb. $5 \log_{10}$ kópia/ml). Ha bármelyik kontroll érvénytelen eredményt ad, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell vizsgálni.

Belső kalibrátor/Belső kontroll

Minden minta tartalmaz egy belső kalibrátort/belső kontrollt (IC). A feldolgozás során a belső kontroll elfogadási kritériumait a Panther System szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha egy belső kontroll eredménye érvénytelen, a szoftver érvényteleníti a mintaeredményt. Minden érvénytelen belső kontroll eredménnyel rendelkező mintát újra kell tesztelni az érvényes eredményhez. A Panther System szoftverét úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, amikor az eljárásokat az ebben a használati utasításban és a *Panther/Panther Fusion System kezelői kézikönyvben* foglalt utasítások szerint hajtják végre.

Az eredmények értelmezése

Megjegyzés: Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay kvantitatív eredményeit plazmamintákkal értékelték. Szérum nem használható kvantitatív eredményekhez. A minőségi eredményeket plazma és szérum esetében is értékelték.

A Panther System automatikusan meghatározza a HIV-1 RNS koncentrációját a vizsgálati minták és a kontrollok esetében az eredmények kalibrációs görbével való összehasonlításával.

A HIV-1-RNS-koncentrációkat kópia/ml és $\log_{10}$ kópia/ml mértékegységben adjuk meg.

Az eredmények értelmezése az 1. táblázatban található. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay kettős célú amplifikációs és detektáló rendszerrel rendelkezik, amely egymástól függetlenül célozza a pol-t és az LTR-t. A rendszer által jelentett eredmény az elsődleges rendszeren (pol) alapul, kivéve, ha a pol nincs amplifikálva. Ezekben az esetekben a rendszer a másodlagos rendszerből, az LTR-ből származó eredményt fogja jelenteni.

Ha az 1:3 vagy 1:100 hígítást használja a hígított vizsgálati minták esetében, a Panther rendszer automatikusan kiszámítja a hígítatlan vizsgálati minta HIV-1-koncentrációját a hígított koncentráció és a hígítási tényező szorzataként, és a hígított minták hígítottként lesznek megjelölve.

Megjegyzés: A hígított vizsgálati minták esetében az LoD (kimutatási határérték) vagy LLoQ (mennyiségi meghatározás alsó határértéke) feletti, de ahhoz közeli koncentrációjú minta hígítása esetén a „nem mutatható ki” vagy „<30 kimutatott” eredmény keletkezhet. Ajánlott egy másik tiszta mintát venni és megvizsgálni, ha a mennyiségi eredményt nem sikerül meghatározni.

A Panther System nem biztosít kvalitatív eredményt (azaz „Reaktív” vagy „Nem reaktív”) diagnosztikai célokra. A kezelőnek a jelentett HIV-1 RNS-koncentrációt kvalitatív eredményként kell értelmeznie (lásd 1. táblázat). A „Nem kimutatható” eredményű vizsgálati minták a HIV-1 RNS-re nem reaktívak. A „<30 kimutatható” eredményű vizsgálati minták vagy a lineáris tartományon belüli és afeletti eredményeket tartalmazó vizsgálati minták azt jelzik, hogy a HIV-1 RNS kimutatható, és ezek a vizsgálati minták a HIV-1 RNS-re reaktívak.

1. táblázat: Az eredmények értelmezése

Jelentett Aptima HIV-1 Quant Dx Assay eredmény		HIV-1 RNS koncentráció Értelmezés	Felhasználói diagnosztikai kvalitatív értelmezése ^c
Kópia/ml ^a	Log ₁₀ érték ^b		
Nincs kimutatva	Nincs kimutatva	A HIV-1 RNS nem mutatható ki.	A HIV-1 RNS-re nem reaktív
< 30 kimutatható	< 1,47	A HIV-1-RNS kimutatható, de az LLoQ alatti szinten.	A HIV-1 RNS-re reaktív
30 és 10 000 000 között	1,47 és 7,00 között	A HIV-1-RNS-koncentráció a 30 és 10 000 000 kópia/ml közötti lineáris tartományban van.	A HIV-1 RNS-re reaktív
>10 000 000	> 7,00	A HIV-1 RNS-koncentráció a felső mennyiségi határérték (ULoQ) felett van.	A HIV-1 RNS-re reaktív
Érvénytelen ^d	Érvénytelen ^d	Hiba történt az eredmény létrehozásakor. A vizsgálati mintát újra kell tesztelni.	Érvénytelen ^d

^a A HIV-1 RNS-re vonatkozó 3. nemzetközi standard (10/152) esetében a kópiáról nemzetközi egységekre (NE) történő átváltási tényező 0,35 kópia/NE.

^b Az értéket két tizedesjegyre kerekítik.

^c A hígított vizsgálati minták esetében nem szabad diagnosztikai értelmezést végezni a „nem reaktív” eredmény alapján. Vegyen új, hígítatlan vizsgálati mintát, és végezze el újra a vizsgálatot.

^d Az érvénytelen eredmények kék színű betűtípussal jelennek meg.

Miután az eredmények elérhetővé váltak az Eredmények képernyőn, az egyes célpontok kvantitatív értékei a Panther System szoftverének minta görbe jelentés funkciójával elérhetők. Az értékek és az amplifikációs görbék megtekintéséhez válassza ki a minta azonosítóját a Panther System szoftverének Eredmények képernyőjén. Ezután válassza a „Görbe adatok” gombot. Megnyílik egy ablak a Mintagörbe jelentésével, amely a minta fluoreszcenciaprofiljait és kvantitatív értékeit tartalmazza.

Megjegyzés: A Mintagörbe jelentéséből nyert adatok csak tájékoztatásul szolgálnak (pl. hibakeresés és görbeellenőrzés). A mintára vonatkozó jelentendő validált eredményt a Panther System szoftvere adja meg az Eredmények képernyőn és az Eredmények jelentésben.

Megjegyzés: A Panther System kezelésére vonatkozó további utasításokat lásd a Panther/ Panther Fusion System kezelői kézikönyvében.

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay egyes kontrolljaira vonatkozó elfogadási kritériumokat itt ismertetjük: 2. táblázat.

Megjegyzés: Az alábbiakban felsorolt visszanyerési tartomány az egyes tételek hozzárendelt értéke alapján változik. Lásd az egyes kontroll dobozokhoz mellékelt kontroll vonalkódlap betétlapon felsorolt hozzárendelt koncentrációt.

2. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay visszanyerési tartományának elfogadási kritériumai

Összetevő	Visszanyerési tartomány az érvényes futtatásokhoz
Negatív kontroll	N/A
Alacsony pozitív kontroll	+/- 0,5 log ₁₀ kópia/ml
Magas pozitív kontroll	+/- 0,5 log ₁₀ kópia/ml

Korlátozások

- A. Ezt a vizsgálatot csak az eljárásra kiképzett személyzet használhatja. A jelen használati utasításban megadott utasítások be nem tartása hibás eredményekhez vezethet.
- B. A megbízható eredmények a megfelelő mintavételtől, -szállítástól, -tárolástól és -feldolgozástól függenek.
- C. Ezt a vizsgálatot kizárólag humán EDTA és ACD plazmával végzett kvantitatív vizsgálatra validálták.
- D. Ezt a vizsgálatot humán EDTA és ACD plazmával és szérummal végzett kvalitatív vizsgálatra validálták.
- E. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay primerei és/vagy próbái által lefedett, erősen konzervált vírusgenom régiókban bekövetkező mutációk – bár ritkák – a vírus mennyiségének alábecslését vagy kimutatásának sikertelenségét eredményezhetik.
- F. Ezt a vizsgálatot nem validálták lentivirális vektor alapú terápiákon, például CAR-T-sejtterápián áteső betegeknél történő alkalmazásra. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay primerei és/vagy próbái által lefedett vírusgenom potenciálisan átfedő régiói a lentivirális vektorokon alapuló terápiákban használt lentivirális vektorok amplifikációját eredményezhetik.

Analitikai teljesítőképesség

Kimutatási határérték (LoD) a HIV-1 WHO 3. nemzetközi standard használatával

A kimutatási határértéket (LoD) a CLSI EP17-A2 (37) szerint a HIV-1 RNS azon koncentrációjaként határozzák meg, amely 95%-os vagy nagyobb valószínűséggel kimutatható. A LoD-t a HIV-1 WHO 3. nemzetközi standardjának (B altípus, NIBSC-kód: 10/152) hígításaiból álló vizsgálati panelek segítségével határozták meg HIV-1 negatív EDTA-plazmában és -szérumban. Minden hígítás harminc ismétlését három Panther Systemben futtatták, három reagens-tétel felhasználásával, így hígításonként összesen 90 ismétlés készült. A CLSI EP17-A2 szerint az előre jelzett kimutatási határértékhez tartozó legmagasabb koncentrációjú reagens-tétel eredményeit határozták meg LoD-ként, és itt láthatók: 3. táblázat. A Probit-analízis segítségével az Aptima HIV-1 Quant Dx assay 95%-os előrejelzett LoD kimutatási határértéke 12 kópia/ml (35 NE/ml) plazmában és 8,9 kópia/ml (25 NE/ml) szérumban (0,35 kópia=1 NE).

3. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay kimutatási határértéke a HIV-1 WHO 3. nemzetközi standard felhasználásával

Előre jelzett Kimutatási határérték	Plazma		Szérum	
	Koncentráció (kópia/ml)	Koncentráció (NE/ml)	Koncentráció (kópia/ml)	Koncentráció (NE/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

A kimutatási határérték a HIV-1 altípusok és csoportok között

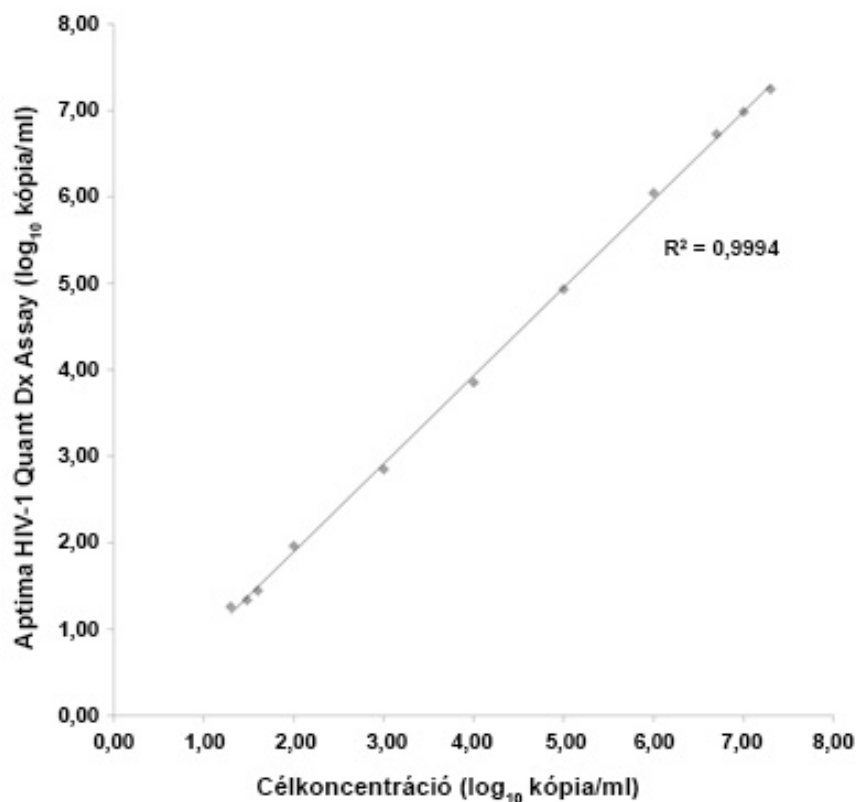
A HIV-1 M csoport (A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG altípusok), valamint az N és O csoport esetében hat pozitív és egy negatív panelt hoztak létre úgy, hogy tenyésztett HIV-1 vírust vagy pozitív klinikai vizsgálati mintákat adalékoltak HIV-1 negatív humán EDTA plazmához és szérumhoz (0-40 kópia/ml). Minden egyes paneltagot 30 ismétlésben, két reagenstétellel vizsgáltak, így paneltagonként összesen 60 ismétlést végeztek. A klinikai vizsgálati minták vagy tenyésztett vírusok koncentrációjának meghatározását egy összehasonlító vizsgálat segítségével határozták meg. Probitelemzést végeztek az 50%-os és 95%-os előre jelzett kimutatási határértékek előállításához. A CLSI EP17-A2 (37) szerint a LoD-ket a legmagasabb koncentrációjú reagens-tételből származó eredmények felhasználásával határozták meg a LoD-ként meghatározott előre jelzett kimutatási határértékre, amint itt látható: 4. táblázat.

4. táblázat: A kimutatási határérték a HIV-1 altípusok és csoportok között

Altípus/Csoport	Előre jelzett kimutatási határ	Plazma	Szérum
		Koncentráció (kópia/ml)	Koncentráció (kópia/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

Lineáris tartomány

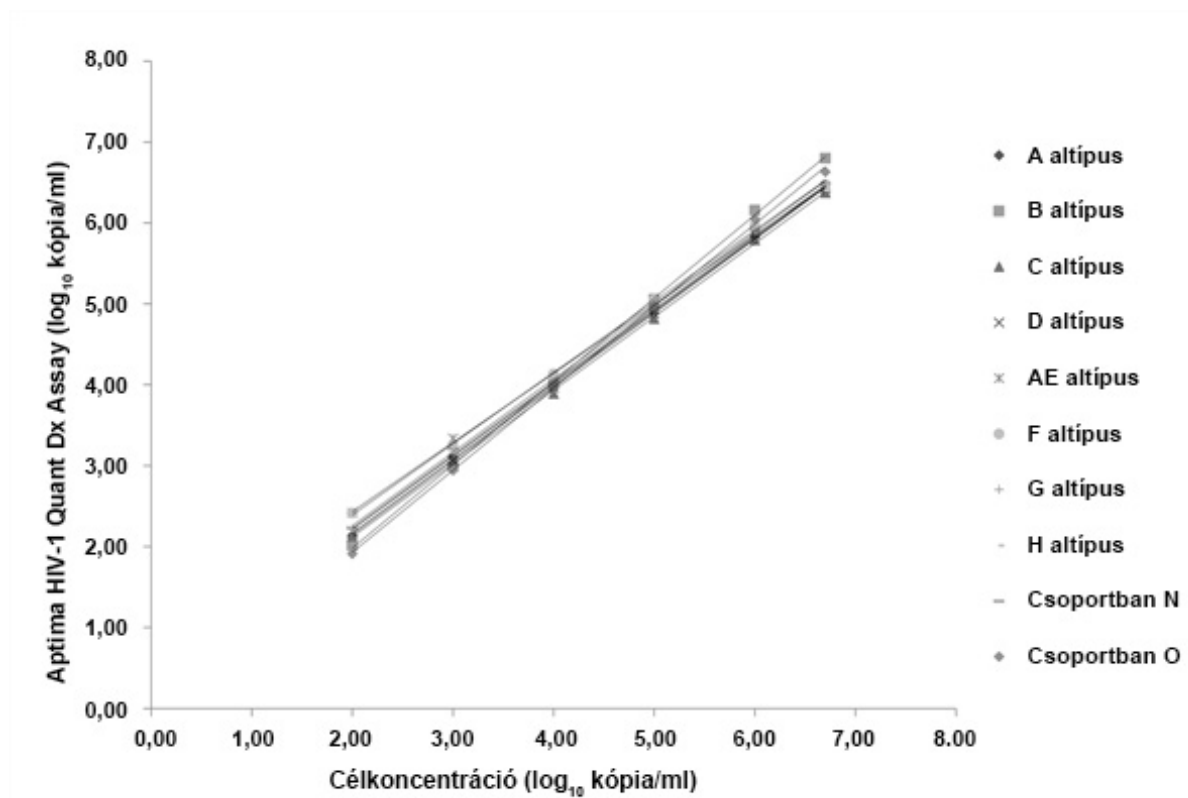
Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay lineáris tartományát a CLSI EP06-A szerint HIV-1 negatív teljes humán EDTA plazmában hígított, tenyésztett HIV-1 B altípusú vírusból álló tesztpanelek vizsgálatával állapították meg (38). A panelek koncentrációja 1,30 és 7,30 $\log_{10}$ kópia/ml között változott. A vizsgálatot hét Panther Szstemmel végezték el, két reagens-tétellel. Amint a 6. ábra mutatja, az Aptima HIV-1 Quant Dx assay linearitást mutatott a vizsgált tartományban.



6. ábra. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay linearitása

Linearitás a HIV-1 altípusok és csoportok között

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay lineáris válaszát az M csoportban (A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE altípusok), valamint az N és O csoportban az olyan tesztpanelek vizsgálatával erősítették meg, amelyek 2,00 és 6,70 $\log_{10}$ kópia/ml közötti koncentrációjú pufferben hígított HIV-1 transzkriptumból álltak. A tesztelést négy Panther Szstemen és hat futtatáson keresztül végezték. A linearitást a teljes vizsgált tartományban (7. ábra) igazolták.



7. ábra. Linearitás az M csoportban (A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE altípusok) és az N és O csoportban

A HIV-1 WHO 3. nemzetközi standard alkalmazásával megállapított mennyiségi meghatározás alsó határértéke

A mennyiségi meghatározás alsó határa (LLOQ) a CLSI EP17-A2 szerint az a legalacsonyabb koncentráció, amelynél a HIV-1 RNS megbízhatóan, teljes hibán (TE) belül határozható meg (37). A TE-t a Westgard-modell ($TE = |\text{torzítás}| + 2SD$) segítségével számították ki. A mérések pontosságának és precizitásának biztosítása érdekében az Aptima HIV-1 Quant Dx assay teljes hibáját $1 \log_{10}$ kópia/ml-ben határozták meg (azaz a LLOQ-nál két mérés közötti $1 \log_{10}$ kópia/ml-nél nagyobb különbség statisztikailag szignifikáns).

A LLOQ-t a HIV-1 WHO 3. nemzetközi standardjának (B altípus, NIBSC-kód: 10/152) hígításaiból álló vizsgálati panelek segítségével határozták meg HIV-1 negatív humán EDTA-plazmában. A CLSI EP17-A2 szerint a paneleket három reagens-tétellel tesztelték, minden egyes tétel esetében 30 ismételtsben, 23 futtatásból. Az eredmények itt láthatók: 5. táblázat. A legmagasabb LLOQ az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelt három tétel esetében a 3. HIV-1 WHO nemzetközi standardot alkalmazva 15 kópia/ml ($1,17 \log_{10}$ kópia/ml) (6. táblázat).

5. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay LLOQ-jának meghatározása a 3. HIV-1 WHO nemzetközi standard felhasználásával

Reagens-tétel	Célmolekula-koncentráció ($\log_{10}$ kópia/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ kópia/ml)	SD ($\log_{10}$ kópia/ml)	Torzítás ($\log_{10}$ kópia/ml)	Számított TE ($\log_{10}$ kópia/ml)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

SD=szórás TE=teljes hiba.

6. táblázat: A LLoQ összefoglalása a 3. HIV-1 WHO nemzetközi standard használatával (3 reagens-tétel)

Reagens-tétel	LLoQ (log ₁₀ kópia/ml)	LLoQ (kópia/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

A LLoQ ellenőrzése a HIV-1 altípusok és csoportok között

A LLoQ-t a HIV-1 altípusok és csoportok esetében a CLSI EP17-A2 szerint ellenőrizték (37). Az egyes HIV-1 M csoportokra (A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG altípusok), valamint az N és O csoportokra vonatkozó panelek úgy készültek, hogy az összevont HIV-1 negatív humán EDTA plazmához természetes úton fertőzött klinikai mintákat vagy klinikai izolátumokat adalékoltak. A vizsgálat paneltagonként összesen 30 ismétlésből állt. A 7. táblázatban lévő adatok az egyes altípusok vagy csoportok legalacsonyabb koncentrációját mutatják, amelynél a TE kevesebb mint 1 log₁₀ kópia/ml volt. Az összes vizsgált altípus és csoport esetében a legmagasabb LLoQ 30 kópia/ml volt; ezért ezt a magasabb értéket választották az Aptima HIV-1 Quant Dx assay LLoQ értékének (7. táblázat).

7. táblázat: A LLoQ ellenőrzése HIV-1 altípus vagy csoport szerint

Panel	LLoQ (kópia/ml)
A altípus	30
CRF01_AE altípus	10
CRF02_AG altípus	30
B altípus	10
C altípus	30
D altípus	15
F altípus	15
G altípus	30
N csoport	10
O csoport	15

Precizitás

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay precizitásának értékelése érdekében három kezelő három reagenstételt használva 20 napon keresztül három Panther Szstemem tesztelt egy olyan panelt, amelyet a B altípusú HIV-1 vírus HIV-1 negatív EDTA-plazmához történő adalékolásával készítettek (8. táblázat). A panel egy HIV-1 negatív és nyolc HIV-1 pozitív tagból állt. A klinikai vizsgálati minták vagy tenyésztett vírusok koncentrációjának meghatározását egy összehasonlító vizsgálat segítségével határozták meg.

8. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay precizitása

Érvényes ismétlések száma	Átlagos koncentráció (log ₁₀ kópia/ml)	Műszerek között		Kezelők között		Tételek között		Futtatások között		Futtatáson belül		Összesen	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV=variációs koefficiens, SD=szórás.

^a Ezt a paneltagot 1:3 arányban hígították a mintahígítóval, és a hígított minta precizitásának értékelése céljából tesztelték.

Megjegyzés: Az egyes tényezőkből eredő variabilitás számszerűen negatív lehet, ami akkor fordulhat elő, ha az e tényezőkből eredő variabilitás nagyon kicsi. Ilyen esetben SD = 0 és CV = 0%. A vizsgált ismétlések száma minden egyes panel esetében 162 volt; csak a számértékkel rendelkező ismétlések esetében elemezték.

Potenciálisan zavaró endogén és exogén anyagok

Értékelték az Aptima HIV-1 Quant Dx assay érzékenységét az endogén anyagok emelkedett szintje és a HIV-1-gyel fertőzött egyéneknek általában felírt gyógyszerek által okozott interferencia tekintetében. HIV-1 negatív humán EDTA plazmamintákat és 3 log₁₀ kópia/ml HIV-1 RNS-koncentrációjú HIV-1-gyel adalékolt mintákat vizsgáltak.

Albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), trigliceridek (30 mg/ml) vagy nem konjugált bilirubin (0,2 mg/ml) jelenlétében nem tapasztaltak interferenciát az Aptima HIV-1 Quant Dx assay teljesítőképessége tekintetében.

A 9. táblázatban felsorolt exogén anyagok jelenlétében a C_{max} (humán plazma) legalább háromszorosának megfelelő koncentrációban nem tapasztaltak interferenciát az Aptima HIV-1 Quant Dx assay teljesítőképessége tekintetében.

9. táblázat: Exogén anyagok

Exogén anyagok összessége	Vizsgált exogén anyagok
1	Lopinavir, indinavir, szakvinavir, ritonavir, nelfinavir-mezilát, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, klaritromicin, amfotericin B
3	Tenofovir-dizoproxil-fumarát, adefovir-dipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maravirok, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavir-szulfát, didanozin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entekavir, telbivudin, emtricitabin, telbivudin
5	Paroxetin-HCl, fluoxetin, szertralin
6	Ganciklovir, valaciklovir, aciklovir, rifampin/rifampicin, etambutol
7	Ciprofloxacin, azitromicin, amoxicillin, cefalexin, ampicillin, trimetoprim
8	Valganciklovir-hidroklorid, boceprevir, telaprevir, szimeprevir, szofoszbuvir
9	Pegilált interferon alfa-2a, interferon alfa-2b, pegilált interferon alfa-2b
10	Heparin, EDTA, nátrium-citrát
11	Tipranavir
12	Izoniazid

A 10. táblázatban felsorolt, meghatározott anyagok emelkedett szintjével rendelkező vagy a felsorolt betegségekben szenvedő betegektől származó klinikai EDTA plazma vizsgálati mintákat az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelték $3 \log_{10}$ HIV-1 RNS-kópia jelenlétében és anélkül. Nem észleltek interferenciát a teljesítőképesség tekintetében.

10. táblázat: Vizsgált klinikai mintatípusok

Klinikai mintatípusok	
1	Reumafaktor (RF)
2	Antinukleáris antitest (ANA)
3	Anti-Jo-1 antitest (JO-1)
4	Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
5	Reumatoid artritisz (RA)
6	Sclerosis multiplex (MS)
7	Hyperglobulinémia
8	Emelkedett alanin-aminotranszferáz (ALT)
9	Alkoholos cirrózis (AC)
10	Myeloma multiplex (MM)
11	Lipémiás (emelkedett lipidek)
12	Ikteruszos (emelkedett bilirubin)
13	Hemolizált (emelkedett hemoglobin)
14	Emelkedett fehérje albumin
15	HCV antitestek
16	HBV antitestek
17	HIV-2 antitestek

Teljesítőképesség HIV-1-negatív vizsgálati mintákkal

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay specifikitását 120 friss és 510 fagyasztott HIV-1 negatív EDTA plazma vizsgálati minta felhasználásával határozták meg. A HIV-1 RNS-t a 630 minta közül egyikben sem mutatták ki (specifititás 100%; 95% CI: 99,4–100%) (11. táblázat).

11. táblázat: *Specifititás plazma vizsgálati mintákban*

	Friss plazma	Fagyasztott plazma	Összesen
Érvényes ismétlések (n)	120	510	630
Nem reaktív	120	510	630
Specifititás (95% CI)	100% (97,0–100)	100% (99,3–100)	100% (99,4–100)

CI=konfidencia intervallum

Potenciálisan zavaró mikrobiális szennyező anyagok

A kórokozókkal szembeni potenciális keresztreaktivitást (12. táblázat) az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel értékelték 3 log₁₀ kópia/ml HIV-1 RNS jelenlétében vagy hiányában, HIV-1 negatív humán EDTA-plazmában. Kórokozók jelenlétében nem észleltek interferenciát a vizsgálat teljesítőképessége tekintetében.

12. táblázat: Keresztreaktivitás szempontjából vizsgált kórokozók

Kórokozó	Koncentráció
Hepatitis A vírus	100 000 PFU/ml ^a
Hepatitis B vírus	100 000 NE/ml ^b
Hepatitis C vírus	100 000 NE/ml
Hepatitis G vírus	100 000 kópia/ml
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000 PFU/ml
Herpes simplex vírus 2 (HSV-2)	75 000 PFU/ml
Humán herpeszvírus 6	100 000 kópia/ml
Humán herpeszvírus 8	42 000 PFU/ml
HIV-2	5500 PFU/ml
Humán T-sejtes limfotróp vírus (HTLV)	100 000 vp/ml ^c
Nyugat-nílusi vírus	100 000 kópia/ml
Parvovírus B19	100 000 NE/ml
Cytomegalovírus	100 000 kópia/ml
Epstein–Barr-vírus	100 000 kópia/ml
Adenovírus 5-ös típus	100 000 PFU/ml
Dengue vírus	100 000 kópia/ml
Influenza A vírus	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

^a PFU/ml=Plakk-képző egység/milliliter.^b NE/ml=Nemzetközi egység/milliliter.^c vp/ml=Vírusrészecske/milliliter.^d CFU/ml=Telepképző egység/milliliter.^e IFU/ml=Zárványképező egység/milliliter.

Klinikai vizsgálati minták megismételhetősége

Tíz klinikai EDTA plazmamintát és tíz szérummintát vizsgáltak három ismételtesben az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel. Az átlagos koncentráció és a szórás (SD) itt látható: 13. táblázat és 14. táblázat.

13. táblázat: Klinikai plazma vizsgálati minták megismételhetősége

Vizsgálati minta	Plazma	
	Átlagos koncentráció (log ₁₀ kópia/ml)	SD
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00

SD=szórás

14. táblázat: Klinikai szérum vizsgálati minták megismételhetősége

Vizsgálati minta	Szérum	
	Átlagos koncentráció (log ₁₀ kópia/ml)	SD
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

SD=szórás

Minta hígítása mintahígítóval

A minta hígításának értékeléséhez az Aptima HIV-1 Quant Dx assay lineáris tartományát átfogó koncentrációjú 11 mintából álló, és a vizsgálat ULoQ értéke feletti két mintából álló panelt három ismétlésben, hígítatlanul és hígítva (1:3 vagy 1:100 mintahígítóban) vizsgálták (15. táblázat).

15. táblázat: Mintahígítás

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

^a A jelentett koncentráció a Panther System által a hígítási tényező alkalmazása után jelentett érték.

^b Adalékolt vizsgálati minta.

^c Minden 7,00 log₁₀ kópia/ml feletti eredményt további elemzéssel becsültek meg.

Átvitel

Annak megállapítása érdekében, hogy a Panther System minimalizálja az átviteli szennyeződésből eredő hamis pozitív eredmények kockázatát, két Panther Systemmel végeztek egy több munkafolyamatból álló vizsgálatot, amelyben adalékolt paneleket teszteltek. Az átvitelt a HIV-1-negatív minták között sakktáblás mintázatban elhelyezett, magas titerű HIV-1-et tartalmazó minták (7 log₁₀ kópia/ml) segítségével vizsgálták. A tesztelést öt futtatáson keresztül végezték. A teljes átviteli arány átlagosan 0% volt (n=469).

Szerokonverziós panel

Tizenkilenc, 204 mintából álló HIV-1 szerokonverziós panelkészletet teszteltek az Aptima HIV-1 Quant Dx assay segítségével. A HIV-1 RNS kimutatását a p24 antigén tesztekkel és a HIV-1/2 antitest tesztekkel történő kimutatással hasonlították össze. A p24 antigén tesztek, az anti-HIV 1/2 antitest tesztek és az Aptima HIV-1 Quant Dx assay használatával az első reaktív eredményig eltelt napok száma itt szerepel: 16. táblázat. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay átlagosan 5,58 és 11,16 nappal a p24 antigén és az anti-HIV 1/2 antitest tesztek előtt mutatta ki a HIV-1 RNS-t.

16. táblázat: A szerokonverziós panel adatainak összefoglalása

Panelazonosító	A vizsgált paneltagok száma	A reaktív paneltagok száma			Az első reaktív eredményig eltelt napok			Az első reaktív eredményig eltelt napok közötti különbség (az áttörés időpontja alapján)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigén	Anti-HIV 1/2 antitest	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigén	Anti-HIV 1/2 antitest	Nappal korábbi kimutatás, mint a HIV p24 antigén esetében	Nappal korábbi kimutatás, mint az Anti-HIV 1/2 antitestek esetében
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
Összesen	204	82	51	20		Átlag		5,58	11,16
						Medián		7	12

^a Ennél a panelnél az összes áttörés nem reaktív volt az anti-HIV 1/2 antitestre. Az utolsó áttörés napját használták az „első reaktív eredményig eltelt nap” értékeként

Az anti-HIV-1/2 elleni antitestek vizsgálatát az Abbott Anti-HIV 1/2 antitesttel végezték el, a következő kivételekkel:

^b A PRB974, PRB975 és PRB978 paneleket Siemens Anti-HIV 1/2 teszttel vizsgálták.

A HIV-1 p24 antigén vizsgálatot a Coulter HIV-1 p24 Ag-vel végezték el, a következő kivételekkel:

^b A PRB974, PRB975 és PRB978 paneleket BioMérieux p24 Ag teszttel vizsgálták.

Szérum, plazma egyenértékűségi vizsgálat

Az egyenértékűség értékeléséhez a szérum és a plazma (25 HIV-1 pozitív és 25 HIV-1 negatív), valamint 40 tenyésztett HIV-1-gyel (50–1 000 000 kópia/ml a HIV-1 negatív plazmában és szérumban) adalékolt mintát teszteltek az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel. A negatív egyezés 100,0% volt (95% CI: 97,0%–100,0%). A pozitív egyezés 98,4% volt (95%-os CI: 95,4%–99,5%).

Reprodukálhatósági vizsgálatok

Reprodukálhatóság plazmamintákban

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay reprodukálhatóságát plazmamintákban 3 külső vizsgálóhelyen értékelték. Minden vizsgálóhelyen két kezelő végezte a tesztelést. Minden kezelő naponta 2 futtatást végzett 3 napon keresztül, a tesztelés alatt 3 reagens-tételt alkalmazva. Minden futtatás 3 ismétlést tartalmazott az egyes panelelemekből.

A reprodukálhatóságot HIV-1 negatív EDTA-plazmából álló paneltagok segítségével vizsgálták. A pozitív panel tagjait úgy hozták létre, hogy a negatív plazmát tenyésztett vírussal (HIV-1 B altípus) adalékolták olyan koncentrációban, amely az Aptima HIV-1 Quant Dx assay lineáris tartományán belül van.

A 17. táblázat a vizsgálati eredmények reprodukálhatóságát és precizitását mutatja az egyes pozitív paneltagok esetében a vizsgálóhelyek, a kezelők, napok, a tételek, a futtatások között, a futtatásokon belül és összességében. Amikor csak a mennyiségi meghatározás alsó határértéke (LLOQ) feletti eredményeket tartalmazó mintákat vették figyelembe (a LLOQ alatti eredményeket tartalmazó mintákat kizárták), a teljes SD $\leq 0,2 \log_{10}$ kópia/ml volt a panel minden tagja esetében. Amikor az összes kimutatható HIV-1 RNS-t tartalmazó mintát bevonták, a teljes SD-értékek változatlanok maradtak, kivéve a panel 1-es tagját, amelynek teljes SD-értéke $0,3 \log_{10}$ kópia/ml volt.

A HIV-1 pozitív paneltagok esetében az egyezés értéke 100%-os volt. A HIV-1 negatív paneltag esetében 108 ismétlést vizsgáltak, és a HIV-1-RNS-t nem mutatták ki a 108 ismétlés egyikében sem (negatív egyezés=100%, 95% konfidenciaintervallum-pontszám: 96,6% és 100% között).

17. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay reprodukálhatósága és precizitása a Panther Systemen pozitív plazma panel tagok esetében

Panel	N ^a	Átlag Log ₁₀ Kópia/ml	Vizsgálóhelyek között		Kezelők között		Tételek között		Napok között		Futtatások között		Futtatásokon belül		Összesen	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%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=variációs koefficiens, SD=szórás

^a A kimutatható HIV-1 RNS-t tartalmazó érvényes vizsgálati eredmények száma.

^b Tartalmazza a 22 ismétlést, amelyekről < 1,47 log₁₀ kópia/ml értéket jelentettek. Ennek a mintának az értéke 1,176 log₁₀ kópia/ml volt.

^c Az érvényes eredmények száma a vizsgálat lineáris tartományán belül.

^d Tartalmaz egy ismétlést, amelyről >7 log₁₀ kópia/ml értéket jelentettek. Ennek a mintának az értéke 7,18 log₁₀ kópia/ml volt.

Megjegyzés: Az egyes tényezőkből eredő variabilitás számszerűen negatív lehet. Ez akkor fordulhat elő, ha az e tényezőkből eredő variabilitás nagyon kicsi (kisebb mint 0,01). Ezekben az esetekben az SD és a CV feltüntetett értéke 0.

Reprodukálhatóság szérummintákban

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay reprodukálhatóságát szérummintákban 3 külső vizsgálóhelyen értékelték. Minden vizsgálóhelyen két kezelő végezte a tesztelést. Minden kezelő naponta 1 futtatást végzett 5 napon keresztül, a tesztelés alatt 1 reagenstételt alkalmazva. Minden futtatás 3 példányt tartalmazott az egyes panelelemekből.

A reprodukálhatóságot HIV-1 negatív szérumból készített paneltagok segítségével vizsgálták. Két pozitív paneltagot hoztak létre a negatív szérum mátrix 3X-5X LoD és 10X LoD koncentrációjú tenyésztett vírussal (HIV-1 B altípus) történő adalékolásával.

A 18. táblázat a vizsgálati eredmények reprodukálhatóságát és precizitását mutatja az egyes pozitív paneltagok esetében a vizsgálóhelyek, a kezelők, napok, a futtatások között, a futtatásokon belül és összességében.

A HIV-1 pozitív paneltagok esetében az egyezés értéke 100%-os volt. A HIV-1 negatív paneltag esetében 90 ismétlést vizsgáltak, és a HIV-1-RNS-t nem mutatták ki 89/90 ismétlés egyikében sem (negatív egyezés=98,9%, 95% konfidenciaintervallum-pontszám: 94,0% és 99,8% között).

18. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay reprodukálhatósága és precizitása a Panther Systemen pozitív szérum paneltagok esetében

Panel	N	Átlag log ₁₀ kópia/ ml	Vizsgálóhely ek között		Kezelők között		Napok között		Futtatások között		Futtatásokon belül		Összesen	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%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=log-normál variációs koefficiens, SD=szórás (log₁₀ kópia/mL).

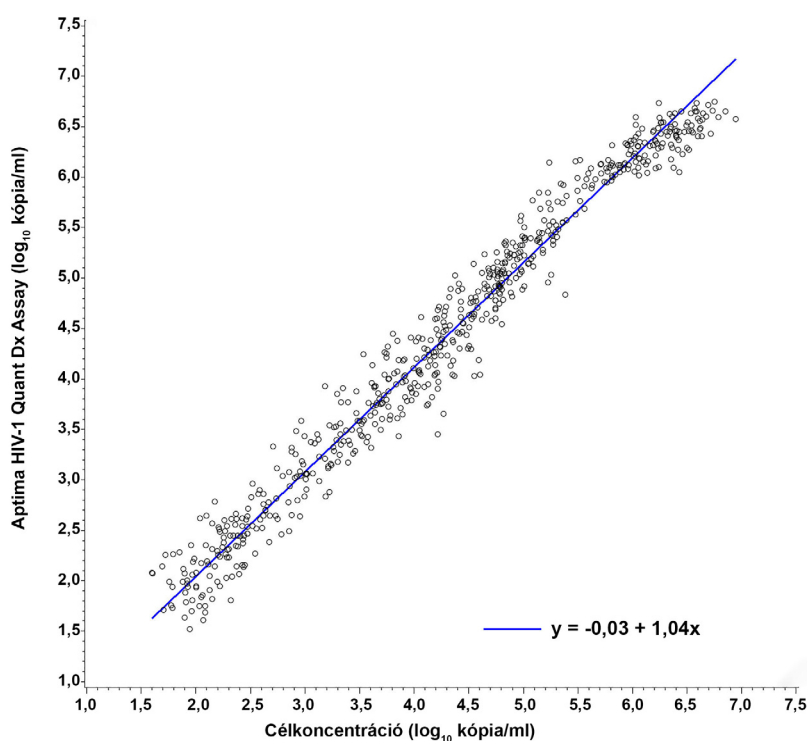
Megjegyzés: A variabilitás bizonyos tényezők hatására negatív számértéket is felvehet. Ez abban az esetben fordulhat elő, ha ezen tényezők miatt a variabilitás rendkívül alacsony. Ezekben az esetekben az SD és a CV feltüntetett értéke 0,00.

Klinikai teljesítőképesség

A vírusterhelés kvantitatív meghatározásának validálása

A HIV-1 RNS kvantitatív meghatározását az Aptima HIV-1 Quant Dx assay és egy összehasonlító vizsgálat alkalmazásával hasonlították össze. A vizsgálatban klinikai EDTA plazmaminták (frissen vagy fagyasztva tárolt) és mesterséges minták (negatív klinikai plazmamintákhoz hozzáadott tenyésztett vírus) vizsgálatát végezték. Minden mintát két példányban vizsgáltak az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel és az összehasonlító vizsgálattal. Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay tesztelését 3 külső vizsgálóhelyen végezték, mindegyik helyszínen 3 reagenskészlet-tételt használva; az összehasonlító tesztelést 1 külső laboratóriumban végezték.

484 regisztrált alanyból és 144 mesterséges mintából létrehozott 628 (a két teszt lineáris tartományán belüli) illeszkedő mintasort teszteltek az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel és az összehasonlító vizsgálattal. Az 8. ábra. a Deming-regressziós elemzés eredményeit mutatja be ($y = -0,03 + 1,04x$).



8. ábra. Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay és az összehasonlító vizsgálat közötti korreláció

Klinikai specifikitási vizsgálatok

Klinikai specifikitás HIV-1 negatív mintákban

Az önkéntes teljesvéradoéktól származó, korábban lefagyasztott HIV-1 negatív EDTA plazmamintákat az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelték. A vizsgálatokat 3 reagenskészlet-tétellel végezték 3 külső vizsgálóhelyen. A klinikai specifikitást a „nem mutatható ki” eredményt adó HIV-1-negatív minták százalékos arányaként számították ki. Hatszáz (600) HIV-1 negatív plazmamintát vizsgáltak, és a 600 minta közül semelyikben nem mutatták ki a HIV-1 RNS-t. A specifikitás a negatív plazmamintákban 100%-os volt (600/600, 95% konfidenciaintervallum-pontszám: 99,4% és 100% között).

Klinikai specifikitás alacsony kockázatú populációban

Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelték az első véradóktól és a HIV-1 fertőzés szempontjából alacsony kockázatú, nem véradóktól származó, korábban lefagyasztott mintákat. A vizsgálatot 1 reagenskészlet-tétellel végezték 1 külső vizsgálóhelyen. A klinikai specifikitást az Aptima HIV-1 Quant Dx assay eredményeinek és a NAT vizsgálat eredményeinek összehasonlításával számították ki.

A 19. táblázat az Aptima HIV-1 Quant Dx assay specifikitását mutatja az alacsony kockázatú populációban, mintatípusonként.

19. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay klinikai specifikitása alacsony kockázatú populációban, mintatípusonként

Minta típusa	n	TP	FP	TN	FN	Specifikitás % (95% CI) ^a
Összesen	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Szérum	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plazma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

CI=konfidencia intervallum, FN=hamis negatív, FP = hamis pozitív, TN=igaz negatív, TP=igaz pozitív.

^a Clopper-Pearson CI.

^b 1 a 2 hamis pozitív eredményt mutató szérummintából pozitív volt, amikor a 4. generációs HIV-1/HIV-2 antigén/antitest kombinált immunoassay-vel vizsgálták.

Klinikai érzékenységi vizsgálatok

Klinikai érzékenység HIV-1 pozitív mintákban

A korábban lefagyasztott HIV-1 pozitív mintákat az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelték. A vizsgálatokat 2 reagenskészlet-tétellel végezték, 3 vizsgálóhelyen, köztük 2 külső vizsgálóhelyen.

A 20. táblázat az Aptima HIV 1 Quant Dx vizsgálat érzékenységét mutatja a pozitív mintákban mintatípusonként.

20. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay klinikai érzékenysége HIV-1 pozitív mintákban, mintatípusonként

Minta típusa	n	TP	FN	Érzékenység % (95% CI) ^a
Összesen	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Szérum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plazma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

CI=konfidencia intervallum, FN=hamis negatív, TP=igaz pozitív.

^a Clopper-Pearson CI.

Klinikai érzékenység a magas kockázatú populációban

A HIV-1 fertőzés szempontjából magas kockázatú egyénekből származó, prospektíven gyűjtött mintákat az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelték. A vizsgálatokat 1 reagenskészlet-tétellel végezték, 3 vizsgálóhelyen, köztük 2 külső vizsgálóhelyen. A klinikai érzékenységet az Aptima HIV-1 Quant Dx assay eredményeinek és a NAT assay eredményeinek összehasonlításával számították ki.

Az értékelhető 498 mintából 332 plazmaminta és 166 szérumminta volt. A érzékenység 100%-os volt (1/1, 95% CI: 20,7% és 100% között) a szérummintákban. A plazmaminták érzékenységét nem lehetett értékelni, mivel nem volt olyan minta, amelynél igaz pozitív vagy hamis negatív vizsgálati eredményt figyeltek meg.

Pozitivitás a szerodiszcordáns mintákban

A korábban lefagyasztott szerodiszcordáns (azaz egy kezdeti HIV-immunoassay-vel ismételtén reaktív és a kiegészítő immunoassay-vel meghatározhatatlan vagy negatív) mintákat véradóktól és a nem véradóktól nyerték, és ezeket az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelték.

A 473 értékelhető mintából 76-ot a szerokonverziós panelekből választottak ki. A vizsgálatot 2 reagenskészlet-tétellel végezték 1 belső vizsgálóhelyen. A pozitivitást az Aptima HIV-1 Quant Dx assay-vel tesztelt szerodiszcordáns mintákra számították ki.

A 21. táblázat az Aptima HIV-1 Quant Dx assay pozitivitását mutatja a szerodiszcordáns mintákban, a mintacsoport, a kiegészítő HIV teszt típusa és a kiegészítő HIV teszt eredménye szerint.

21. táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx assay pozitivitása szerodiszcordáns mintákban

Kiegészítő Teszt típusa	Kiegészítő Teszt eredménye	Pozitivitás % (n/N) 95% CI ^a		
		Nincs szerokonverzió Panelcsoport		Szerokonverzió Panelcsoport
		3. generációs	4. generációs	4. generációs
HIV-1/2 immunkromatográfiás	Negatív	N/A	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (6/6) 61,0–100
HIV-1/2 immunkromatográfiás	Meghatározhatatlan	N/A	100 (1/1) 20,7–100	100 (1/1) 20,7–100
HIV-1/2 gyors	Negatív	N/A	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (24/24) 86,2–100
HIV-1/2 gyors	Meghatározatlan	N/A	0,0 (0/2) 0,0–65,8	N/A
HIV-1 WB vagy IFA	Negatív	0,4 (1/239) 0,1–2,3	100 (4/4) 51,0–100	100 (35/35) 90,1–100
HIV-1 WB vagy IFA	Meghatározatlan	0,0 (0/128) 0,0–2,9	100 (1/1) 20,7–100	100 (10/10) 72,2–100

3. generációs=harmadik generációs immunoassay, 4. generációs=negyedik generációs immunoassay, CI=konfidencia intervallum, IFA=indirekt immunfluoreszcens vizsgálat, N/A=nem áll rendelkezésre, WB=Western blot.

^a konfidenciaintervallum-pontszám.

Irodalomjegyzék

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daugey, 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. Daugey, 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. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *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.* CLSI Document 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.

Elérhetőségek és változtatási előzmények



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Ausztráliai megbízó
Hologic (Australia & New
Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Az országspecifikus Műszaki támogatás és Ügyfélszolgálat e-mail-címéért és telefonszámaért látogasson el a www.hologic.com/support weboldalra.

Az Európai Unióban az eszközzel kapcsolatban bekövetkezett súlyos váratlan eseményeket jelenteni kell a gyártónak és a felhasználó székhelye és/vagy a beteg lakóhelye szerinti tagállam illetékes hatóságának.

A Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion és az érintett logók a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatainak a védjegyei, illetve bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és/vagy más országokban.

Az Armored RNA az Asuragen, Inc. védjegye.

A jelen használati utasításban megjelenő minden más védjegy a jogos tulajdonosok birtokában van.

Ezt a terméket egy vagy több, a www.hologic.com/patents oldalon felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.

AW-28214-2801 Rev. 002

2025-10

Változtatási előzmények	Dátum	Leírás
AW-28214-2801 Rev. 001	2025. április	Első kiadás az IVDR követelményeinek való megfelelés érdekében.
AW-28214-2801 Rev. 002	2025. október	Ez a verzió összhangban van az AW-28214-001 Rev. 002 és Rev. 003 szabványokkal (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).