

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Instrucțiuni de utilizare
Pentru diagnosticare *in vitro*
Exclusiv pentru export din SUA

Informații generale	3
Domeniul de utilizare	3
Rezumatul și explicația testului	3
Principiile procedurii	4
Rezumatul siguranței și performanțelor	5
Avertismente și precauții	5
Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor	9
Prelevarea și depozitarea eșantioanelor	10
Probe pe Panther System	13
Transportul eșantioanelor	13
Panther System	14
Reactivi și materiale furnizate	14
Materiale necesare, dar disponibile separat	16
Materiale opționale	17
Procedura de testare cu Panther System	17
Note procedurale	22
Controlul calității	23
Calibrarea testului	23
Substanțe de control negative și pozitive	23
Calibrator intern/Substanță de control internă	23
Interpretarea rezultatelor	24
Limitări	26
Performanțe analitice	27
Limita de detecție (LoD) utilizând AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1	27
Limita de detecție în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1	28
Intervalul liniar	29
Liniaritatea în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1	30
Determinarea limitei inferioare de cuantificare utilizând AI 3-lea standard internațional al OMS pentru HIV-1	31
Verificarea LLoQ în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1	32
Precizie	33
Substanțe endogene și exogene potențial interferente	34
Performanțe cu eșantioane negative la HIV-1	36
Contaminanți microbieni cu potențial de interferență	36
Repetabilitatea eșantioanelor clinice	38
Diluția probelor utilizând diluantul pentru eșantioane	39
Transferul	39
Panelul de seroconversie	40
Studiu de echivalență ser- plasmă	41
Studii privind reproductibilitatea	41

Performanța clinică	44
Validarea cuantificării încărcăturii virale	44
Studii privind specificitatea clinică	45
Studii privind sensibilitatea clinică	45
Pozitivitate în probele serodiscordante	46
Bibliografie	47
Date de contact și istoricul reviziilor	49

Informații generale

Domeniul de utilizare

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

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

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

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

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

**Cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx se pot utiliza și eșantioane de picături de sânge uscat (DBS). Pentru descrierea completă a utilizării prevăzute și informații despre eșantioanele DBS, consultați prospectul Supliment privind petele de sânge uscat pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx.*

Rezumatul și explicația testului

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

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

Tehnici moleculare precum amplificarea mediată prin transcripție (TMA) au fost utilizate pe scară largă pentru amplificarea acizilor nucleici (31). TMA utilizează capturarea țintelor specifice și amplificarea izotermă pentru a detecta acizii nucleici din mai multe boli infecțioase, inclusiv CT, NG, HPV, TV și HIV/HCV/HBV pentru testarea donatorilor de sânge (32).

Testul Aptima HIV-1 Quant Dx, prin TMA, utilizează mai multe amorse lungi care vizează mai multe regiuni ale genomului HIV-1 pentru a compensa rata ridicată de mutații a HIV-1. Testul include sisteme de amplificare și detectare cu țintă dublă, care vizează independent două regiuni ale genomului HIV-1 (pol și LTR). Software-ul testului nu face media semnalelor de la cele două sisteme.

Sistemul cu țintă dublă Aptima este conceput pentru a crește șansele de detectare și cuantificare precisă a probelor.

Principiile procedurii

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

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

Amplificarea țintei se produce prin intermediul TMA, care este o metodă de amplificare a acidului nucleic mediată prin transcripție, care utilizează două enzime, transcriptaza inversă a virusului leucemiei murine Moloney (MMLV) și polimeraza T7 ARN. Transcriptaza inversă este utilizată pentru a genera o copie ADN (care conține o secvență promotor pentru polimeraza T7 ARN) a secvenței țintă. ARN-polimeraza T7 produce copii multiple ale ampliconului ARN din șablonul copiei ADN. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx utilizează metoda TMA pentru a amplifica două regiuni ale ARN-ului HIV-1 (pol și LTR). Un semnal independent este generat de amplificarea fiecărei regiuni cu ajutorul unor amorse specifice, care sunt concepute pentru a amplifica grupurile M, N și O ale HIV-1.

Detectarea se realizează utilizând sonde de acid nucleic monocatenar, care sunt prezente în timpul amplificării fiecărei ținte care hibridizează în mod specific cu ampliconii în timp real. Fiecare sondă are un fluorofor și o substanță extincătoare de fluorescență. Dacă sonda nu este hibridizată cu ampliconul, substanța extincătoare de fluorescență se află în imediata apropiere a fluoroforului și suprimă fluorescența. Atunci când sonda se leagă de amplicon, substanța extincătoare de fluorescență este mutată mai departe de fluorofor și va emite un semnal pe o anumită lungime de undă când este excitată de o sursă de lumină. Pe măsură ce mai multe

sonde hibridizează la amplicon, se generează un semnal fluorescent mai mare. Timpul necesar ca semnalul fluorescent al fiecărei ținte să atingă un prag specificat („tTime”) este proporțional cu concentrația inițială de HIV-1. Fiecare reacție are un calibrator intern/control intern (IC), care controlează potențialele variații în procesarea, amplificarea și detectarea eșantioanelor. Concentrația unei probe este apoi calculată folosind tTime pentru ambele amplificări pol și LTR cu ajutorul software-ului sistemului Panther. Prin algoritmul său și prin compararea cu informațiile de calibrare stocate, software-ul sistemului Panther returnează un rezultat unic, validat clinic pentru fiecare probă.

Rezumatul siguranței și performanțelor

Rezumatul siguranței și performanțelor (SSP) este disponibil în baza de date europeană privind dispozitivele medicale (Eudamed), unde este asociat cu identificatorii de dispozitiv (UDI-DI de bază). Pentru a localiza SSP pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx, consultați codul BUDI (Basic Unique Device Identifier – Identificator unic de bază al dispozitivului):
54200455DIAGAPTHIV1XB

Avertismente și precauții

- A. Pentru diagnosticare *in vitro*.
- B. Pentru uz profesionist.
- C. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx nu este destinat utilizării ca test de screening pentru prezența HIV-1 în sânge donat.
- D. Pentru a reduce riscul de rezultate nevalide, citiți cu atenție întregul prospect și *Manualul operatorului pentru Panther/Panther Fusion™ System* înainte de efectuarea acestui test.

În legătură cu laboratorul

- E.  **ATENȚIE:** Controalele pentru acest test conțin plasmă umană. Plasma este negativă pentru antigenul superficial al hepatitei B (HBsAg), anticorpii pentru HCV, anticorpii pentru HIV-1 și HIV-2, și antigenul HIV, atunci când este testată prin procedurile autorizate de Food and Drug Administration din SUA. În plus, plasma nu este reactivă pentru ARN-ul HCV și ARN-ul HIV-1 atunci când este testată cu testări de acid nucleic licențiate utilizând probe compozite. Toate materialele provenite din sânge uman trebuie considerate potențial infecțioase și trebuie tratate cu respectarea precauțiilor universale (33-35).
- F. Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HIV-1 Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură. Dacă se produce o scurgere, dezinfectați imediat în conformitate cu procedurile adecvate ale unității.
- G. Utilizați doar instrumentarul și consumabilele de laborator de unică folosință prevăzute sau specificate.
- H. Respectați precauțiile de laborator obișnuite. Nu pipetați cu ajutorul gurii. Nu consumați alimente sau băuturi și nu fumați în zonele de lucru desemnate. Purtați mănuși de unică folosință fără pudră, ochelari de protecție și halate de laborator atunci când manipulați eșantioane și reactivi din set. Spălați-vă temeinic mâinile după ce ați manipulat eșantioane sau reactivi din kit.

- I. Suprafețele de lucru, pipetele și alte echipamente trebuie decontaminate în mod regulat cu soluție de hipoclorit de sodiu 2,5%-3,5% (0,35 M-0,5 M).
- J. Eliminați toate materialele care au intrat în contact cu eșantioanele și reactivii în conformitate cu reglementările regionale (33-36). Curățați și dezinfectați bine toate suprafețele de lucru.
- K. Controalele conțin azidă de sodiu cu rol de conservant. Nu utilizați tuburi metalice pentru transferul reactivilor. Dacă soluțiile care conțin compuși ai azidei de sodiu sunt eliminate într-un sistem de canalizare, acestea trebuie diluate și clătite cu cantități generoase de apă de la robinet. Aceste precauții sunt recomandate pentru a evita acumularea de depuneri în tuburile metalice în care s-ar putea dezvolta condiții explozive.
- L. Bunele practici standard pentru laboratoarele moleculare includ monitorizarea mediului înconjurător. Pentru a monitoriza mediul unui laborator, se recomandă următoarea procedură.
 - 1. Luați un bețișor cu vârf de vată și asociați-l cu tubul pentru părți alicote din eșantion (SAT) Aptima®.
 - 2. Etichetați fiecare SAT în mod corespunzător.
 - 3. Umpleți fiecare SAT cu 1 ml de diluant pentru eșantioane Aptima®.
 - 4. Pentru a preleva probele superficiale, umeziți ușor un bețișor cu vată în apă deionizată fără nuclează.
 - 5. Tamponați suprafața de interes folosind o mișcare verticală, de sus în jos. Rotiți bețișorul cu vată cu aproximativ o jumătate de tură, în timp ce tamponați locul.
 - 6. Amplasați imediat în tub proba prelevată pe bețișorul cu vată și rotiți încet bețișorul cu vată în diluant pentru a extrage potențialele materiale tamponate. Apăsăți bețișorul cu vată pe partea laterală a tubului de transport pentru a extrage cât mai mult lichid posibil. Aruncați bețișorul cu vată și acoperiți tubul cu un capac.
 - 7. Repetați pașii pentru restul probelor prelevate pe bețișoare cu vată.
 - 8. Testați bețișorul cu vată cu testul molecular.

În legătură cu eșantioanele

- M. Eșantioanele pot fi infecțioase. Folosiți Precauții universale (33-35) atunci când efectuați acest test. Metodele adecvate de manipulare și eliminare vor fi stabilite în conformitate cu reglementările locale (36). Numai personalul instruit corespunzător în utilizarea testului Aptima HIV-1 Quant Dx și în manipularea materialelor potențial infecțioase trebuie să efectueze această procedură.
- N. Mențineți condiții de depozitare adecvate în timpul expedierii eșantionului pentru a asigura integritatea acestuia. Stabilitatea eșantionului în timpul expedierii în alte condiții decât cele recomandate nu a fost evaluată.
- O. Evitați contaminarea încrucișată pe parcursul etapelor de manipulare a eșantioanelor. Aveți grijă în special să evitați contaminarea prin răspândirea aerosolilor, la slăbirea sau scoaterea capacelor eșantioanelor. Eșantioanele pot conține niveluri extrem de ridicate de organisme. Asigurați-vă că recipientele cu eșantioane nu se ating între ele și eliminați materialele utilizate fără a le trece pe deasupra recipientelor deschise. Schimbați mănușile dacă acestea intră în contact cu eșantionul.

În legătură cu testul

- P. Rezultatele cantitative ale testului Aptima HIV-1 Quant Dx au fost evaluate cu plasmă. Serul nu poate fi utilizat pentru a obține rezultate cantitative. Rezultatele calitative au fost evaluate atât cu plasmă, cât și cu ser. Utilizarea acestui kit de testare cu alte eșantioane decât cele aprobate în mod specific pentru utilizarea cu acest kit de testare poate duce la rezultate inexacte ale testelor.
- Q. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx a fost validat clinic utilizând algoritmul din software-ul sistemului Panther. Rezultatul validat care va fi raportat este furnizat de software-ul sistemului Panther în ecranul Results (Rezultate) și în raportul Rezultate.
- R. Nu utilizați kitul de reactivi, calibratorul sau controalele după data expirării.
- S. Nu interschimbați, amestecați sau combinați reactivi de analiză din kituri cu numere diferite ale lotului principal. Lichidele pentru test pot proveni din numere de lot diferite. Controalele și calibratorul pot proveni loturi cu numere diferite.
- T. Evitați contaminarea microbiană și cu nucleaze a reactivilor.
- U. Acoperiți și depozitați toți reactivii testului la temperaturile specificate. Performanța testului poate fi afectată de utilizarea unor reactivi ai testului depozitați necorespunzător. Consultați *Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor* și *Materiale opționale* pentru mai multe informații.
- V. Nu combinați reactivi sau lichide ale testului fără instrucțiuni specifice. Nu umpleți până la refuz cu reactivi sau lichide. Sistemul Panther verifică nivelurile reactivilor.
- W. Unii reactivi din acest kit sunt etichetați cu informații referitoare la pericole.

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

Informații pericole UE	
—	Reactiv de amplificare Magnesium Chloride 60-65% — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	Reactiv enzimatic HEPES 1%-5% Triton X-100 1-5% — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.

—	Reactiv de reconstituire enzimatică Glicerol 20-25% Triton X-100 5-10% -HEPES 1%-5% — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	Reactiv promotor Magnesium Chloride 60-65% — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
—	Reactiv de captură țintă HEPES 15-20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Lithium Hydroxide, Monohydrate 1-5% Succinic Acid 1-5% — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.
  	Substanțe de control pentru kitul HIV VL Ser uman/plasmă umană 95-100% Azidă de sodiu <1% PERICOL H300 – Mortal în caz de înghițire. H410 – Foarte toxic pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P264 – Spălați-vă fața, mâinile și orice suprafață de piele expusă bine după utilizare. P273 – Evitați dispersarea în mediu. P301 + P310 – ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: sunați imediat la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic. P321 – Tratament specific (a se vedea instrucțiunile suplimentare privind primul ajutor de pe această etichetă). P330 – Clătiți gura. P391 – Colectați scurgerile de produs.
—	Calibratoare pentru kitul HIV VL HEPES 15-20% Lauryl Sulfate Lithium Salt 5-10% Lithium Hydroxide Monohydrate 1-5% Succinic Acid 1-5% — H412 – Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. P273 – Evitați eliberarea în mediu. P501 – Aruncați conținutul/recipientul la o stație de eliminare a deșeurilor autorizată.

Cerințe privind depozitarea și manipularea reactivilor

- A. Tabelul următor prezintă condițiile de depozitare și stabilitatea pentru reactivi, substanțe de control și calibrator.

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

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

- B. Eliminați orice reactivi reconstituiți și reactivul de capturare a analitului (TCR) nefolosiți după 30 de zile sau după data de expirare a lotului principal oricare dintre acestea survine mai întâi.
- C. Reactivii depozitați pe sistemul Panther au o stabilitate de 72 de ore în cadrul sistemului. Reactivii pot fi încărcăți în sistemul Panther de până la 8 ori. Sistemul Panther înregistrează fiecare încărcare a reactivilor.
- D. După decongelarea calibratorului, soluția trebuie să fie limpede, adică să nu fie tulbure și să nu prezinte precipitate.
- E.  Reactivul promotor și reactivul promotor reconstituit sunt fotosensibili. Protejați acești reactivi împotriva luminii în timpul păstrării și al pregătirii pentru utilizare.

Prelevarea și depozitarea eșantioanelor

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

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

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

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

Pentru măsurători cantitative:

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

Pentru determinare calitativă:

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

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

A. Recoltarea eșantionelor

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

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

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

B. Condiții de păstrare a eșantioanelor

1. Eșantioane de plasmă în EDTA și ACD

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

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

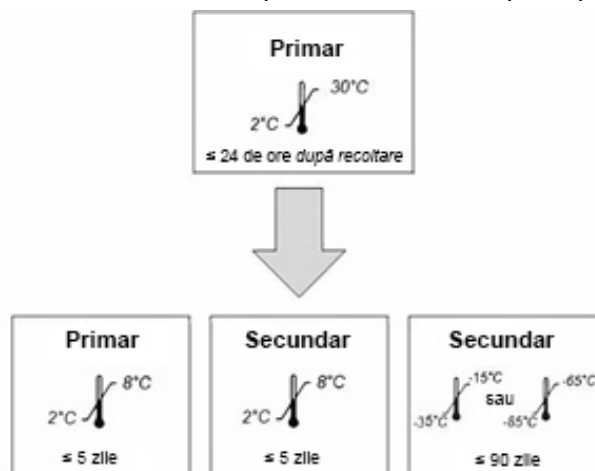


Figura 1. Condiții de depozitare pentru tuburile cu EDTA/ACD

2. Eșantioane PPT

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

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

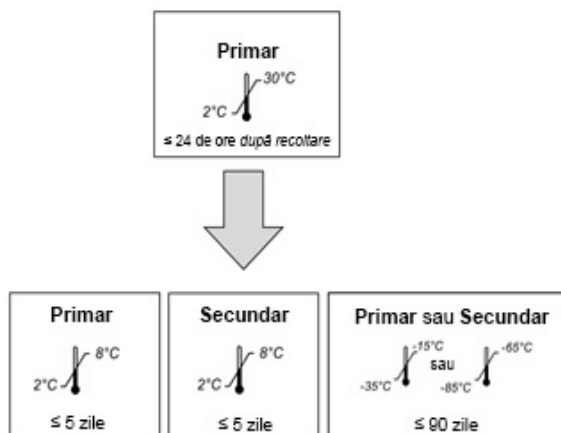


Figura 2. Condiții de depozitare pentru PPT

3. Eșantioane în tuburi pentru ser

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

- În tubul pentru ser la 2 °C până la 8 °C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la 2 °C până la 8 °C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la o temperatură de -20 °C timp de până la 90 de zile.

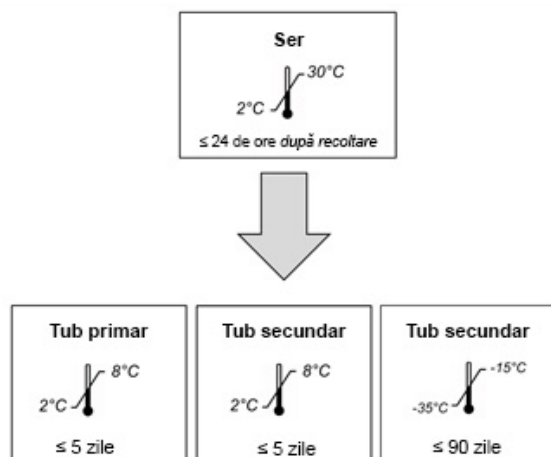


Figura 3. Condiții de depozitare pentru tuburile pentru ser

4. Eșantioane SST

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

- În SST la 2 °C până la 8 °C timp de până la 5 zile,
- În tubul secundar la 2 °C până la 8 °C timp de până la 5 zile sau
- În tubul secundar la o temperatură de -20 °C timp de până la 90 de zile.

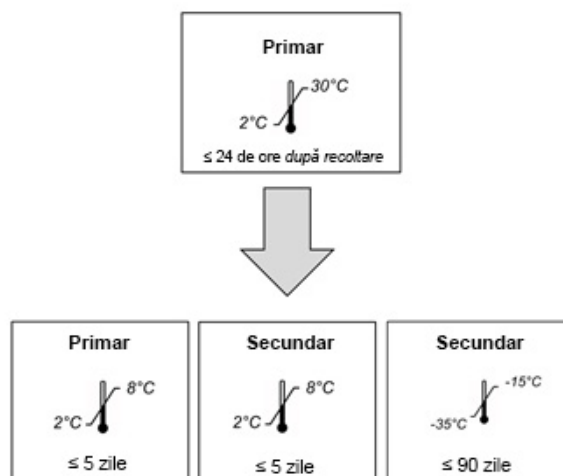


Figura 4. Condiții de depozitare SST

C. Diluția eșantioanelor de plasmă

Notă: Un eșantion de plasmă poate fi diluat în SAT sau în tubul secundar pentru testare pe sistemul Panther. Consultați Procedura de testare cu Panther System, Etapa E.4 pentru mai multe informații.

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



Notă: Diluția eșantioanelor de plasmă poate fi utilizată numai pentru rezultate cantitative. Nu diluați probe de plasmă pentru rezultate de diagnosticare.

Probe pe Panther System

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

Transportul eșantioanelor

Mențineți condițiile de păstrare a probelor descrise în *Prelevarea și depozitarea eșantioanelor*.

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

Panther System

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

Reactivi și materiale furnizate

Kit de teste Aptima HIV-1 Quant Dx

100 de teste (1 kit de teste, 1 kit de calibratoare și 1 kit de substanțe de control)
(Nr. cat. PRD-03000)

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

Kit de teste Aptima HIV-1 Quant Dx
(păstrați între 2 °C și 8 °C după primire)

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

Kit de calibratoare Aptima HIV-1 Quant Dx (Nr. cat. PRD-03001)
(păstrați între -15 °C și -35 °C după primire)

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

Kit de substanțe de control Aptima HIV-1 Quant Dx (nr. cat. PRD-03002)
(păstrați între -15 °C și -35 °C după primire)

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

Materiale necesare, dar disponibile separat

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

Material	Nr. cat.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System, lichide și deșeuri continue (Panther Plus)	PRD-06067
Kit de calibratoare Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Kit de substanțe de control Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Kit de procesare Panther™ pentru teste în timp real (numai pentru teste în timp real)	PRD-03455 (5000 de teste)
Kit de lichide pentru testul Aptima® (cunoscut și drept Kit de lichide universale) conține Soluție de spălare Aptima®, Soluție tampon Aptima® pentru lichidul de dezactivare și Reactiv ulei Aptima®	303014 (1000 de teste)
Unități multitub (MTU-uri)	104772-02
Kit de pungi pentru reziduuri Panther™	902731
Capac pentru coș de reziduuri Panther™	504405
Sau Kit de procesare pentru Panther™ System (la procesarea testelor TMA nedesfășurate în timp real, în paralel cu teste TMA în timp real) conține unități multitub (MTU-uri), pungi pentru reziduuri, capace pentru coșuri de reziduuri, detecție automată și fluide de testare	303096 (5000 de teste)
Vârfuri, 1000 µl, cu filtru, conductive, detectoare de lichid și de unică folosință Este posibil ca unele produse să nu fie disponibile în toate regiunile. Pentru informații specifice regiunii, contactați reprezentantul.	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Înălbitor, soluție hipoclorit de sodiu 5%-8,25% (0,7 M-1,16 M)	—
Mănuși de unică folosință, fără pudră	—
Capace de schimb pentru reactivi Flacoane de reconstituire a reactivului de amplificare, enzimatic și promotor Flacon TCR	CL0041 (100 de capace) CL0040 (100 de capace)
Huse căptușite cu plastic pentru masa de lucru din laborator	—
Șervețele fără fibre	—
Pipetor	—
Tips (Vârfuri)	—
Opțiuni pentru tuburi de prelevare primare (EDTA, ACD, PPT, SST, ser): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Centrifugă	—
Mixer cu turbionare	—

Materiale opționale

Material	Nr. cat.
Opțiuni pentru tuburi secundare:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Tuburi pentru părți alicote din eșantion Aptima (SAT) (pachet de 100 de bucăți)	FAB-18184
Capac pentru tub de transport (pachet de 100 de bucăți) <i>capac pentru SAT</i>	504415
Diluant pentru eșantioane Aptima	PRD-03003
Kit diluant pentru eșantioane Aptima <i>conține diluant pentru eșantioane, 100 SAT și 100 de capace</i>	PRD-03478
Pipete de transfer	—
Paneluri disponibile în comerț, de exemplu: <i>HIV-1 din controlul calității pentru diagnosticare moleculară (QCMD) sau Panel de studiu privind încărcătura virală HIV College of American Pathologists (CAP) sau paneluri HIV SeraCare ACCURUN</i>	—
Bețișoare cu vârf de vată	—
Agitator oscilant pentru tuburi	PRD-03488

Procedura de testare cu Panther System

Notă: Consultați Manualul operatorului pentru Panther/Panther Fusion System pentru informații de procedură suplimentare.

A. Pregătirea zonei de lucru

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

B. Prepararea calibratorului și a substanțelor de control

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

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

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

Notă: *Evitați crearea de spumă excesivă la răsturnarea calibratorului și a substanțelor de control. Spuma compromite funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.*

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

C. Reconstituirea/pregătirea reactivului dintr-un kit nou

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

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

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

- c. Asigurați-vă că tot precipitatul este în soluție și că particulele magnetice sunt suspendate înainte de utilizare.
2. Pentru reconstituirea reactivilor de amplificare, enzimatici și promotori, efectuați următoarele acțiuni:
 - a. Scoateți reactivii liofilizați și soluțiile de reconstituire corespunzătoare din locul de depozitare (între 2 °C și 8 °C). Corelați fiecare soluție de reconstituire cu reactivul liofilizat al acesteia.
 - b. Asigurați-vă că soluția de reconstituire și reactivul liofilizat au etichete de aceeași culoare. Verificați numerele de lot de pe fișa cu coduri de bare a lotului principal pentru a vă asigura că reactivii corespunzători au fost corelați.
 - i. Deschideți flaconul de reactiv liofilizat scoțând garnitura metalică și dopul din cauciuc.

- ii. Introduceți cu fermitate capătul crestat al colierului de reconstituire (negru) pe flacon (Figura 5, Etapa 1).
- iii. Deschideți soluția de reconstituire ce îi corespunde și așezați capacul pe o suprafață de lucru curată, protejată.
- iv. Amplașați flaconul cu soluție de reconstituire pe o suprafață stabilă (de exemplu, masa de lucru). Apoi răsturnați flaconul de reactiv liofilizat peste flaconul cu soluție de reconstituire și atașați bine colierul pe flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 2).
- v. Răsturnați lent flacoanele asamblate (flacon atașat la flaconul cu soluție) pentru a permite scurgerea soluției în flaconul din sticlă (Figura 5, Etapa 3).
- vi. Ridicați flacoanele asamblate și rotiți-le timp de minimum 10 secunde (Figura 5, Etapa 4).
- vii. Așteptați cel puțin 30 de minute pentru ca reactivul liofilizat să pătrundă în soluție.
- viii. După pătrunderea reactivului liofilizat în soluție, rotiți flacoanele asamblate timp de cel puțin 10 secunde și apoi oscilați ușor soluția în flaconul din sticlă înainte și înapoi, pentru o amestecare temeinică.
- c. Înclinați lent, din nou, flacoanele asamblate, pentru a permite ca toată soluția să se scurgă înapoi în flaconul cu soluție de reconstituire (Figura 5, Etapa 5).
- d. Scoateți cu atenție colierul de reconstituire și flaconul din sticlă (Figura 5, Etapa 6).
- e. Puneți la loc capacul pe flacon. Înregistrați inițialele operatorului și data reconstituirii pe etichetă (Figura 5, Etapa 7).
- f. Aruncați manșonul pentru reconstituire și flaconul de sticlă (Figura 5, Etapa 8).

Avertisment: Evitați crearea de spumă excesivă în timpul reconstituirii reactivilor. Spuma compromise funcția de detectare a nivelului la sistemul Panther.

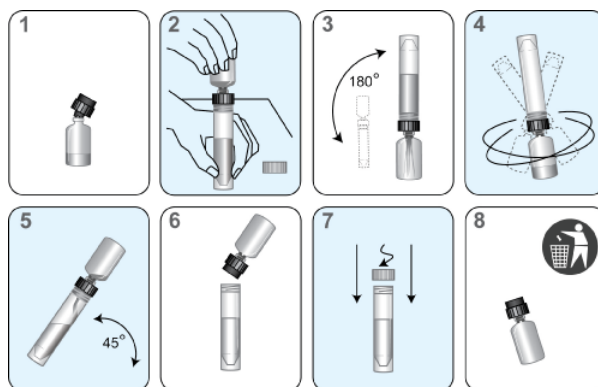


Figura 5. Procesul de reconstituire a reactivilor

D. Prepararea reactivului pentru reactivi preparați anterior

1. Scoateți reactivii preparați anterior din locul de depozitare (2 °C-8 °C).
2. Reactivii de amplificare, enzimatici, promotori și TCR pregătiți anterior trebuie să atingă 15 °C-30 °C înainte de începerea testului.
3. Pentru TCR preparat anterior, parcurgeți Etapa C.1 de mai sus, înainte de încărcarea pe sistem.

4. Rotiți și răsturnați reactivii de amplificare, enzimatici și promotori pentru o amestecare temeinică, înainte de încărcarea acestora pe sistem. Evitați crearea de spumă excesivă în timpul răsturnării reactivilor.

Opțiune: Reactivii preparați anterior pot fi pregătiți pe un agitator oscilant pentru tuburi, urmând instrucțiunile de mai jos: Scoateți reactivii din locul de depozitare (2 °C-8 °C). Amplasați reactivii pe un agitator oscilant pentru tuburi și lăsați să se încălzească timp de minimum 30 de minute, la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C.

5. Nu umpleți recipientele cu reactiv până la refuz. Sistemul Panther va recunoaște și respinge sticlele care au fost umplute complet.

E. Manipularea eșantioanelor

1. Asigurați-vă că eșantioanele procesate din tuburile primare sau eșantioanele nediluate din tuburile secundare au fost depozitate în mod corespunzător, conform *Prelevarea și depozitarea eșantioanelor*.
2. Asigurați-vă că eșantioanele congelate sunt decongelate complet. Vortexați eșantioanele decongelate timp de 3 până la 5 secunde, pentru ca acestea să fie amestecate temeinic.
3. Lăsați eșantioanele să ajungă la o temperatură cuprinsă între 15 °C și 30 °C, înainte de procesare. Consultați *Probe pe Panther System* pentru informații suplimentare de încărcare pe sistem.
4. Asigurați-vă că fiecare tub de recoltare primar conține până la 1200 µl de eșantion sau fiecare SAT conține cel puțin 700 µl de eșantion. Consultați tabelul furnizat în *Prelevarea și depozitarea eșantioanelor* pentru a identifica cerințele de volum mort pentru fiecare tip de tub primar și secundar. Dacă este necesară diluția eșantionului, consultați Etapa E.5 de mai jos pentru informații suplimentare.
5. Diluați un eșantion de plasmă 1:3 într-un SAT sau 1:100 într-un tub secundar.

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



Notă: Diluția eșantioanelor de plasmă poate fi utilizată numai pentru rezultate cantitative. Nu diluați probele de plasmă pentru rezultate de diagnosticare.

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

a. Diluția eșantioanelor cu volum redus

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

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

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

b. Diluția eșantioanelor cu titru mare

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

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

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

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

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

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

F. Pregătirea sistemului

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

- a. Slăbiți capacul unui tub pentru probe, dar încă nu îl scoateți.

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

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

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

- g. Repetați etapele de la a până la f pentru următorul stativ pentru probe.

Note procedurale

A. Calibrator și substanțe de control

1. Tuburile de calibrator pozitiv qHIV-1, substanță de control slab pozitivă qHIV-1, substanță de control puternic pozitivă qHIV-1 și substanță de control negativă qHIV-1 pot fi încărcate în orice poziție din stativul pentru probe și în orice compartiment de probe de pe sistemul Panther. Pipetarea eșantionului va începe în momentul în care este îndeplinită una dintre cele două condiții de mai jos:
 - a. Calibratorul și substanțele de control sunt procesate în prezent de către sistem.
 - b. Pe sistem sunt înregistrate rezultate valide pentru calibrator și substanțele de control.
2. De îndată ce tuburile pentru calibrator și tuburile pentru substanțe de control au fost pipetate și sunt în curs de procesare pentru un anumit kit de reactivi al testului Aptima HIV-1 Quant Dx, eșantioanele pot fi testate cu kitul asociat și reconstituit timp de maxim 24 de ore, **cu excepția cazului în care:**
 - a. Rezultatele calibratorului sau ale substanțelor de control sunt nevalide.
 - b. Trusa de reactivi de testare asociată este îndepărtată din sistem.
 - c. Trusa cu reactivi de testare asociată a depășit limitele de stabilitate.
3. Calibratorul și fiecare tub de substanță de control pot fi utilizate o singură dată. Încercările de a folosi tubul de mai multe ori pot genera erori de procesare.

B. Pudrarea mănușilor

Ca în orice sistem cu reactivi, pudra în exces pe anumite mănuși poate cauza contaminarea tuburilor deschise. Sunt recomandate mănușile nepudrate.

Controlul calității

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

Calibrarea testului

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

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

Substanțe de control negative și pozitive

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

În timpul procesării, criteriile de acceptare a substanțelor de control sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Pentru a genera rezultate valide, substanța de control negativă trebuie să obțină un rezultat „Not Detected” („Nedetectat”), iar substanțele de control pozitive trebuie să obțină rezultate care să se încadreze în parametrii predefiniți (LPC țintă: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ copii/ml, HPC țintă: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ copii/ml). Dacă oricare dintre substanțele de control are un rezultat nevalid, software-ul invalidează automat procesarea. Probele din orice procesare invalidată trebuie retestate folosind un calibrator proaspăt preparat și substanțe de control proaspăt preparate.

Calibrator intern/Substanță de control internă

Fiecare probă conține un calibrator intern/un control intern (IC). În timpul procesării, criteriile de acceptabilitate IC sunt verificate automat de software-ul sistemului Panther. Dacă un rezultat IC este nevalid, rezultatul probei este invalidat. Fiecare probă cu un rezultat IC nevalid trebuie retestată pentru a se obține un rezultat valid. Software-ul sistemului Panther este conceput pentru a verifica cu exactitate procesele, atunci când procedurile sunt efectuate în conformitate cu instrucțiunile din acest prospect și din *Manualul operatorului pentru Panther/Panther Fusion System*.

Interpretarea rezultatelor

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

Sistemul Panther determină automat concentrația de ARN HIV-1 pentru eșantioane și substanțe de control, prin compararea rezultatelor cu o curbă de calibrare. Concentrațiile de ARN HIV-1 sunt raportate în UI/ml și $\log_{10}$ copii/ml. Interpretarea rezultatelor este oferită în Tabelul 1. Testul Aptima HIV-1 Quant Dx are sisteme de amplificare și detectare cu țintă dublă, care vizează independent pol și LTR. Rezultatul raportat de sistem se va baza pe sistemul primar, pol, cu excepția cazului în care pol nu este amplificat. În aceste cazuri, sistemul va raporta rezultatul de la sistemul secundar, LTR.

Dacă este utilizată diluția 1:3 sau 1:100 pentru eșantioanele diluate, sistemul Panther calculează automat concentrația HIV-1 pentru eșantionul pur prin înmulțirea concentrației diluate cu factorul de diluție, iar probele diluate sunt marcate ca diluate.

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

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

Tabelul 1: Interpretarea rezultatelor

Rezultatul raportat al testului Aptima HIV-1 Rezultatul testului Dx		Concentrația de ARN HIV-1 Interpretare	Interpretarea calitativă de către utilizator a diagnosticării ^c
Copii/ml ^a	Valoare $\log_{10}$ ^b		
Nedetectat	Nedetectat	ARN HIV-1 nedetectat.	Nereactiv pentru ARN HIV-1
Detectat <30	<1,47	ARN-ul HIV-1 este detectat, dar la un nivel sub LLoQ (limita inferioară de cuantificare).	Reactiv pentru ARN HIV-1
30-10.000.000	1,47-7,00	Concentrația de ARN HIV-1 se încadrează în intervalul liniar cuprins între 30 și 10.000.000 copii/ml.	Reactiv pentru ARN HIV-1
>10.000.000	>7,00	Concentrația de ARN HIV-1 este peste limita superioară de cuantificare (ULoQ).	Reactiv pentru ARN HIV-1
Nevalid ^d	Nevalid ^d	A apărut o eroare la generarea rezultatului. Eșantionul trebuie retestat.	Nevalid ^d

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

^b Valoarea este redusă la două zecimale.

^c Nu trebuie să se facă o interpretare diagnostică pe baza unui rezultat „nereactiv” pentru eșantioanele care au fost diluate. Obțineți un nou eșantion nediluat și repetați testul.

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

După ce rezultatele sunt disponibile în ecranul Results (Rezultate), valoarea de cuantificare pentru fiecare țintă poate fi accesată utilizând funcția Sample Curve Report (Raportul privind curba probei) din software-ul sistemului Panther. Pentru a vizualiza valorile și curbele de amplificare, selectați Sample ID (ID probă) pentru probă în ecranul Results (Rezultate) din software-ul sistemului Panther. Apoi selectați butonul „Curve Data” (Date curbă). Se deschide o fereastră care conține Sample Curve Report (Raportul privind curba probei), care include profilurile de fluorescență și valorile de cuantificare pentru probă.

Notă: Datele obținute din Sample Curve Report (Raportul privind curba probei) sunt furnizate doar cu titlu informativ (de exemplu, pentru depanare și verificarea curbei). Rezultatul validat care va fi raportat pentru probă este furnizat de software-ul sistemului Panther în ecranul Results (Rezultate) și în raportul Rezultate.

Notă: Consultați Manualul operatorului pentru Panther/Panther Fusion System pentru instrucțiuni suplimentare privind funcționarea sistemului Panther.

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

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

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

Componentă	Interval de recuperare pentru procesări valide
Substanță de control negativă	Nu este cazul
Substanță de control slab pozitivă	+/- 0,5 log ₁₀ copii/ml
Substanță de control puternic pozitivă	+/- 0,5 log ₁₀ copii/ml

Limitări

- A. Utilizarea acestui test este limitată la personalul care a fost instruit în vederea procedurii. Nerespectarea instrucțiunilor furnizate în prospectul din ambalaj poate conduce la rezultate eronate.
- B. Rezultatele sigure depind de recoltarea, transportul, depozitarea și procesarea adecvată a eșantioanelor.
- C. Acest test a fost validat pentru utilizare ca test cantitativ numai cu EDTA uman și plasmă ACD.
- D. Acest test a fost validat pentru utilizare ca test calitativ numai cu EDTA uman și plasmă ACD și ser.
- E. Deși rare, mutațiile din regiunile extrem de conservate ale genomului viral acoperite de primeri și/sau de sondele din testul Aptima HIV-1 Quant Dx pot determina cuantificarea insuficientă sau nedetectarea virusului.
- F. Acest test nu a fost validat pentru utilizarea la pacienții supuși terapiilor bazate pe vectori lentivirali, cum ar fi terapia cu celule T CAR. Regiunile potențial suprapuse ale genomului viral acoperite de primeri și/sau sonde în testul Aptima HIV-1 Quant Dx pot duce la amplificarea vectorilor lentivirali utilizați în terapiile bazate pe vectori lentivirali.

Performanțe analitice

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

Limita de detecție (LoD) este definită ca fiind concentrația de ARN HIV-1 care este detectată la o probabilitate de minimum 95% în conformitate cu CLSI EP17-A2 (37). LoD a fost determinat de paneluri de testare formate din diluții din AI 3-lea standard internațional OMS pentru HIV-1 (subtip B, cod NIBSC: 10/152) în plasmă și ser cu EDTA HIV-1 negativ. Treizeci de replicări ale fiecărei diluții au fost rulate pe trei sisteme Panther folosind trei loturi de reactivi pentru un total de 90 de replicări pentru fiecare diluție. Conform CLSI EP17-A2, LoD au fost definite utilizând rezultatele din lotul de reactivi cu cea mai mare concentrație pentru limita de detecție previzionată LoD și sunt prezentate în Tabelul 3. Prin analiza Probit, limita de detecție previzionată de 95% pentru LoD pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx este de 12 copii/ml (35 UI/ml) în plasmă și 8,9 copii/ml (25 UI/ml) în ser (0,35 copii=1 UI).

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

Limita de detecție previzionată	Plasmă		Ser	
	Concentrație (copii/ml)	Concentrație (UI/ml)	Concentrație (copii/ml)	Concentrație (UI/ml)
10%	1,2	3,3	0,8	2,2
20%	1,6	4,6	1,1	3,1
30%	2,0	5,7	1,4	4,0
40%	2,5	7,2	1,7	4,9
50%	3,1	8,8	2,1	5,9
60%	3,8	11	2,5	7,2
70%	4,8	14	3,1	8,9
80%	6,2	18	4,0	11
90%	9,0	26	5,8	17
95%	12,1	35	8,9	26

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

Pentru HIV-1 grupul M (subtipurile A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) și grupurile N și O, au fost create șase paneluri pozitive și un panel negativ prin îmbogățirea fie cu virus HIV-1 cultivat, fie cu eșantioane clinice pozitive în plasmă și ser EDTA umane negative la HIV-1 (0-40 copii/ml). Fiecare membru al panelului a fost testat în 30 de replicări cu două loturi de reactivi pentru un total de 60 de replicări per membru al panelului. Atribuirea concentrației pentru eșantioanele clinice sau stocurile de virusuri cultivate a fost determinată utilizând un test de comparare. A fost efectuată analiza probit pentru a genera limitele de detecție previzionate 50% și 95%. Conform CLSI EP17-A2 (37), limitele de detecție (LoD) au fost definite utilizând rezultatele lotului de reactivi cu cea mai mare concentrație pentru limita de detecție previzionată, definită ca LoD, așa cum sunt prezentate în Tabelul 4.

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

Subtip/Grup	Limită de detecție previzionată	Plasmă	Ser
		Concentrație (copii/ml)	Concentrație (copii/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

Intervalul liniar

Intervalul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx a fost stabilit prin testarea unor paneluri formate din virus HIV-1 subtipul B cultivat diluat în plasmă EDTA umană negativă la HIV-1 în conformitate cu CLSI EP06-A (38). Concentrația panelurilor a variat între 1,30 și 7,30 $\log_{10}$ copii/ml. Testarea a fost efectuată pe șapte sisteme Panther cu două loturi de reactivi. După cum se arată în Figura 6, testul Aptima HIV-1 Quant Dx a demonstrat liniaritate în intervalul testat.

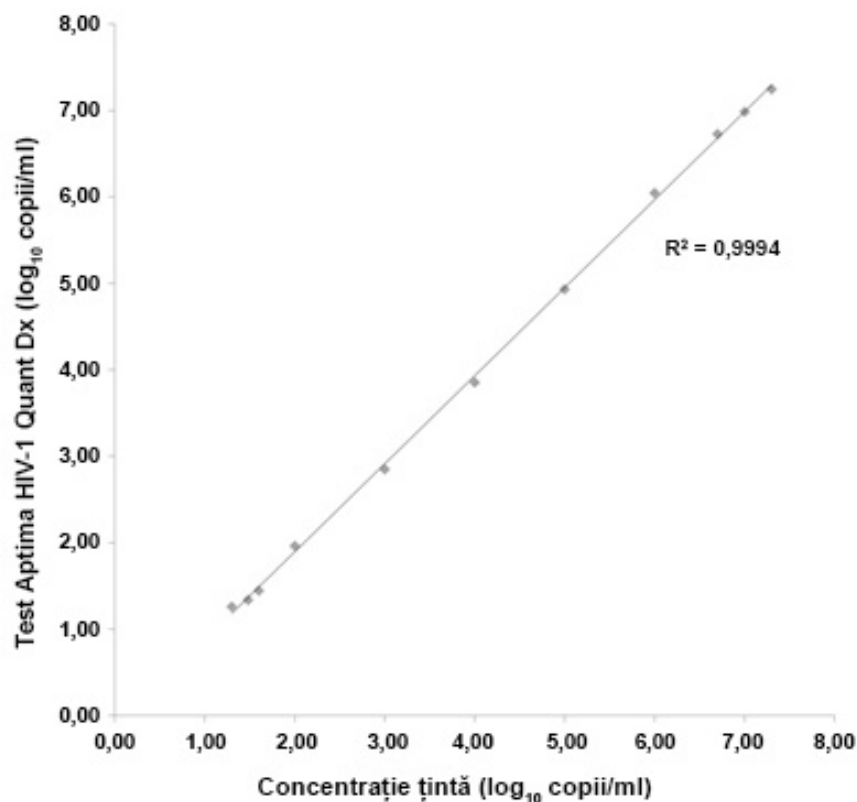


Figura 6. Liniaritatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx

Liniaritatea în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1

Răspunsul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx în grupul M (subtipurile A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) și în grupurile N și O a fost confirmat prin testarea panelurilor care constau în transcriptul de HIV-1 diluat în soluție-tampon la concentrații cuprinse între 2,00 și 6,70 $\log_{10}$ copii/ml. Testarea a fost efectuată pe patru sisteme Panther și șase rulări. Liniaritatea a fost demonstrată în intervalul testat (Figura 7).

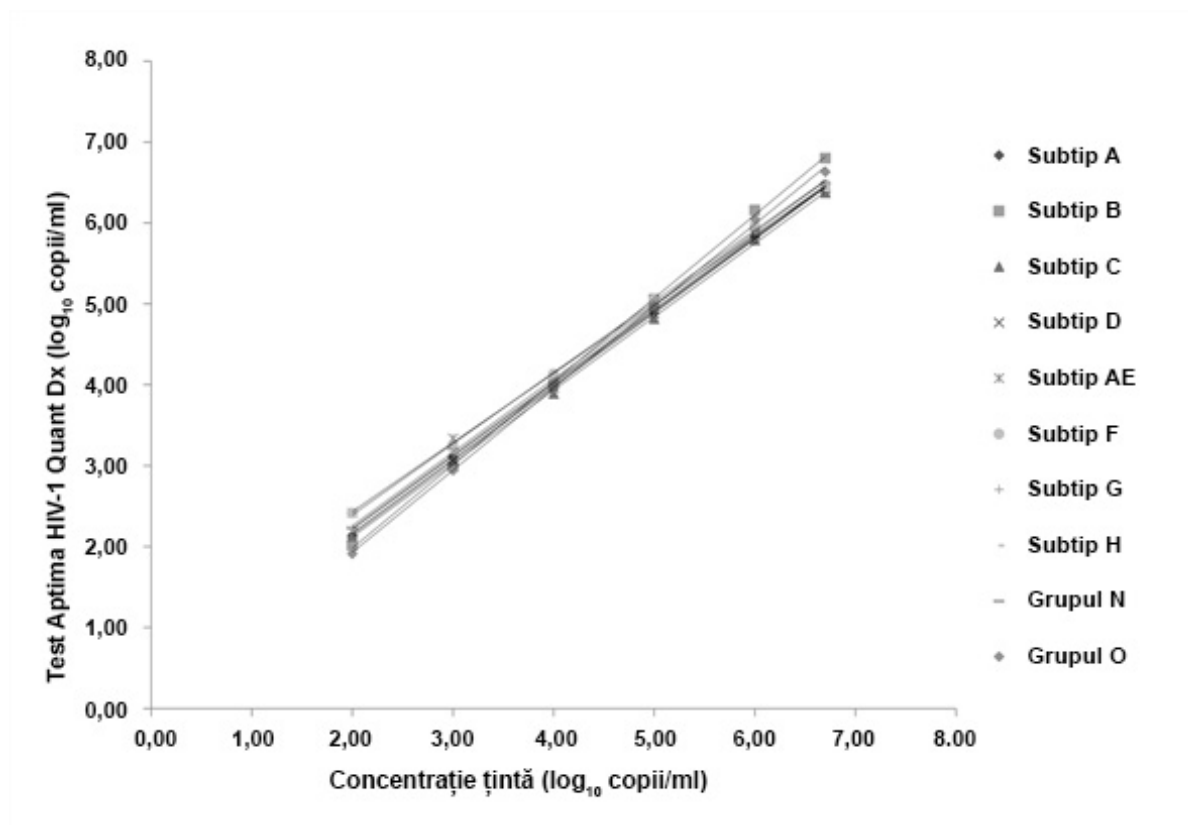


Figura 7. Liniaritatea între grupul M (subtipurile A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) și grupurile N și O

Determinarea limitei inferioare de cuantificare utilizând AI 3-lea standard internațional al OMS pentru HIV-1

Limita inferioară de cuantificare (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) este definită drept cea mai scăzută concentrație la care ARN-ul HIV-1 este cuantificat în mod fiabil cu o eroare totală (TE) conform CLSI EP17-A2 (37). TE a fost calculat utilizând modelul Westgard ($TE = |\text{eroarea sistematică}| + 2SD$). Pentru a asigura acuratețea și precizia măsurătorilor, eroarea totală (TE) a testului Aptima HIV-1 Quant Dx a fost setată la 1 $\log_{10}$ copii/ml (adică, la LLoQ, diferența dintre două măsurători mai mare de 1 $\log_{10}$ copii/ml este semnificativă din punct de vedere statistic).

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

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

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

SD=deviație standard TE=eroare totală.

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

Lot de reactiv	LLoQ (log ₁₀ copii/ml)	LLoQ (copii/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verificarea LLoQ în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1

LLoQ în cadrul subtipurilor și grupurilor de HIV-1 a fost verificată în conformitate cu CLSI EP17-A2 (37). Panelurile au fost realizate pentru fiecare grup M de HIV-1 (subtipurile A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) și pentru grupurile N și O prin îmbogățirea probelor compozită de plasmă EDTA umană negativă la HIV-1 cu probe clinice infectate natural sau cu izolate clinice. Testarea a constat într-un total de 30 de replicări pentru fiecare membru al panelului. Datele din Tabelul 7 prezintă cea mai mică concentrație pentru fiecare subtip sau grup la care TE a fost mai mic de 1 log₁₀ copii/ml. Cea mai mare LLoQ pentru toate subtipurile și grupurile testate a fost de 30 copii/ml; prin urmare, această valoare mai mare a fost selectată ca LLoQ pentru testul Aptima HIV-1 Quant Dx (Tabelul 7).

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

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

Precizie

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

Tabelul 8: Precizia testului Aptima HIV-1 Quant Dx

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

CV=coeficient de variație, SD=deviație standard.

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

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

Substanțe endogene și exogene potențial interferente

A fost evaluată sensibilitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx la interferența generată de nivelurile ridicate de substanțe endogene și de medicamentele prescrise frecvent persoanelor infectate cu HIV-1. Au fost testate probe de plasmă EDTA umană negativă la HIV-1 și probe îmbogățite cu HIV-1 la o concentrație de 3 log₁₀ copii/ml a ARN-ului HIV-1.

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

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

Tabelul 9: Substanțe exogene

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

Eșantioanele de plasmă EDTA clinică enumerate în Tabelul 10 de la pacienți cu niveluri crescute de substanțe definite sau de la pacienți cu bolile enumerate au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx cu și fără prezența a 3 log₁₀ copii de ARN HIV-1. Nu a fost observată nicio interferență în performanțe.

Tabelul 10: Tipuri de eșantioane clinice testate

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

Performanțe cu eșantioane negative la HIV-1

Specificitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx a fost determinată folosind 120 de eșantioane de plasmă EDTA negative la HIV-1 proaspete și 510 congelate. ARN-ul HIV-1 nu a fost detectat în toate cele 630 de probe (specificitate de 100%; CI 95%: 99,4-100%) (Tabelul 11).

Tabelul 11: Specificitatea în eșantioanele de plasmă

	Plasmă proaspătă	Plasmă congelată	Tot
Replicări valide (n)	120	510	630
Nereactiv	120	510	630
Specificitate (CI 95%)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)

CI=interval de încredere

Contaminanți microbieni cu potențial de interferență

Reactivitatea încrucișată potențială la agenții patogeni (Tabelul 12) a fost evaluată în testul Aptima HIV-1 Quant Dx în prezența sau absența a 3 log₁₀ copii/ml de ARN HIV-1 în plasmă EDTA umană negativă la HIV-1. Nu s-a observat nicio interferență în performanțele testului în prezența agenților patogeni.

Tabelul 12: Agenți patogeni testați pentru reactivitate încrucișată

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

^a UFP/ml=Unități formatoare de placă per ml.^b UI/ml=Unități internaționale per ml.^c pv/ml=Particule virale per ml.^d CFU/ml=Unități formatoare de colonii per ml.^e IFU/ml=Unități formatoare de incluziuni per ml.

Repetabilitatea eșantioanelor clinice

Zece probe de plasmă EDTA clinică și zece probe de ser au fost testate în trei replicări utilizând testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Concentrația medie și deviația standard (SD) sunt prezentate în Tabelul 13 și Tabelul 14.

Tabelul 13: Repetabilitatea eșantioanelor clinice de plasmă

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

SD = deviație standard

Tabelul 14: Repetabilitatea eșantioanelor clinice de ser

Eșantion	Ser	
	Concentrație medie (log ₁₀ copii/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 = deviație standard

Diluția probelor utilizând diluantul pentru eșantioane

Pentru a evalua diluția probelor, un panel format din 11 probe cu concentrații care acopereau intervalul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx și format din două probe peste limita superioară de cuantificare a testului au fost testate în stare pură și diluate (1:3 sau 1:100 în diluant pentru eșantioane) în triplicat (Tabelul 15).

Tabelul 15: Diluția probelor

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

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

^b Eșantion îmbogățit.

^c Toate rezultatele >7,00 log₁₀ copii/ml au fost estimate utilizând analiză suplimentară.

Transferul

Pentru a determina dacă sistemul Panther minimizează riscul de rezultate fals pozitive generate în urma contaminării prin transfer (carryover), s-a efectuat un studiu analitic desfășurat în cadrul a mai multor procesări utilizând paneluri îmbogățite pe două sisteme Panther. Transferul (carryover-ul) a fost evaluat utilizând probe îmbogățite de HIV-1 cu titru ridicat (7 log₁₀ copii/ml) intercalate între probe negative la HIV-1 într-un format în „tablă de șah”. Testarea a fost efectuată în mai mult de cinci rulări. Rata globală de transfer (carryover) a fost de 0% (n=469).

Panelul de seroconversie

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

Tabelul 16: Sinteza datelor privind panelul de seroconversie

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

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

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

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

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

^b Panelurile PRB974, PRB975 și PRB978 au fost testate cu testul BioMerieux p24 Ag.

Studiu de echivalență ser- plasmă

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

Studii privind reproductibilitatea

Reproductibilitatea în eșantioane de plasmă

Reproductibilitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx în probe de plasmă a fost evaluată în trei centre externe. Doi operatori au efectuat testarea la fiecare centru. Fiecare operator a efectuat 2 rulări pe zi pe parcursul a 3 zile folosind 3 loturi de reactivi pe parcursul testării. Fiecare rulare a avut 3 replicări ale fiecărui membru al panelului.

Reproductibilitatea a fost testată utilizând membrii panelului care au constatat în plasmă EDTA negativă la HIV-1. Membrii panelului pozitiv au fost creați prin îmbogățirea plasmei negative cu virus cultivat (HIV-1 subtip B) în concentrații care s-au înscris în intervalul liniar al testului Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabelul 17 prezintă reproductibilitatea și precizia rezultatelor testelor pentru fiecare membru pozitiv al panelului, între centre, între operatori, între loturi, între zile, între execuții, în cadrul execuțiilor și per total. Atunci când au fost incluse numai probele cu rezultate peste limita inferioară de cuantificare (LLOQ) (probele cu rezultate sub LLOQ au fost excluse), SD total a fost $\leq 0,2 \log_{10}$ copii/ml pentru toți membrii panelului. Atunci când au fost incluse toate probele cu ARN HIV-1 detectabil, valorile SD total au rămas neschimbate, cu excepția membrului panelului 1, care a avut SD total de $0,3 \log_{10}$ copii/ml.

Pentru toți membrii panelului pozitivi la HIV-1, valorile concordanței au fost 100%. Pentru membrul panelului negativ la HIV-1, au fost testate 108 replicări și ARN-ul HIV-1 nu a fost detectat în toate cele 108 replicări (concordanță negativă=100%, CI 95%: 96,6%-100%).

Tabelul 17: Reproducibilitatea și precizia testului Aptima HIV-1 Quant Dx pe Panther System la membrii panelului pozitiv din plasmă

Panel	N ^a	Medie Log ₁₀ copii/ml	Între centre		Între operatori		Între loturi		Între zile		Între execuții		În cadrul ciclurilor		Total	
			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 = coeficient de variație, SD = deviație standard

^a Numărul de rezultate de testare valide cu ARN HIV-1 detectabil.^b Include 22 de replicări raportate ca <1,47 log₁₀ copii/ml. Această probă a avut o valoare atribuită de 1,176 log₁₀ copii/ml.^c Numărul de rezultate valide în intervalul liniar al testului.^d Include o replicare raportată ca >7 log₁₀ copii/ml. Această probă a avut o valoare atribuită de 7,18 log₁₀ copii/ml.**Notă:** Variabilitatea pentru unii factori poate fi negativă din punct de vedere numeric. Acest lucru este valabil dacă variabilitatea este foarte scăzută din cauza factorilor respectivi (mai puțin de 0,01). În aceste cazuri, SD și CV sunt afișate ca 0.

Reproductibilitatea în probe de ser

Reproductibilitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx în probe de ser a fost evaluată în 3 centre externe. Doi operatori au efectuat testarea la fiecare centru. Fiecare operator a efectuat 1 rulare pe zi pe parcursul a 5 zile folosind 1 lot de reactivi pe parcursul testării. Fiecare rulare a avut 3 replicări ale fiecărui membru al panelului.

Reproductibilitatea a fost testată utilizând membrii panelului preparați cu ser negativ la HIV-1. Doi membri ai panelului pozitiv au fost creați prin îmbogățirea matricei serice negative cu concentrații 3X-5X LoD și 10X LoD de virus cultivat (HIV-1 subtip B).

Tabelul 18 prezintă reproductibilitatea și precizia rezultatelor testelor pentru fiecare membru pozitiv al panelului, între centre, între operatori, între zile, între execuții, în cadrul execuțiilor și per total.

Pentru toți membrii panelului pozitivi la HIV-1, valorile concordanței au fost 100%. Pentru membrul panelului negativ la HIV-1, au fost testate 90 de replicări și ARN-ul HIV-1 nu a fost detectat în 89/90 de replicări (concordanță negativă=98,9%, CI 95%: 94,0%-99,8%).

Tabelul 18: Reproductibilitatea și precizia testului Aptima HIV-1 Quant Dx pe Panther System la membrii panelului pozitiv din ser

Panel	N	Medie Log ₁₀ copii/ml	Între centre		Între operatori		Între zile		Între execuții		În cadrul ciclurilor		Total	
			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=coeficient de variație log-normal, SD = deviație standard (log₁₀ copii/ml).

Notă: Variabilitatea unor factori poate fi negativă numeric. Acest lucru se poate întâmpla dacă variabilitatea acelor factori este foarte mică. În aceste cazuri, SD și CV sunt afișate ca 0,00.

Performanța clinică

Validarea cuantificării încărcăturii virale

Cuantificarea ARN-ului HIV-1 a fost comparată între testul Aptima HIV-1 Quant Dx și un test comparator. Studiul a inclus testarea probelor de plasmă EDTA clinice (stocate proaspete sau congelate) și a probelor pretestate (virus de cultură îmbogățit în probe de plasmă negative clinice). Fiecare probă a fost testată în duplicat cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx și cu testul comparator. Testarea cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx a fost efectuată în 3 centre externe, fiecare centru utilizând 3 loturi de kituri de reactivi; testarea cu testul comparator a fost efectuată la 1 laborator extern.

628 de seturi asociate de probe (în intervalul liniar al ambelor teste) create din 484 de subiecți înscriși și 144 de probe pretestate au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx și cu testul comparator. Figura 8 prezintă rezultatele analizei de regresie Deming ($y = -0,03 + 1,04x$).

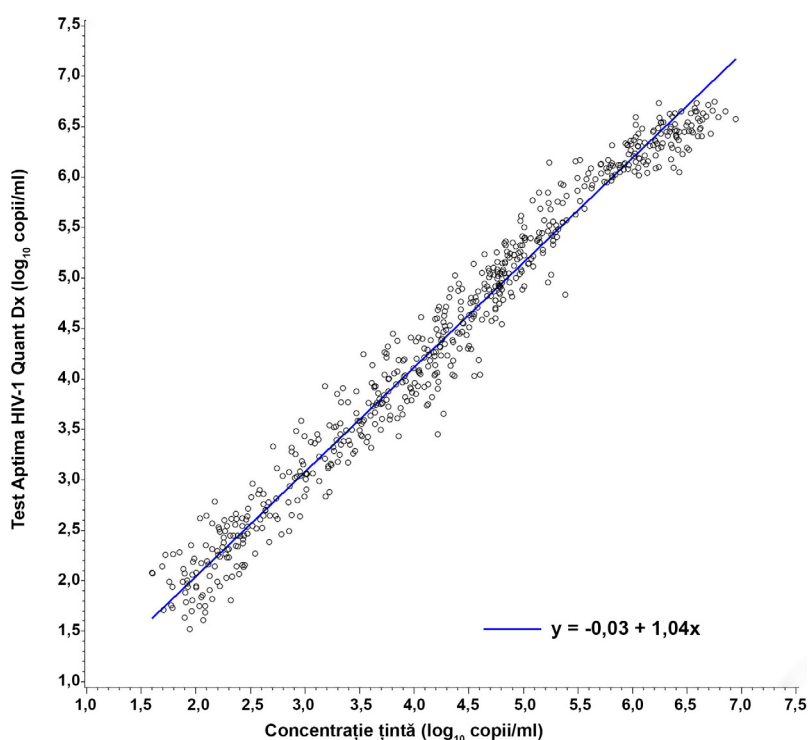


Figura 8: Corelația dintre testul Aptima HIV-1 Quant Dx și testul comparator

Studii privind specificitatea clinică

Specificitatea clinică în cazul probelor negative la HIV-1

Probele de plasmă EDTA negative la HIV-1 congelate anterior, obținute de la donatori voluntari de sânge integral, au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Testarea a fost efectuată cu 3 loturi de kituri de reactivi în 3 centre externe. Specificitatea clinică a fost calculată ca procentaj al probelor negative la HIV-1 cu rezultatele „Not Detected” („Nedetectat”). Șase sute (600) de probe de plasmă negative la HIV-1 au fost testate și ARN HIV-1 nu a fost detectat în toate cele 600 de probe. Specificitatea în probele de plasmă negative a fost de 100% (600/600, CI 95%: 99,4%-100%).

Specificitatea clinică în cazul populației cu risc scăzut

Probele congelate anterior obținute de la persoane care au donat sânge pentru prima dată și de la persoane care nu au donat sânge cu risc scăzut de infectare cu HIV-1 au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Testarea a fost efectuată cu 1 lot de kituri de reactivi în 1 centru extern. Specificitatea clinică a fost calculată prin compararea rezultatelor testului Aptima HIV-1 Quant Dx cu rezultatele testului NAT.

Tabelul 19 arată specificitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx într-o populație cu risc scăzut în funcție de tipul de probă.

Tabelul 19: Specificitatea clinică a testului Aptima HIV-1 Quant Dx într-o populație cu risc scăzut în funcție de tipul de probă

Tipul probei	n	TP	FP	TN	FN	Specificitate % (CI 95%) ^a
Tot	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Ser	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plasmă	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

CI=interval de încredere, FN=fals negativ, FP=fals pozitiv, TN=adevărat negativ, TP=adevărat pozitiv.

^a Clopper-Pearson CI.

^b 1 din 2 probe de ser cu rezultate fals pozitive au fost pozitive atunci când au fost testate cu ajutorul unui imunotest combinat antigen/anticorp HIV-1/HIV-2 de a patra generație.

Studii privind sensibilitatea clinică

Sensibilitate clinică în cazul probelor pozitive la HIV-1

Probele pozitive la HIV-1 congelate anterior au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Testarea a fost efectuată cu 2 loturi de kituri de reactivi în 3 centre, inclusiv 2 centre externe.

Tabelul 20 arată sensibilitatea testului Aptima HIV 1 Quant Dx în probe pozitive în funcție de tipul de probă.

Tabelul 20: Sensibilitatea clinică a testului Aptima HIV-1 Quant Dx în cazul probelor pozitive la HIV-1 în funcție de tipul de probă

Tipul probei	n	TP	FN	Sensibilitate % (CI 95%) ^a
Tot	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Ser	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plasmă	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

CI=interval de încredere, FN=fals negativ, TP=adevărat pozitiv.

^a Clopper-Pearson CI.

Sensibilitate clinică în cazul populației cu risc ridicat

Probele prelevate prospectiv de la persoane cu risc ridicat de infectare cu HIV-1 au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Testarea a fost efectuată cu 1 lot de kituri de reactivi în 3 centre, inclusiv 2 centre externe. Sensibilitatea clinică a fost calculată prin compararea rezultatelor testului Aptima HIV-1 Quant Dx cu rezultatele testului NAT.

Din cele 498 de probe evaluabile, 332 au fost probe de plasmă și 166 au fost probe de ser. Sensibilitatea clinică a fost de 100% (1/1, CI 95%: 20,7%-100%) în probe de ser. Sensibilitatea nu a putut fi evaluată în cazul probelor de plasmă, deoarece nu au fost observate probe cu rezultate adevărat pozitive sau fals negative.

Pozitivitate în probele serodiscordante

Probele serodiscordante congelate anterior (adică reactive în mod repetat la un imunotest HIV inițial și nedeterminate sau negative la un imunotest suplimentar) au fost obținute de la donatori de sânge, iar persoanele care nu au donat sânge au fost testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx. Din cele 473 de probe evaluabile, 76 au fost selectate din panelurile de seroconversie. Testarea a fost efectuată cu 2 loturi de kituri de reactivi în 1 centru intern. Pozitivitatea a fost calculată pentru probele serodiscordante testate cu testul Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabelul 21 arată pozitivitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx în probe serodiscordante în funcție de grupul de probe, tipul de test suplimentar HIV și rezultatul testului suplimentar HIV.

Tabelul 21: Pozitivitatea testului Aptima HIV-1 Quant Dx în cazul probelor serodiscordante

Suplimentar Tip test	Suplimentar Rezultatul testului	Pozitivitate % (n/N) CI 95% ^a		
		Non-seroconversie Grupul panel		Seroconversie Grupul panel
		a 3-a gen.	a 4-a gen.	a 4-a gen.
HIV-1/2 Imunocromatografic	Negativ	Nu este cazul	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
HIV-1/2 Imunocromatografic	Nedeterminat	Nu este cazul	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
HIV-1/2 Rapid	Negativ	Nu este cazul	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
HIV-1/2 Rapid	Nedeterminat	Nu este cazul	0,0 (0/2) 0,0-65,8	Nu este cazul
HIV-1 WB sau IFA	Negativ	0,4 (1/239) 0,1-2,3	100 (4/4) 51,0-100	100 (35/35) 90,1-100
HIV-1 WB sau IFA	Nedeterminat	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

a 3-a gen. =imunotest din a 3-a gen., a 4-a gen.=imunotest din a 4-a gen., CI=interval de încredere, IFA=test de imunofluorescență indirectă, N/A=nu este cazul, WB=Western blot.

^a Scor CI.

Bibliografie

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868-871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497-500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500-503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573-579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506-508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291-1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343-346.
8. DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
9. Gaines, H., M. A. von Sydow, and L.V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995-999.
10. Tindall, B., and D. A. Cooper. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1-14.
11. Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961-964.
12. Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954-960.
13. Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107-112.
14. Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637-640.
15. Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305-308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H.C. Lane. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438-443.
17. Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327-335.
18. Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749-1754.
19. Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678-693.
20. Coffin, J. M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483-489.
21. Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123-126.
22. Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117-122.
23. O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton. 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426-431.
24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696-703.

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704-712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557-2564.
27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292-300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172-1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. 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); versiunea curentă.
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.

Date de contact și istoricul reviziilor



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



Hologic BV
Da Vinci laan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

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

Accidentele grave petrecute în raport cu dispozitivul în Uniunea Europeană trebuie raportate producătorului și autorității competente a Statului Membru în care este stabilit utilizatorul și/sau pacientul.

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

Armored RNA este o marcă comercială a Asuragen, Inc.

Toate celelalte mărci comerciale care apar în acest prospect sunt deținute de proprietarii respectivi.

Este posibil ca acest produs să facă obiectul unuia sau mai multor brevete în S.U.A. identificate la adresa www.hologic.com/patents.

© 2020-2025 Hologic, Inc. Toate drepturile rezervate.

AW-28214-3101 Rev. 002

2025-10

Istoricul reviziilor	Data	Descriere
AW-28214-3101 Rev. 001	Aprilie 2025	• Versiune inițială pentru a îndeplini cerințele IVDR.
AW-28214-3101 Rev. 002	Octombrie 2025	• Această versiune se aliniază cu AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).