

## Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Instrukcja obsługi  
Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*  
Tylko na eksport poza USA

|                                                                                                              |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Informacje ogólne</b>                                                                                     | <b>3</b>  |
| Przeznaczenie                                                                                                | 3         |
| Podsumowanie i objaśnienie testu                                                                             | 3         |
| Zasady procedury                                                                                             | 4         |
| Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności                                                         | 5         |
| Ostrzeżenia i środki ostrożności                                                                             | 5         |
| Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi                                         | 9         |
| Pobieranie i przechowywanie próbek                                                                           | 11        |
| Próbki w systemie Panther System                                                                             | 14        |
| Transport próbek                                                                                             | 14        |
| <b>Panther System</b>                                                                                        | <b>15</b> |
| Dostarczone odczynniki i materiały                                                                           | 15        |
| Materiały wymagane, ale dostępne osobno                                                                      | 17        |
| Materiały opcjonalne                                                                                         | 18        |
| Procedura testu w systemie Panther System                                                                    | 18        |
| Uwagi dotyczące procedury                                                                                    | 23        |
| <b>Kontrola jakości</b>                                                                                      | <b>24</b> |
| Kalibracja testu                                                                                             | 24        |
| Kontrole ujemne i dodatnie                                                                                   | 24        |
| Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna                                                                  | 24        |
| <b>Interpretacja wyników</b>                                                                                 | <b>25</b> |
| <b>Ograniczenia</b>                                                                                          | <b>27</b> |
| <b>Skuteczność analityczna</b>                                                                               | <b>28</b> |
| Granica wykrywalności (LoD) przy użyciu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej                                  |           |
| WHO dla wirusa HIV-1                                                                                         | 28        |
| Granica wykrywalności dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1                                               | 29        |
| Zakres liniowy                                                                                               | 30        |
| Liniowość dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1                                                           | 31        |
| Określanie dolnej granicy oznaczalności przy użyciu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1 | 32        |
| Weryfikacja LLoQ dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1                                                    | 33        |
| Precyzja                                                                                                     | 34        |
| Substancje endogenne i egzogenne potencjalnie powodujące interferencje                                       | 35        |
| Skuteczność z próbkami HIV-1-ujemnymi                                                                        | 37        |
| Mikrobiologiczne czynniki kontaminujące potencjalnie powodujące interferencje                                | 37        |
| Powtarzalność próbek klinicznych                                                                             | 39        |
| Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika do próbek                                                   | 40        |
| Przenoszenie                                                                                                 | 40        |
| Panel serokonwersji                                                                                          | 41        |
| Badanie równoważności surowicy i osocza                                                                      | 42        |
| Badania powtarzalności                                                                                       | 42        |

|                                             |           |
|---------------------------------------------|-----------|
| <b>Skuteczność kliniczna</b>                | <b>45</b> |
| Weryfikacja oznaczalności miana wirusa      | 45        |
| Badania swoistości klinicznej               | 46        |
| Badania wrażliwości klinicznej              | 46        |
| Dodatniość próbek niezgodnych serologicznie | 47        |
| <b>Bibliografia</b>                         | <b>48</b> |
| <b>Dane kontaktowe i historia wersji</b>    | <b>50</b> |

## Informacje ogólne

### Przeznaczenie

Test Aptima® HIV-1 Quant Dx to test amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach in vitro przeznaczony do wykrywania i ilościowego oznaczania RNA grup M, N i O ludzkiego wirusa niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) w całkowicie zautomatyzowanym systemie Panther™ System. Jest on przeznaczony do stosowania jako pomoc w diagnostyce zakażenia wirusem HIV-1, jako potwierdzenie zakażenia wirusem HIV-1 oraz jako pomoc w klinicznym prowadzeniu pacjentów zakażonych wirusem HIV-1.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx może być stosowany jako pomoc w diagnostyce zakażenia wirusem HIV-1, w tym zakażenia ostrego lub pierwotnego. Obecność RNA HIV-1 w osoczu lub surowicy pacjentów bez przeciwciał przeciwko HIV-1 wskazuje na ostre lub pierwotne zakażenie HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx może być stosowany jako test uzupełniający dla próbek, dla których uzyskiwane są powtarzalne wyniki reaktywne w zatwierdzonych testach immunologicznych pod kątem wirusa HIV. Jeśli próbka jest reaktywna w teście Aptima HIV-1 Quant Dx, oznacza to potwierdzenie zakażenia wirusem HIV-1.

Test Aptima HIV-1 Quant Dx może być również stosowany w połączeniu z obrazem klinicznym i innymi markerami laboratoryjnymi do prognozowania choroby u osób zakażonych wirusem HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx może być stosowany jako pomoc w monitorowaniu efektów leczenia antyretrowirusowego poprzez pomiar zmian w stężeniu RNA wirusa HIV-1 w osoczu.

Gdy test Aptima HIV-1 Quant Dx jest używany jako pomoc w diagnostyce zakażenia wirusem HIV-1, skuteczność dla wyników jakościowych jest ustalona zarówno dla próbek osocza, jak i surowicy\*. W przypadku stosowania jako pomoc w monitorowaniu efektów terapii antyretrowirusowej, skuteczność dla wyników ilościowych jest ustalona tylko dla próbek osocza. Próbek surowicy nie można używać do uzyskiwania wyników ilościowych.

Ten test nie jest przeznaczony do stosowania w badaniach przesiewowych dawców krwi lub osocza.

*\*Z testem Aptima HIV-1 Quant Dx można również stosować próbki suchych kropli krwi (DBS). Pełny opis przeznaczenia oraz informacje dotyczące próbek DBS znajdują się w dodatku dotyczącym suchej kropli krwi do ulotki załączonej do opakowania testu Aptima HIV-1 Quant Dx.*

### Podsumowanie i objaśnienie testu

Badania epidemiologiczne wykazały, że ludzki wirus niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) jest czynnikiem etiologicznym zespołu nabytego niedoboru odporności (AIDS) (1-7). Wirus HIV może być przenoszony poprzez kontakty seksualne, narażenie na kontakt z zakażoną krwią lub produktami krwiopochodnymi lub poprzez przenoszenie z matki na dziecko (8). W ciągu 3 do 6 tygodni od ekspozycji na HIV u osób zakażonych zazwyczaj rozwija się krótki, ostry zespół charakteryzujący się objawami grypopodobnymi i związany z wysokim poziomem wirerii we krwi obwodowej (9-12). U większości zakażonych osób po tej wczesnej fazie następuje odpowiedź immunologiczna charakterystyczna dla HIV i spadek wirerii w osoczu, zwykle w ciągu 4 do 6 tygodni od wystąpienia objawów (13-14). Po serokonwersji zakażone osoby zazwyczaj wchodzi w stabilną klinicznie, bezobjawową fazę, która może trwać przez lata (15-17). Okres bezobjawowy charakteryzuje się utrzymującym się, niskim poziomem wirerii w osoczu (18) i stopniowym ubytkiem limfocytów T CD4+. Taki ubytek prowadzi do ciężkiego niedoboru odporności, licznych infekcji oportunistycznych, nowotworów złośliwych i śmierci (19). Chociaż podczas bezobjawowej fazy zakażenia poziomy wirusa we krwi obwodowej są stosunkowo niskie, replikacja i usuwanie wirusa wydają się być dynamicznymi procesami, w których wysokie wskaźniki produkcji wirusa

i zakażenia komórek CD4+ są równoważone przez równie wysokie wskaźniki usuwania wirusa, śmierci zakażonych komórek i uzupełniania komórek CD4+, co skutkuje względnie stabilnymi poziomami, zarówno wirerii w osoczu, jak i komórek CD4+ (20-22).

Ilościowe pomiary poziomu wirusa HIV we krwi obwodowej wykazały, że wyższy poziom wirusa może być skorelowany ze zwiększonym ryzykiem klinicznej progresji choroby związanej z HIV oraz wykazały, że obniżenie poziomu wirusa w osoczu może być związane ze zmniejszonym ryzykiem progresji klinicznej (23-25). Poziomy wirusa we krwi obwodowej mogą być określone ilościowo przez pomiar antygenu HIV p24 w surowicy, przez ilościową hodowlę HIV z osocza lub przez bezpośredni pomiar wirusowego RNA w osoczu przy użyciu technologii amplifikacji kwasu nukleinowego lub amplifikacji sygnału (26-30).

Techniki molekularne, takie jak amplifikacja z mediacją transkrypcji (TMA), były szeroko stosowane do amplifikacji kwasów nukleinowych (31). TMA wykorzystuje wychwytywanie specyficznych cząstek szukanych i izotermiczną amplifikację do wykrywania kwasów nukleinowych w wielu chorobach zakaźnych, w tym w CT, NG, HPV, TV oraz HIV/HCV/HBV w celu zbadania dawcy krwi (32).

Test Aptima HIV-1 Quant Dx, poprzez TMA, wykorzystuje wiele długich starterów, które celują w kilka regionów genomu wirusa HIV-1 w celu skompensowania wysokiego wskaźnika mutacji HIV-1. Test zawiera systemy amplifikacji dwóch cząsteczek szukanych i wykrywania, które szukają niezależnie dwóch regionów genomu HIV-1 (pol i LTR). Oprogramowanie testu nie uśrednia sygnałów z tych dwóch systemów.

System dwóch cząsteczek szukanych Aptima został opracowany z myślą o zwiększaniu szansy precyzyjnego wykrycia i ustalenia ilości próbek.

## Zasady procedury

Test Aptima HIV-1 Quant Dx można podzielić na trzy podstawowe etapy, przy czym wszystkie odbywają się w pojedynczej próbce w aparacie Panther System: wychwyt cząsteczek szukanych, amplifikacja cząsteczek szukanych metodą amplifikacji z mediacją transkrypcji (TMA) oraz wykrywanie produktów amplifikacji (amplikonów) wyznakowanymi fluorescencyjnie sondami (typu torch).

Podczas wychwytywania cząsteczek szukanych, wirusowe kwasy nukleinowe są izolowane z próbek. Próbkę jest poddawana działaniu detergentu w celu solubilizacji otoczki wirusowej, denaturacji białek i uwolnienia genomowego RNA wirusa. Oligonukleotydy wychwytyjące hybrydują do wysoce konserwatywnych regionów genomu wirusa HIV-1, jeśli są one obecne w badanej próbce. Po hybrydyzacji cząsteczka szukana jest wychwytywana przez mikrocząsteczki magnetyczne, które następnie są oddzielane od próbki w polu magnetycznym. W celu usunięcia zbędnych składników z próbki reakcyjnej wykonywane są etapy płukania.

Amplifikacja cząsteczek szukanych jest wykonywana metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych z mediacją transkrypcji, w której wykorzystywane są dwa enzymy — odwrotna transkryptaza wirusa białaczki mysiej Moloneya (Moloney murine leukemia virus, MMLV) oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA (zawierającej sekwencję promotora dla polimerazy RNA bakteriofaga T7) sekwencji szukanej. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA. Test Aptima HIV-1 Quant Dx wykorzystuje metodę TMA do amplifikacji dwóch regionów RNA wirusa HIV-1 (pol i LTR). Generowany jest niezależny sygnał z amplifikacji każdego regionu za pomocą specjalnych starterów, które zostały zaprojektowane z myślą o amplifikacji grup M, N i O wirusa HIV-1.

Wykrywanie następuje dzięki zastosowaniu sond typu torch jednoniciowego kwasu nukleinowego, które są obecne w czasie amplifikacji każdej cząstki szukanej i ulegają swoistej hybrydyzacji z amplikonami w czasie rzeczywistym. Każda sonda typu torch składa się z fluoroforu i wygaszacza. Gdy sonda typu torch nie hybrydyzuje do amplikonu, wygaszacz znajduje się w pobliżu fluoroforu i tłumi fluorescencję. Gdy sonda wiąże się z amplikonem, wygaszacz jest odsuwany dalej od fluoroforu i po wzbudzeniu przez źródło światła emituje sygnał o swoistej długości fali. Gdy więcej sond typu torch hybrydyzuje do amplikonu, generowany jest wyższy sygnał fluorescencyjny. Czas potrzebny do osiągnięcia przez sygnał fluorescencyjny każdej cząsteczki szukanej określonego progu („tTime”) jest proporcjonalny do wyjściowego stężenia wirusa HIV-1. Każda reakcja ma wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC), która kontroluje potencjalne zmiany w przetwarzaniu próbki, amplifikacji i wykrywaniu. Stężenie próbki jest wówczas obliczane za pomocą czasów tTime dla obu amplifikacji, tzn. pol i LTR, przez oprogramowanie Panther System. Za pomocą algorytmów i poprzez porównanie z zapisanymi informacjami o kalibracji oprogramowanie Panther System zwraca jeden klinicznie zweryfikowany wynik dla każdej próbki.

### Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności

SSP (Podsumowanie dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności klinicznej, ang. Summary of Safety and Performance) jest dostępne w europejskiej bazie danych wyrobów medycznych (Eudamed), gdzie jest powiązane z identyfikatorami wyrobów (Basic UDI-DI). W celu zlokalizowania SSP testu Aptima HIV-1 Quant Dx należy użyć podstawowego unikalnego identyfikatora wyrobu (Basic Unique Device Identifier, BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

### Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do zastosowania w diagnostyce *in vitro*.
- B. Do użycia przez profesjonalistów.
- C. Test Aptima HIV-1 Quant Dx nie jest przeznaczony do stosowania jako test przesiewowy na obecność wirusa HIV-1 w oddanych próbkach krwi.
- D. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Instrukcję obsługi systemu Panther/Panther Fusion™ System*.

### Kwestie związane z laboratorium

- E.  PRZESTROGA: Kontrole dla tego testu zawierają ludzkie osocze. Osocze jest ujemne w kierunku antygeny powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), przeciwciał HCV, przeciwciał HIV-1 i HIV-2 oraz antygeny HIV podczas testowania zgodnie z procedurami zatwierdzonymi przez US Food and Drug Administration. Ponadto, osocze jest niereaktywne dla RNA wirusa HCV i RNA wirusa HIV-1 podczas testowania licencjonowanymi testami kwasów nukleinowych z wykorzystaniem pul próbek. Wszystkie materiały pochodzące z krwi ludzkiej powinny być uważane za potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane z zastosowaniem uniwersalnych środków ostrożności (33-35).
- F. Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HIV-1 Quant Dx oraz postępowania z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować zgodnie z odpowiednimi procedurami w miejscu pracy.

- G. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- H. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpydrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- I. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).
- J. Wszelkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami należy usuwać zgodnie z przepisami regionalnymi (33–36). Dokładnie oczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.
- K. Kontrole zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie należy używać metalowych przewodów rurowych do przenoszenia odczynników. Jeżeli roztwory zawierające związki azydku sodu są usuwane do instalacji wodociągowej, należy je rozcieńczyć i spłukać dużą ilością bieżącej wody. Te środki ostrożności są zalecane w celu uniknięcia gromadzenia się osadów w metalowych przewodach rurowych, w których mogłyby powstać warunki wybuchowe.
- L. Dobre standardowe praktyki dla laboratoriów molekularnych obejmują monitorowanie środowiska. Aby monitorować środowisko laboratorium, sugeruje się następującą procedurę.
  - 1. Przygotować wymazówkę z końcówką bawełnianą i dołączyć do próbki do porcjowania próbek Aptima® (SAT).
  - 2. Odpowiednio oznakować każdą próbkę SAT.
  - 3. Napełnić każdą próbkę SAT 1 ml rozcieńczalnika do próbek Aptima®.
  - 4. Aby pobrać próbki powierzchniowe, należy lekko zwilżyć wymazówkę wolną od nukleaz dejonizowaną wodą.
  - 5. Wymazać wybraną powierzchnię, wykonując pionowe ruchy z góry na dół. Obrócić wymazówkę o około pół obrotu podczas wymazywania miejsca.
  - 6. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w próbce i delikatnie odwirować wymazówkę w rozcieńczalniku w celu wyodrębnienia potencjalnych materiałów wymazowych. Przycisnąć wymazówkę do boku próbki transportowej, aby wydobyć jak najwięcej płynu. Wyrzucić wymazówkę i zakręcić próbkę.
  - 7. Powtórzyć czynności dla pozostałych próbek wymazu.
  - 8. Zbadać wymaz przy pomocy testu molekularnego.

### Kwestie dotyczące próbek

- M. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności (33-35). Właściwą pracę oraz metody usuwania należy określić na podstawie lokalnych przepisów (36). Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HIV-1 Quant Dx oraz w zakresie pracy z materiałami zakaźnymi.
- N. Podczas transportu próbek należy utrzymywać właściwe warunki przechowywania, aby zapewnić integralność próbek. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.

- O. Nie dopuszczać do zanieczyszczenia krzyżowego podczas etapów pracy z próbkami. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć skażenia poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie odkręcania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Dopilnować, aby pojemniki na preparaty nie dotykały się wzajemnie ze sobą i wyrzucać zużyte materiały tak, aby nie przenosić ich nad otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

### Kwestie dotyczące testu

- P. Wyniki ilościowe testu Aptima HIV-1 Quant Dx zostały ocenione na podstawie osocza. Surowicy nie można używać do uzyskiwania wyników ilościowych. Wyniki jakościowe zostały ocenione zarówno dla osocza, jak i dla surowicy. Używanie tego zestawu testów z próbkami innymi niż te zatwierdzone do używania z tym zestawem testowym może być przyczyną nieprecyzyjnych wyników testu.
- Q. Test Aptima HIV-1 Quant Dx został zweryfikowany klinicznie za pomocą algorytmu oprogramowania Panther System. Oprogramowanie Panther System wyświetla zweryfikowany wynik na ekranie Results i w raporcie Results (Wyniki).
- R. Nie używać zestawu odczynników, kalibratora lub kontroli po upływie ich terminu ważności.
- S. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach partii głównej. Płyny do testu mogą pochodzić z partii o różnych numerach. Kontrole i kalibrator mogą pochodzić z partii o różnych numerach.
- T. Unikać skażenia odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- U. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku zastosowania odczynników analitycznych przechowywanych w niewłaściwych warunkach charakterystyka testu może być zmieniona. Aby uzyskać więcej informacji, patrz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi i Materiały opcjonalne*.
- V. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.
- W. Niektóre odczynniki w tym zestawie są opatrzone informacjami o zagrożeniach.

**Uwaga:** Stosowane informacje dotyczące zagrożeń odzwierciedlają klasyfikacje z kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheet, SDS) obowiązujących w UE. Informacje dotyczące zagrożeń właściwe dla konkretnego regionu zawarto w kartach SDS dla poszczególnych regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com). Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

| Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE |                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| —                                              | <b>Amplification Reagent</b><br><b>Magnesium Chloride 60–65%</b><br><br>—<br>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br>P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br>P501 — Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów. |

|                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| —                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p><b>Enzyme Reagent</b><br/> <b>HEPES 1–5%</b><br/> <b>Triton X-100 1–5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br/> P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br/> P501 — Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| —                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p><b>Enzyme Reconstitution Solution</b><br/> <b>Glicerol 20–25%</b><br/> <b>Triton X-100 5–10%</b><br/> <b>HEPES 1–5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br/> P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br/> P501 — Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| —                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p><b>Promoter Reagent</b><br/> <b>Magnesium Chloride 60–65%</b></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br/> P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br/> P501 — Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| —                                                                                                                                                                                                                                                                         | <p><b>Target Capture Reagent</b><br/> <b>HEPES 15–20%</b><br/> <b>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</b><br/> <b>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%</b><br/> <b>Succinic Acid 1–5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br/> P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br/> P501 — Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <br><br><br><br> | <p><b>HIV VL Kit Controls</b><br/> <b>Surowica ludzka / osocze ludzkie 95–100%</b><br/> <b>Azydek sodu &lt;1%</b></p> <p><b>NIEBEZPIECZEŃSTWO</b><br/> H300 — Połknięcie grozi śmiercią.<br/> H410 — Działa bardzo toksycznie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br/> P264 — Dokładnie umyć twarz, ręce i wszelkie narażone powierzchnie skóry po użyciu.<br/> P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br/> P301 + P310 — W PRZYPADKU POŁKNIECIA: Natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub z lekarzem.<br/> P321 — Zastosować określone leczenie (patrz dodatkowa instrukcja w zakresie pierwszej pomocy na etykiecie).<br/> P330 — Wypłukać usta.<br/> P391 — Zebrać wyciek.</p> |

|   |                                                                                                                                                                                                         |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| — | <b>HIV VL Kit Calibrators</b><br><b>HEPES 15–20%</b><br><b>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</b><br><b>Lithium Hydroxide Monohydrate 1–5%</b><br><b>Succinic Acid 1–5%</b>                              |
| — | H412 — Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.<br>P273 — Unikać uwolnienia do środowiska.<br>P501 — Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów. |

## Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

- A. W poniższej tabeli przedstawiono warunki przechowywania i stabilność odczynników, kontroli i kalibratora.

| Odczynnik                                                 | Przechowywanie nieotwartych odczynników | Zestaw po otwarciu (po przygotowaniu odczynników) |                                                        |
|-----------------------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
|                                                           |                                         | Przechowywanie                                    | Stabilność                                             |
| Odczynnik amplifikacji qHIV-1                             | 2°C do 8°C                              |                                                   |                                                        |
| Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHIV-1   | 2°C do 8°C                              | 2°C do 8°C                                        | 30 dni <sup>a</sup>                                    |
| Odczynnik enzymatyczny qHIV-1                             | 2°C do 8°C                              |                                                   |                                                        |
| Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qHIV-1 | 2°C do 8°C                              | 2°C do 8°C                                        | 30 dni <sup>a</sup>                                    |
| Odczynnik promotora qHIV-1                                | 2°C do 8°C                              |                                                   |                                                        |
| Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHIV-1      | 2°C do 8°C                              | 2°C do 8°C                                        | 30 dni <sup>a</sup>                                    |
| Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHIV-1    | 2°C do 8°C                              | 2°C do 8°C                                        | 30 dni <sup>a</sup>                                    |
| KONTROLA NC – (Kontrola ujemna) qHIV-1                    | -15°C do -35°C                          | 15°C do 30°C                                      | Fiolka jednorazowego użytku<br>Zużyć w ciągu 20 godzin |
| KONTROLA LPC + (Kontrola niskododatnia) qHIV-1            | -15°C do -35°C                          | 15°C do 30°C                                      | Fiolka jednorazowego użytku<br>Zużyć w ciągu 20 godzin |
| KONTROLA HPC + (Kontrola wysokodatnia) qHIV-1             | -15°C do -35°C                          | 15°C do 30°C                                      | Fiolka jednorazowego użytku<br>Zużyć w ciągu 20 godzin |
| PCAL (Kalibrator dodatni) qHIV-1                          | -15°C do -35°C                          | 15°C do 30°C                                      | Fiolka jednorazowego użytku<br>Zużyć w ciągu 20 godzin |

<sup>a</sup> Po wyjęciu odczynników z systemu Panther System należy je niezwłocznie przenieść do miejsca o odpowiedniej temperaturze przechowywania.

- B. Wyrzucić pozostałości odczynników po przygotowaniu, których nie wykorzystano, oraz odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych (TCR) po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.

- C. Odczynniki przechowywane w aparacie Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 72 godziny. Odczynniki można ładować do systemu Panther System do 8 razy. Panther System rejestruje każde załadowanie odczynników.
- D. Po rozmrożeniu kalibratora roztwór musi być klarowny, tzn. nie może być mętny ani nie mogą się w nim wytrącać osady.
- E.  Odczynnik promotora i przygotowany odczynnik promotora są wrażliwe na światło. Te odczynniki należy chronić przed światłem w trakcie przechowywania i przygotowania do stosowania.

## Pobieranie i przechowywanie próbek

**Uwaga:** Z wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jak gdyby zawierały czynniki potencjalnie zakaźne. Przestrzegać uniwersalnych środków ostrożności.

**Uwaga:** Należy dopilnować, aby w czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Należy na przykład wyrzucać zużyty materiał bez przemieszczania go nad otwartymi próbkami.

**Uwaga:** Do przechowywania zalecane są wyłącznie plastikowe próbki dodatkowe.

Można użyć próbek krwi pełnej zebranych w poniższych szklanych lub plastikowych próbkach:

Dla pomiarów ilościowych:

- Probówki zawierające antykoagulanty EDTA lub ACD (Acid Citrate Dextrose) lub
- Probówki do przygotowania osocza (Plasma Preparation Tubes, PPT).

Do oznaczeń jakościowych:

- Probówki zawierające antykoagulanty EDTA lub ACD, lub
- PPT, lub
- Probówki z surowicą, lub
- Probówki do separacji surowicy (Serum Separator Tubes, SST).

W przypadku surowicy, należy pozwolić na utworzenie się skrzepu przed dalszą obróbką.

### A. Pobieranie próbek

Krew pełna może być przechowywana w temperaturze od 2°C do 30°C i musi być odwirowana w ciągu 24 godzin od pobrania próbki. Oddzielić osocze lub surowicę od granulowanych krwinek czerwonych, postępując zgodnie z instrukcjami producenta używanej próbki. Osocze lub surowica mogą być badane w Panther System w próbce pierwotnej lub przeniesione do próbki dodatkowej. Aby uzyskać objętość reakcji 500 µl, minimalna objętość osocza lub surowicy w pierwotnych próbkach do pobierania próbek wynosi do 1200 µl, a w przypadku próbek dodatkowych minimalna objętość wynosi 700 µl. W poniższej tabeli określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu próbki pierwotnej i dodatkowej:

| Probówka (rozmiar i typ)                    | Objętość martwa w systemie Panther System |
|---------------------------------------------|-------------------------------------------|
| Probówka do porcjowania próbek Aptima (SAT) | 0,2 ml                                    |
| 12x75 mm                                    | 0,5 ml                                    |
| 13x100 mm                                   | 0,5 ml                                    |
| 13x100 mm z żelem                           | 0,3 ml                                    |
| 16x100 mm z żelem                           | 0,7 ml                                    |

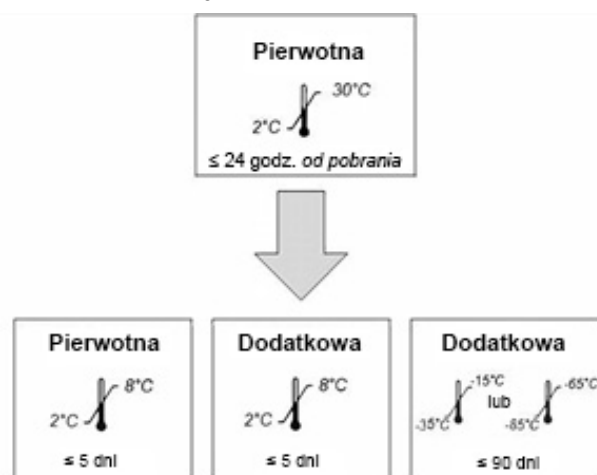
Jeżeli nie są testowane natychmiast, osocze lub surowica mogą być przechowywane zgodnie z poniższymi specyfikacjami. W przypadku przeniesienia do dodatkowej próbki osocze może zostać zamrożone w temperaturze -20°C lub -70°C, a surowica w temperaturze -20°C. Nie wolno przekraczać tych cykli zamrażania i rozmrażania, ponieważ może to wpłynąć na wynik. Nie zamrażać próbek w roztworach EDTA, ACD lub w pierwotnych próbkach do pobierania surowicy.

## B. Warunki przechowywania próbek

## 1. Próbkę osocza w EDTA i ACD

Przez okres do 24 godzin po pobraniu próbki, próbówki zawierające odwirowane osocze mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C (Rysunek 1, górna ramka). Po 24 godzinach osocze można przechowywać przez dłuższy okres w jednym z następujących warunków (Rysunek 1, dolne ramki):

- w pierwotnej próbówce do pobierania w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 3 dni,
- w próbówce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- w próbówce dodatkowej w temperaturze -20°C lub -70°C do 90 dni.

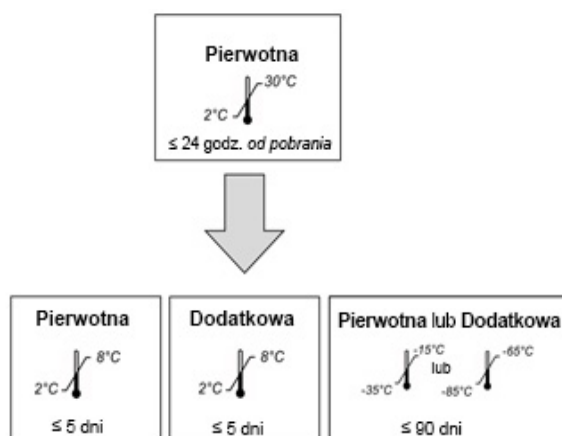


**Rysunek 1. Warunki przechowywania próbek z EDTA/ACD**

## 2. Próbkę w probówkach PPT

Przez okres do 24 godzin po pobraniu próbki, próbówki PPT zawierające odwirowane osocze mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C (Rysunek 2, górna ramka). Po 24 godzinach osocze można przechowywać przez dłuższy okres w jednym z następujących warunków (Rysunek 2, dolne ramki):

- w próbówce PPT w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 3 dni,
- w próbówce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- w próbówce PPT lub dodatkowej w temperaturze -20°C lub -70°C do 90 dni.

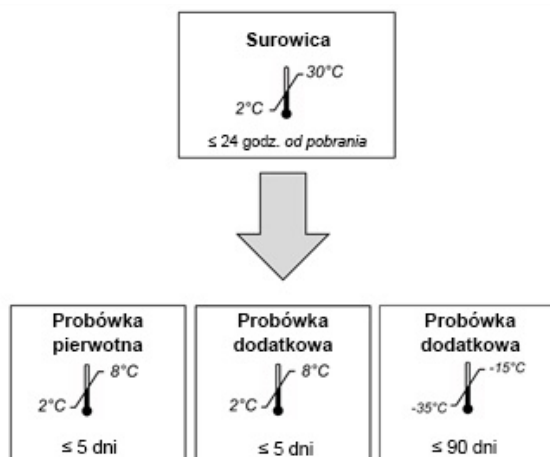


**Rysunek 2. Warunki przechowywania próbek PPT**

### 3. Próbkę w probówkach z surowicą

Przez okres do 24 godzin po pobraniu próbki, probówki zawierające odwirowaną surowicę mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C (Rysunek 3, górna ramka). Po 24 godzinach surowicę można przechowywać przez dłuższy okres w jednym z następujących warunków (Rysunek 3, dolne ramki):

- w probówce do surowicy w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- w probówce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- w probówce dodatkowej w temperaturze -20°C do 90 dni.

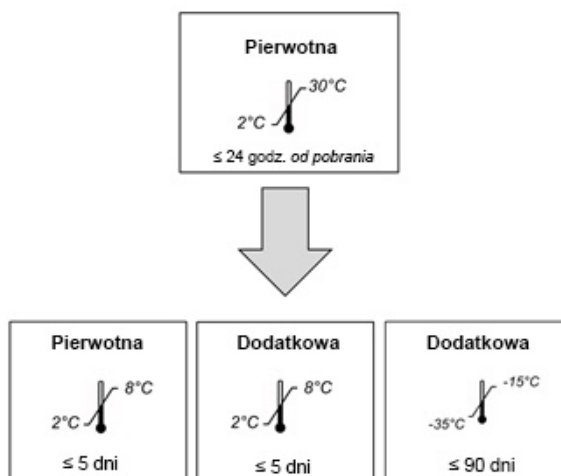


**Rysunek 3. Warunki przechowywania probówek z surowicą**

### 4. Próbkę w probówkach SST

Przez okres do 24 godzin po pobraniu próbki, probówki SST zawierające odwirowaną surowicę mogą być przechowywane w temperaturze od 2°C do 30°C (Rysunek 4, górna ramka). Po 24 godzinach surowicę można przechowywać przez dłuższy okres w jednym z następujących warunków (Rysunek 4, dolne ramki):

- w probówce SST w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- w probówce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- w probówce dodatkowej w temperaturze -20°C do 90 dni.



**Rysunek 4. Warunki przechowywania probówek SST**

### C. Rozcieńczanie próbek osocza

**Uwaga:** *Próbka osocza może zostać rozcieńczona w probówce SAT lub dodatkowej w celu wykonania testu w systemie Panther System. Zobacz Procedura testu w systemie Panther System, etap E.4, aby uzyskać więcej informacji.*

**Uwaga:** *Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, powinna być badana natychmiast po rozcieńczeniu. Nie należy zamrażać rozcieńczonej próbki.*



**Uwaga:** *Rozcieńczenie próbek osocza może być stosowane tylko do wyników ilościowych. Nie należy rozcieńczać próbek osocza w celu uzyskania wyników diagnostycznych.*

## Próbki w systemie Panther System

Próbki można pozostawiać w Panther System bez zamknięcia na okres do maks. 8 godzin. Próbki można wyjąć z Panther System i poddać badaniu, o ile całkowity czas przebywania w systemie nie przekracza 8 godzin przed pipetowaniem próbki przez Panther System.

## Transport próbek

Zachować warunki przechowywania próbek zgodnie z opisem w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek*.

**Uwaga:** *Próbki należy transportować zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami dotyczącymi transportu.*

## Panther System

Odczynniki przeznaczone do testu Aptima HIV-1 Quant Dx wymieniono poniżej dla aparatu Panther System. Obok nazwy odczynnika wymieniono także symbole identyfikujące odczynniki.

### Dostarczone odczynniki i materiały

#### Zestaw testu Aptima HIV-1 Quant Dx

100 testów (1 zestaw testów, 1 zestaw kalibratorów i 1 zestaw kontroli) (nr kat. PRD-03000)

Dodatkowe kalibratory i kontrole można zamawiać oddzielnie. Patrz odpowiednie numery katalogowe poniżej.

#### Zestaw testu Aptima HIV-1 Quant Dx

(po odbiorze przechowywać w temperaturze od 2°C do 8°C)

| Symbol      | Element                                                                                                                                                                                     | Ilość       |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| <b>A</b>    | <b>Odczynnik amplifikacji qHIV-1</b><br><i>Niezakażne kwasy nukleinowe w formie wysuszonej, w roztworze buforowanym.</i>                                                                    | 1 fiolka    |
| <b>E</b>    | <b>Odczynnik enzymatyczny qHIV-1</b><br><i>Odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w formie wysuszonej, w roztworze buforowanym HEPES.</i>                                                  | 1 fiolka    |
| <b>PRO</b>  | <b>Odczynnik promotora qHIV-1</b><br><i>Niezakażne kwasy nukleinowe w formie wysuszonej, w roztworze buforowanym.</i>                                                                       | 1 fiolka    |
| <b>AR</b>   | <b>Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHIV-1</b><br><i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>                                                          | 1 x 7,2 ml  |
| <b>ER</b>   | <b>Roztwór do przygotowania odczynnika enzymatycznego qHIV-1</b><br><i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>                                    | 1 x 5,8 ml  |
| <b>PROR</b> | <b>Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHIV-1</b><br><i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>                                                             | 1 x 4,5 ml  |
| <b>TCR</b>  | <b>Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHIV-1</b><br><i>Kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze soli z fazą stałą, niezakażne kwasy nukleinowe oraz kalibrator wewnętrzny.</i> | 1 x 72,0 ml |
|             | <b>Kołnierze do przygotowania odczynników</b>                                                                                                                                               | 3           |
|             | <b>Karta z kodami kreskowymi partii głównej</b>                                                                                                                                             | 1 karta     |

**Zestaw kalibratorów Aptima HIV-1 Quant Dx (nr kat. PRD-03001)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

| Symbol | Element                                                                        | Ilość      |
|--------|--------------------------------------------------------------------------------|------------|
| PCAL   | <b>Kalibrator dodatni qHIV-1</b><br><i>Transkrypt w roztworze buforowanym.</i> | 5 x 2,5 ml |
|        | <b>Etykieta z kodem kreskowym kalibratora</b>                                  | —          |

**Zestaw kontroli Aptima HIV-1 Quant Dx (nr kat. PRD-03002)**  
(po odbiorze przechowywać w temperaturze od -15°C do -35°C)

| Symbol | Element                                                                                                                                                                                                                            | Ilość      |
|--------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| NC     | <b>Kontrola ujemna qHIV-1</b><br><i>HIV-1-ujemne defibrynowane osocze ludzkie zawierające gentamycynę i azydek sodu w stężeniu 0,2% jako środki konserwujące.</i>                                                                  | 5 x 1,5 ml |
| LPC    | <b>Kontrola niskododatnia qHIV-1</b><br><i>Niezakaźna kontrola wewnętrzna Armored RNA pod kątem wirusa HIV-1 w defibrynowanym osoczu ludzkim zawierającym gentamycynę i azydek sodu w stężeniu 0,2% jako środki konserwujące.</i>  | 5 x 1,5 ml |
| HPC    | <b>Kontrola wysokododatnia qHIV-1</b><br><i>Niezakaźna kontrola wewnętrzna Armored RNA pod kątem wirusa HIV-1 w defibrynowanym osoczu ludzkim zawierającym gentamycynę i azydek sodu w stężeniu 0,2% jako środki konserwujące.</i> | 5 x 1,5 ml |
|        | <b>Etykieta z kodem kreskowym kontroli</b>                                                                                                                                                                                         | —          |

## Materiały wymagane, ale dostępne osobno

**Uwaga:** Materiały o podanych numerach katalogowych są dostępne w firmie Hologic, o ile nie określono inaczej.

| Materiał                                                                                                                                                                                                                                                                | Nr kat.                                            |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Panther System                                                                                                                                                                                                                                                          | 303095                                             |
| System Panther Fusion System                                                                                                                                                                                                                                            | PRD-04172                                          |
| System Panther System Continuous Fluids and Waste (Panther Plus)                                                                                                                                                                                                        | PRD-06067                                          |
| Zestaw kalibratorów Aptima® HIV-1 Quant Dx                                                                                                                                                                                                                              | PRD-03001                                          |
| Zestaw kontroli Aptima® HIV-1 Quant Dx                                                                                                                                                                                                                                  | PRD-03002                                          |
| Zestaw wstępny do aparatu Panther™ do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)                                                                                                                                                              | PRD-03455 (5000 testów)                            |
| Zestaw płynów do testu Aptima® (znany także jako zestaw uniwersalnych płynów) zawiera roztwór do płukania Aptima®, bufor do płynu dezaktywującego Aptima® oraz odczynnik olejowy Aptima®                                                                                | 303014 (1000 testów)                               |
| Zestawy wieloprobówkowe (MTU)                                                                                                                                                                                                                                           | 104772-02                                          |
| Zestaw torby na odpady Panther™                                                                                                                                                                                                                                         | 902731                                             |
| Oslona pojemnika na odpady Panther™                                                                                                                                                                                                                                     | 504405                                             |
| Albo zestaw wstępny do systemu Panther™ System (w przypadku wykonywania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równolegle z testami TMA w czasie rzeczywistym) zawiera zestawy MTU, worki na odpady, pokrywy pojemników na odpady, odczynniki Auto Detect i płyny testowe | 303096 (5000 testów)                               |
| Końcówki, 1000 µl, z filtrami, przewodzące, z detekcją cieczy, materiał jednorazowego użytku                                                                                                                                                                            | 901121 (10612513 Tecan)<br>903031 (10612513 Tecan) |
| Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem                                                                        | MME-04134 (30180117 Tecan)<br>MME-04128            |
| Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)                                                                                                                                                                                      | —                                                  |
| Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe                                                                                                                                                                                                                                      | —                                                  |
| Zakrętki zamienne na odczynniki                                                                                                                                                                                                                                         |                                                    |
| Butelki do przygotowania odczynników do amplifikacji, enzymatycznego i promotora                                                                                                                                                                                        | CL0041 (100 zakrętek)                              |
| Butelka z odczynnikiem TCR                                                                                                                                                                                                                                              | CL0040 (100 zakrętek)                              |
| Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego                                                                                                                                                                                                                      | —                                                  |
| Niestrzepiące się ściereczki                                                                                                                                                                                                                                            | —                                                  |
| Pipetor                                                                                                                                                                                                                                                                 | —                                                  |
| Końcówki                                                                                                                                                                                                                                                                | —                                                  |
| Pierwotne probówki do pobierania próbek (EDTA, ACD, PPT, SST, Surowica) w opcjach:                                                                                                                                                                                      | —                                                  |
| 13 mm x 100 mm                                                                                                                                                                                                                                                          | —                                                  |
| 13 mm x 75 mm                                                                                                                                                                                                                                                           | —                                                  |
| 16 mm x 100 mm                                                                                                                                                                                                                                                          | —                                                  |

| Material    | Nr kat. |
|-------------|---------|
| Wirówka     | —       |
| Wstrząsarka | —       |

## Materialy opcjonalne

| Material                                                                                                                                                                                                                                                               | Nr kat.   |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Probówki dodatkowe w opcjach:                                                                                                                                                                                                                                          |           |
| 12 mm x 75 mm                                                                                                                                                                                                                                                          | —         |
| 13 mm x 100 mm                                                                                                                                                                                                                                                         | —         |
| 16 mm x 100 mm                                                                                                                                                                                                                                                         | —         |
| Probówki do porcjowania próbek Aptima (SAT) (opakowanie 100 szt.)                                                                                                                                                                                                      | FAB-18184 |
| Zakrętki probówek transportowych (opakowanie 100 szt.)<br><i>zakrętki do probówek SAT</i>                                                                                                                                                                              | 504415    |
| Rozcieńczalnik do próbek Aptima                                                                                                                                                                                                                                        | PRD-03003 |
| Zestaw rozcieńczalnika do próbek Aptima<br><i>zawiera rozcieńczalnik do próbek, 100 probówek SAT i 100 zakrętek</i>                                                                                                                                                    | PRD-03478 |
| Pipety transportowe                                                                                                                                                                                                                                                    | —         |
| Dostępne komercyjnie panele, na przykład:<br><i>panel HIV-1 uzyskany z organizacji Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) lub panel do badania miana wirusa HIV organizacji College of American Pathologists (CAP) lub panele HIV ACCURUN firmy SeraCare</i> | —         |
| Wymazówki z bawełnianą końcówką                                                                                                                                                                                                                                        | —         |
| Kołyska do probówek                                                                                                                                                                                                                                                    | PRD-03488 |

## Procedura testu w systemie Panther System

**Uwaga:** Dodatkowe informacje o procedurze znajdują się w Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System.

### A. Przygotowanie obszaru roboczego

1. Oczyszczyć powierzchnie robocze, na których będą przygotowywane odczynniki. Przetrzeć powierzchnie robocze roztworem podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M). Roztwór podchlorynu sodu powinien mieć kontakt z powierzchniami przez co najmniej 1 minutę, a następnie należy je spłukać wodą dejonizowaną (DI). Nie wolno dopuszczać do wyschnięcia roztworu podchlorynu sodu. Zakryć powierzchnię roboczą, na której będą przygotowywane odczynniki i próbki, czystymi, wzmocnionymi plastikiem, chłonnymi osłonami stołu laboratoryjnego.
2. Oczyszczyć odrębną powierzchnię roboczą jako miejsce do przygotowania próbek. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).
3. Wyczyścić wszystkie pipety. Postępować zgodnie z procedurą opisaną powyżej (etap A.1).

## B. Przygotowanie kalibratora i kontroli

Przed przystąpieniem do przetwarzania kalibrator i kontrole powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C w sposób opisany poniżej:

1. Wyjąć kalibrator i kontrole z miejsca przechowywania (-15°C do -35°C) i umieścić w temperaturze 15°C do 30°C. Podczas całego procesu rozmrażania delikatnie odwracać każdą probówkę, aby dokładnie wymieszać próbki. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

**Opcja.** Probówki z kalibratorami i kontrolami można umieścić na kołysce do probówek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

**Uwaga:** *Unikać nadmiernego spieniania podczas odwracania kalibratora i kontroli. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez system Panther System.*

2. Po rozmrożeniu zawartości probówki osuszyć jej zewnętrzną część czystą, suchą ściereczką jednorazowego użytku.
3. Aby zapobiec skażeniu, nie należy w tym momencie otwierać probówek.

## C. Przygotowanie odczynników / nowego zestawu

**Uwaga:** *Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem pracy w systemie Panther System.*

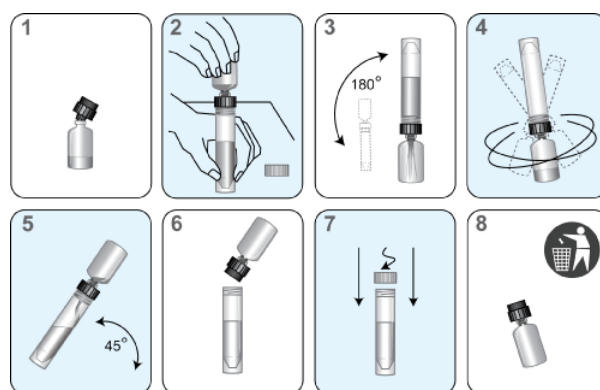
1. Aby przygotować odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCR), należy wykonać poniższe czynności:
  - a. Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Sprawdzić numer partii na butelce z TCR, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
  - b. Natychmiast 10 razy energicznie wstrząsnąć butelką TCR. Pozostawić butelkę TCR w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut. W tym czasie należy odwirować i odwrócić butelkę TCR co najmniej co 10 minut.

**Opcja.** Butelkę TCR można przygotować na wytrząsarce probówek, postępując zgodnie z poniższymi instrukcjami: Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C) oraz natychmiast energicznie wstrząsnąć 10 razy. Umieścić butelkę TCR na wytrząsarce probówek i pozostawić TCR w temperaturze 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 45 minut.

- c. Przed użyciem należy upewnić się, że cały osad znajduje się w roztworze, a cząstki magnetyczne są zawieszone.
2. W celu odtworzenia odczynników amplifikacji, enzymatycznych i promotorów należy wykonać następujące czynności:
    - a. Wyjąć liofilizowane odczynniki i odpowiednie roztwory do przygotowania z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika.
    - b. Upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi serii (partii) głównych, aby upewnić się, że sparowano odpowiednie odczynniki.
      - i. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem, zdejmując metalową uszczelkę i gumowy korek.

- ii. Mocno włożyć karbowany koniec kołnierza do przygotowania odczynników (czarnego) na fiolkę (Rysunek 5, etap 1).
- iii. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
- iv. Umieścić butelkę z roztworem do przygotowania na stabilnej powierzchni (np. na stole). Następnie odwrócić fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem nad butelką z roztworem do przygotowania i mocno przymocować kołnierz do butelki z roztworem do przygotowania (Rysunek 5, etap 2).
- v. Powoli odwrócić połączone butelki (fiolka dołączona do butelki z roztworem), aby umożliwić spływanie roztworu do szklanej fiolki (Rysunek 5, etap 3).
- vi. Podnieść połączone butelki i odwirować je przez co najmniej 10 sekund (Rysunek 5, etap 4).
- vii. Odczekać co najmniej 30 minut, aby liofilizowany odczynnik przeszedł do roztworu.
- viii. Po przejściu liofilizowanego odczynnika do roztworu odwirować połączone butelki przez co najmniej 10 sekund, a następnie lekko wstrząsać roztworem w szklanej fiolce w przód i w tył w celu dokładnego wymieszania.
- c. Ponownie powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników (Rysunek 5, etap 5).
- d. Ostrożnie zdjąć kołnierz do przygotowywania i szklaną fiolkę (Rysunek 5, etap 6).
- e. Nałożyć zakrętkę na butelkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 5, etap 7).
- f. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiolkę (Rysunek 5, etap 8).

**Ostrzeżenie:** *Unikać nadmiernego spieniania podczas przygotowywania odczynników. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez system Panther System.*



**Rysunek 5. Proces przygotowania odczynników**

**D. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej**

1. Wyjąć wcześniej przygotowane odczynniki z miejsca przechowywania (2°C do 8°C).
2. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczny, promotor i TCR muszą osiągnąć temperaturę pokojową od 15°C do 30°C.
3. W przypadku wcześniej przygotowanego TCR, przed załadowaniem do systemu należy wykonać etap C.1 powyżej.

4. Odwirować i odwrócić odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i promotora, aby dokładnie wymieszać przed załadowaniem do systemu. Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania odczynników.

**Opcja:** Wcześniej przygotowane odczynniki można przygotować na kołysce do probówek, postępując zgodnie z następującymi instrukcjami: Wyjąć odczynniki z miejsca przechowywania (od 2°C do 8°C). Umieścić odczynniki na kołysce do probówek i pozostawić w temperaturze od 15°C do 30°C do ogrzania przez co najmniej 30 minut.

5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

#### E. Obchodzenie się z próbkami

1. Należy upewnić się, że przetworzone próbki w probówkach pierwotnych lub nierozcieńczone próbki w probówkach dodatkowych były odpowiednio przechowywane, zgodnie z *Pobieranie i przechowywanie próbek*.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Rozmrożone próbki należy wytrząsać przez 3 do 5 sekund w celu dokładnego wymieszania.
3. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu znajdują się w *Próbki w systemie Panther System*.
4. Należy upewnić się, że każda pierwotna probówka do pobierania próbek zawiera do 1200 µl próbki lub każdy SAT zawiera co najmniej 700 µl próbki. W tabeli znajdującej się w sekcji *Pobieranie i przechowywanie próbek* określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki pierwotnej i dodatkowej. Jeśli konieczne jest rozcieńczenie próbki, patrz etap E.5 poniżej, aby uzyskać więcej informacji.
5. Rozcieńczyć próbkę osocza w stosunku 1:3 w SAT lub 1:100 w probówce dodatkowej. Próbka osocza może zostać rozcieńczona w probówce dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System.



**Uwaga:** Rozcieńczenie próbek osocza może być stosowane tylko do wyników ilościowych. Nie należy rozcieńczać próbek osocza w celu uzyskania wyników diagnostycznych.

**Uwaga:** Jeżeli próbka zostanie rozcieńczona, musi zostać zbadana natychmiast po rozcieńczeniu.

##### a. Rozcieńczanie próbek o małej objętości

Objętość próbek osocza może być zwiększona do minimalnej wymaganej objętości (700 µl) przy użyciu rozcieńczalnika do próbek Aptima. Próbki zawierające co najmniej 240 µl osocza można rozcieńczyć w dwóch częściach rozcieńczalnika do próbek (1:3) w następujący sposób:

- i. Umieścić 240 µl próbki w SAT.
- ii. Dodać 480 µl rozcieńczalnika do próbek Aptima.
- iii. Zakręcić probówkę.
- iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

Próbki rozcieńczone w stosunku 1:3 mogą być badane przy użyciu opcji 1:3 w systemie Panther System (więcej informacji na ten temat znajduje się w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

b. Rozcieńczanie próbek o wysokim mianie

Jeżeli wynik próbki jest powyżej górnej granicy oznaczalności, można ją rozcieńczyć 99 częściami rozcieńczalnika do próbek Aptima (1:100) w następujący sposób:

- i. Umieścić 30 µl próbki w SAT lub w probówce dodatkowej.
- ii. Dodać 2970 µl rozcieńczalnika do próbek Aptima.
- iii. Zakręcić probówkę.
- iv. Delikatnie odwrócić 5 razy, aby wymieszać.

Próbki rozcieńczone w stosunku 1:100 mogą być badane przy użyciu opcji 1:100 w systemie Panther System (więcej informacji na ten temat znajduje się w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System*). Oprogramowanie automatycznie poda dokładny wynik po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia. Próbki te zostaną oznaczone jako próbki rozcieńczone.

**Uwaga:** W przypadku rozcieńczonych próbek o stężeniach czystych większych niż ULoQ, wyniki będą podawane w notacji naukowej.

6. Tuż przed umieszczeniem próbek w statywie na próbki odwirować każdą próbkę przy 1000–3000 g przez 10 minut. Nie zdejmować zakrętek. Pęcherzyki powietrza w probówce mogą wpłynąć negatywnie na wykrywanie poziomu przez Panther System.

Zobacz sekcję *Przygotowanie systemu*, etap F.2 poniżej, aby uzyskać informacje dotyczące ładowania statywu i zdjęcia zakrętek.

F. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z wytycznymi w *Instrukcji obsługi systemu Panther/Panther Fusion System* i sekcji *Uwagi dotyczące procedury*. Upewnić się, że stosowane są statywy na odczynniki i adaptory TCR o odpowiedniej wielkości.
2. Załadowanie próbek do statywów na próbki. Wykonać następujące czynności dla każdej probówki na próbki (próbka oraz, jeśli to konieczne, kalibrator i kontrole):

- a. Poluzować jedną zakrętkę probówki na próbki, ale jeszcze jej nie zdejmować.

**Uwaga:** Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć skażenia poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu. Delikatnie poluzować zakrętki na probówkach z próbkami.

- b. Załadować probówki na próbki do statywów na próbki.
- c. Powtórzyć etapy a i b dla każdej pozostałej próbki.
- d. Po załadowaniu próbek do statywu na próbki, zdjąć i wyrzucić każdą zakrętkę probówki na próbki z jednego statywu na próbki. Aby uniknąć skażenia, nie przenosić zakrętki nad innymi statywami na próbki lub probówkami na próbki.
- e. W razie potrzeby użyć nowej, jednorazowej pipety do usuwania pęcherzyków powietrza lub piany.
- f. Po zdjęciu ostatniej zakrętki, załadować statyw z próbkami do wnęki na próbki.

**Uwaga:** Jeśli jednocześnie przetwarzane są inne testy i typy próbek, należy zabezpieczyć mocowniki próbek przed załadowaniem statywu na próbki do wnęki na próbki.

- g. Powtórzyć kroki od a do f dla kolejnego statywu na próbki.

## Uwagi dotyczące procedury

### A. Kalibrator i kontrole

1. Probówki z kalibratorem dodatnim qHIV-1, kontrolą niskododatnią qHIV-1, kontrolą wysokododatnią qHIV-1 i kontrolą ujemną qHIV-1 można umieścić na dowolnej pozycji w statywie na próbki i w dowolnym torze wnęki na próbki w Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
  - a. Kalibrator i kontrole są w trakcie przetwarzania przez system.
  - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kalibratora i kontroli.
2. Po pipetowaniu kalibratora i probówek kontrolnych oraz obróbce pod kątem zestawu odczynników analitycznych Aptima HIV-1 Quant Dx próbki można badać przy użyciu powiązanego, przygotowanego zestawu w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**
  - a. Wyniki kalibratora lub kontroli są nieważne.
  - b. Powiązany zestaw odczynników analitycznych zostaje usunięty z systemu.
  - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
3. Kalibrator i każda probówka kontrolna mogą być użyte tylko raz. Próby użycia probówki więcej niż jeden raz mogą prowadzić do błędów przetwarzania.

### B. Puder z rękawiczek

Podobnie jak w przypadku każdego systemu odczynników nadmiar pudru na niektórych rękawiczkach może spowodować skażenie otwartych probówek. Zaleca się stosować rękawiczki bezpudrowe.

## Kontrola jakości

Operator może unieważnić wyniki serii lub próbki w przypadku zaobserwowania i udokumentowania problemów technicznych, związanych z operatorem lub aparatem w trakcie testu. W takim przypadku próbki należy ponownie przebadać.

### Kalibracja testu

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pojedynczy kalibrator dodatni jest wykonywany w trzech seriach za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalona kalibracja jest ważna przez okres do 24 godzin.

Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagana jest kalibracja. Operator skanuje współczynnik kalibracji znajdujący się na arkuszu kodów kreskowych partii głównej dostarczanych z każdym zestawem odczynników.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kalibratora są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Jeśli ważny jest wynik mniej niż dwóch replikatów kalibratora, oprogramowanie automatycznie unieważnia serię. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

### Kontrole ujemne i dodatnie

Aby wygenerować ważne wyniki, należy przetestować zestaw kontroli testu. Należy przetestować jeden replikat kontroli ujemnej, kontroli niskododatniej i kontroli wysokododatniej za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalone kontrole są ważne przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagane są kontrole.

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Aby wygenerować ważne wyniki, kontrola ujemna musi dawać wynik „Nie wykryto”, a kontrole dodatnie muszą dawać wyniki mieszczące się we wcześniej zdefiniowanych parametrach (liczba cząstek szukanych LPC  $\sim 3 \log_{10}$  kopii/ml, liczba cząstek szukanych HPC:  $\sim 5 \log_{10}$  kopii/ml). Jeśli którakolwiek z kontroli ma nieważny wynik, oprogramowanie automatycznie unieważnia serię. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

### Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna

Każda próbka zawiera wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (Internal Calibrator/Internal Control, IC). W trakcie przetwarzania kryteria akceptacji IC są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Jeżeli wynik IC jest nieważny, wynik próbki jest unieważniony. Każda próbka z nieważnym wynikiem IC musi zostać ponownie przebadana w celu uzyskania ważnego wyniku. Oprogramowanie systemu Panther System umożliwia przeprowadzenie dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w tej ulotce załączonej do opakowania oraz w *Instrukcji obsługi aparatu Panther/Panther Fusion System*.

## Interpretacja wyników

**Uwaga:** Wyniki ilościowe testu Aptima HIV-1 Quant Dx zostały ocenione na podstawie osocza. Surowicy nie można używać do uzyskiwania wyników ilościowych. Wyniki jakościowe zostały ocenione zarówno dla osocza, jak i dla surowicy.

Panther System automatycznie określa stężenie RNA wirusa HIV-1 dla próbek i kontroli poprzez porównanie wyników z krzywą kalibracyjną. Stężenia RNA wirusa HIV-1 podawane są w kopiach/ml i  $\log_{10}$  kopii/ml. Interpretację wyników przedstawia Tabela 1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx zawiera systemy amplifikacji dwóch cząstek szukanych i wykrywania, które szukają niezależnie pol i LTR. Wynik raportowany przez system będzie opierał się na systemie głównym, pol, chyba że pol nie zostanie poddany amplifikacji. W takich przypadkach system pokaże wyniki z systemu drugorzędowego, tzn. LTR.

Jeżeli dla rozcieńczonych próbek stosowane jest rozcieńczenie 1:3 lub 1:100, Panther System automatycznie oblicza stężenie HIV-1 dla czystej próbki poprzez pomnożenie rozcieńzonego stężenia przez współczynnik rozcieńczenia, a rozcieńczone próbki są oznaczane jako rozcieńczone.

**Uwaga:** W przypadku rozcieńczonych próbek wyniki oznaczone jako „Nie wykryto” lub „Wykryto <30” mogą być generowane przez rozcieńczenie próbki o stężeniu powyżej, ale blisko LoD (granicy wykrywalności) lub LLoQ (dolnej granicy oznaczalności). Zaleca się pobranie i przebadanie innej czystej próbki, jeśli nie uzyskano wyniku ilościowego.

Panther System nie dostarcza wyników jakościowych (tj. „Reaktywny” lub „Niereaktywny”) do użytku diagnostycznego. Operator musi zinterpretować zgłoszone stężenie RNA wirusa HIV-1 na wynik jakościowy (Tabela 1). Próbki z wynikami „Nie wykryto” są niereaktywne dla RNA wirusa HIV-1. Próbki z wynikami oznaczonymi jako „Wykryto <30” lub próbki z wynikami oznaczonymi w zakresie liniowym i powyżej niego wskazują, że wykryto RNA wirusa HIV-1 i te próbki są reaktywne dla RNA wirusa HIV-1.

Tabela 1: Interpretacja wyników

| Zgłaszany wynik testu Aptima HIV-1 Quant Dx |                                  | Stężenie RNA wirusa HIV-1 Interpretacja                                                | Jakościowa interpretacja diagnostyczna użytkownika <sup>c</sup> |
|---------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Kopie/ml <sup>a</sup>                       | Wartość $\log_{10}$ <sup>b</sup> |                                                                                        |                                                                 |
| Nie wykryto                                 | Nie wykryto                      | Nie wykryto RNA wirusa HIV-1.                                                          | Niereaktywne dla RNA wirusa HIV-1                               |
| Wykryto <30                                 | <1,47                            | Wykryto RNA wirusa HIV-1, ale poziom poniżej LLoQ.                                     | Reaktywne dla RNA wirusa HIV-1                                  |
| 30 do 10 000 000                            | 1,47 do 7,00                     | Stężenie RNA wirusa HIV-1 mieści się w zakresie liniowym od 30 do 10 000 000 kopii/ml. | Reaktywne dla RNA wirusa HIV-1                                  |
| >10 000 000                                 | >7,00                            | Stężenie RNA wirusa HIV-1 jest powyżej górnej granicy oznaczalności (ULoQ).            | Reaktywne dla RNA wirusa HIV-1                                  |
| Nieważny <sup>d</sup>                       | Nieważny <sup>d</sup>            | Wystąpił błąd w czasie generowania wyniku. Trzeba ponownie przetestować próbki.        | Nieważny <sup>d</sup>                                           |

<sup>a</sup> Współczynnik konwersji kopii na jednostki międzynarodowe (j.m.) dla 3. międzynarodowej próbki wzorcowej dla RNA wirusa HIV-1 (10/152) wynosi 0,35 kopii/j.m.

<sup>b</sup> Wartość jest ograniczana do dwóch miejsc po przecinku.

<sup>c</sup> Nie należy przeprowadzać interpretacji diagnostycznej na podstawie „niereaktywnych” wyników dla próbek, które zostały rozcieńczone. Należy uzyskać nową nierozcieńczoną próbkę i powtórzyć test.

<sup>d</sup> Nieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

Gdy wyniki będą dostępne na ekranie Results (Wyniki), dostęp do wartości oznaczania ilościowego dla każdej cząsteczki szukanej można uzyskać za pomocą funkcji Sample Curve Report (Raport z krzywą dla próbki) w oprogramowaniu Panther System. Aby wyświetlić krzywe wartości i amplifikacji, należy wybrać identyfikator próbki na ekranie Results (Wyniki) oprogramowania Panther System. Następnie należy wybrać przycisk „Curve Data” („Dane krzywej”). Otworzy się okno z raportem z krzywą dla próbki, który będzie zawierał profile fluorescencyjne i wartości oznaczania ilościowego dla próbki.

**Uwaga:** Dane uzyskane z raportu z krzywą dla próbki mają wyłącznie informacyjny charakter (np. do celów rozwiązywania problemów i weryfikacji krzywej). Oprogramowanie systemu Panther System wyświetla zweryfikowany wynik przeznaczony do zgłoszenia dla próbki na ekranie Results (Wyniki) i w raporcie Results (Wyniki).

**Uwaga:** Dodatkowe instrukcje dotyczące obsługi Panther/Panther Fusion System znajdują się w Instrukcji obsługi systemu Panther System).

Kryteria akceptacji dla każdej z kontroli testu Aptima HIV-1 Quant Dx są przedstawione w Tabeli 2.

**Uwaga:** Wymieniony poniżej zakres odzysku zmienia się w zależności od przypisanej wartości każdej konkretnej partii. Należy zapoznać się z przypisanymi stężeniami wymienionymi w ulotce z arkuszem kodów kreskowych kontroli dołączonej do każdego pudełka z kontrolami.

Tabela 2: Kryteria akceptacji dla zakresu odzysku dla testu Aptima HIV-1 Quant Dx

| Element                 | Zakres odzysku dla ważnych serii  |
|-------------------------|-----------------------------------|
| Kontrola ujemna         | Nd.                               |
| Kontrola niskododatnia  | +/-0,5 log <sub>10</sub> kopii/ml |
| Kontrola wysokododatnia | +/-0,5 log <sub>10</sub> kopii/ml |

## Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i obróbki.
- C. Ten test został zatwierdzony do użytku jako test ilościowy tylko z ludzkim osoczem EDTA i ACD.
- D. Ten test został zatwierdzony do użytku jako test jakościowy z ludzką surowicą i ludzkim osoczem EDTA i ACD.
- E. Choć rzadko, mutacje w wysoce konserwatywnych regionach genomu wirusowego objętych starterami i/lub sondami w teście Aptima HIV-1 Quant Dx mogą powodować zaniżenie ilości lub niewykrycie wirusa.
- F. Tego testu nie zatwierdzono do stosowania u pacjentów poddawanych terapiom opartym na wektorach lentiwirusowych, takich jak terapia komórkami CAR-T. Potencjalnie nakładające się regiony genomu wirusowego objęte starterami i/lub sondami w teście Aptima HIV-1 Quant Dx mogą powodować amplifikację wektorów lentiwirusowych wykorzystywanych w terapiach opartych na tych wektorach.

## Skuteczność analityczna

### Granica wykrywalności (LoD) przy użyciu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1

Granica wykrywalności (Limit of Detection, LoD) jest definiowana jako stężenie RNA wirusa HIV-1, które jest wykrywane z 95% lub większym prawdopodobieństwem, zgodnie z CLSI EP17-A2 (37). LoD określano za pomocą paneli testowych składających się z rozcieńczeń 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1 (podtyp B, kod NIBSC: 10/152) w surowicy i osoczu EDTA ujemnych względem wirusa HIV-1. Trzydzieści replikatów każdego rozcieńczenia zbadano na trzech aparatach Panther System, stosując trzy serie odczynników, co daje w sumie 90 replikatów dla każdego rozcieńczenia. Zgodnie z CLSI EP17-A2 granice wykrywalności (LoD) zostały określone za pomocą wyników z partii odczynnika o najwyższym stężeniu dla przewidywanej granicy wykrywalności określonej jako LoD, tak jak przedstawiono w Tabeli 3. Dzięki analizie probitowej 95% przewidywanego limitu wykrywania dla LoD testu Aptima HIV-1 Quant Dx wynosi 12 kopii/ml (35 j.m./ml) w osoczu i 8,9 kopii/ml (25 j.m./ml) w surowicy (0,35 kopii = 1 j.m.).

Tabela 3: Granica wykrywalności testu Aptima HIV-1 Quant Dx przy użyciu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1

| Przewidywana granica wykrywalności | Osocze              |                    | Surowica            |                    |
|------------------------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
|                                    | Stężenie (kopie/ml) | Stężenie (j.m./ml) | Stężenie (kopie/ml) | Stężenie (j.m./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                 |

## Granica wykrywalności dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

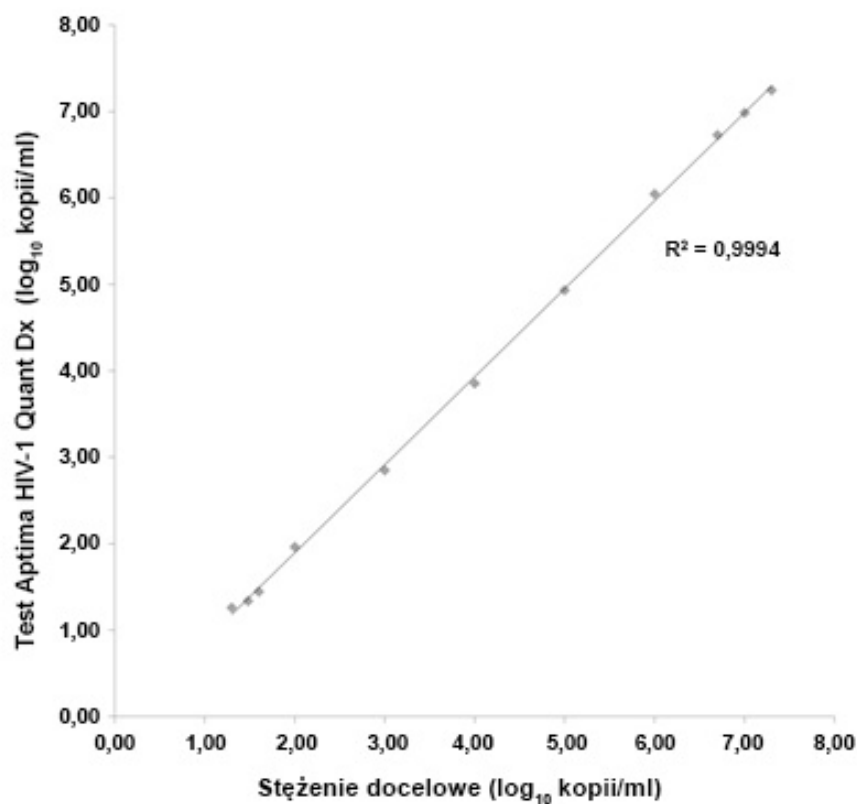
Dla grupy M wirusa HIV-1 (podtypy A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) oraz grup N i O utworzono sześć paneli dodatnich i jeden panel ujemny poprzez dodanie wyhodowanego wirusa HIV-1 lub dodatnich próbek klinicznych do HIV-1-ujemnych ludzkich osocza i surowicy EDTA (od 0 do 40 kopii/ml). Każdy element panelu był badany w 30 replikatach z dwiema partiami odczynników, co daje w sumie 60 replikatów dla każdego elementu panelu. Przypisanie stężenia dla próbek klinicznych lub wyhodowanych zapasów wirusa zostało określone przy użyciu testu porównawczego. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności 50% i 95%. Zgodnie z dokumentem CLSI EP17-A2 (37) granice wykrywalności (LoD) zostały określone za pomocą wyników z partii odczynnika o najwyższym stężeniu dla przewidywanej granicy wykrywalności określanej jako LoD, tak jak przedstawiono w Tabeli 4.

Tabela 4: Granica wykrywalności dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

| Podtyp/grupa | Przewidywana granica wykrywalności | Osocze              | Surowica            |
|--------------|------------------------------------|---------------------|---------------------|
|              |                                    | Stężenie (kopie/ml) | Stężenie (kopie/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                |

## Zakres liniowy

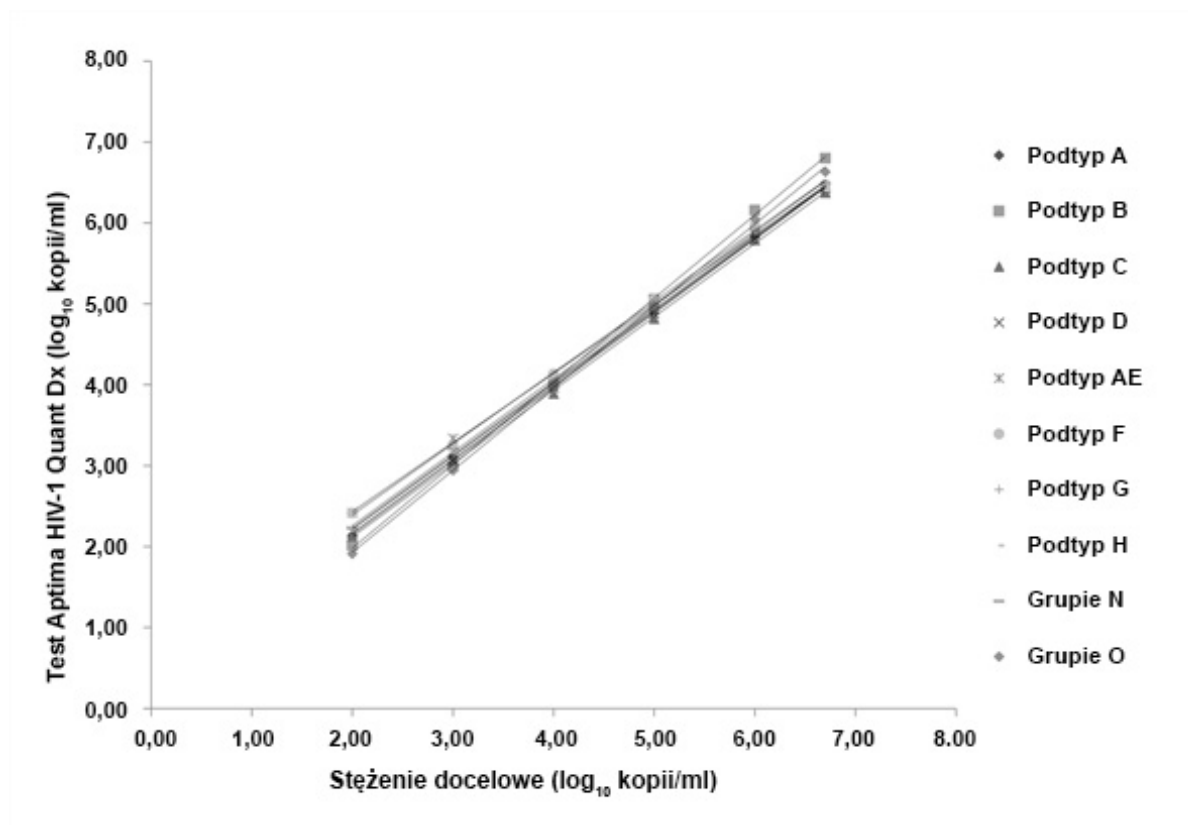
Zakres liniowy testu Aptima HIV-1 Quant Dx został ustalony poprzez badanie paneli, które składały się z wyhodowanego wirusa HIV-1 podtypu B rozcieńczonego w ludzkim osoczu EDTA HIV-1-ujemnym zgodnie z CLSI EP06-A (38). Panele miały stężenia od 1,30 do 7,30  $\log_{10}$  kopii/ml. Badania przeprowadzono na siedmiu aparatach Panther System z dwiema seriami odczytników. Jak pokazano na Rysunek 6, test Aptima HIV-1 Quant Dx wykazał liniowość w całym badanym zakresie.



**Rysunek 6. Liniowość testu Aptima HIV-1 Quant Dx**

## Liniowość dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

Liniowa odpowiedź testu Aptima HIV-1 Quant Dx w grupie M (podtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) oraz w grupach N i O została potwierdzona przez panele testowe składające się z transkryptu HIV-1 rozcieńczonego w buforze w stężeniach od 2,00 do 6,70  $\log_{10}$  kopii/ml. Testy przeprowadzono na czterech aparatach Panther System i w sześciu seriach. Liniowość została wykazana w całym badanym zakresie (Rysunek 7).



Rysunek 7. Liniowość w grupie M (podtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) oraz grupach N i O

### Określanie dolnej granicy oznaczalności przy użyciu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1

Dolna granica oznaczalności (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym RNA wirusa HIV-1 jest wiarygodnie oznaczane ilościowo w ramach błędu całkowitego (TE), zgodnie z CLSI EP17-A2 (37). TE został obliczony przy użyciu modelu Westgarda ( $TE = |\text{obciążenie}| + 2SD$ ). Aby zapewnić dokładność i precyzję pomiarów, TE testu Aptima HIV-1 Quant Dx został ustalony na poziomie  $1 \log_{10}$  kopii/ml (tj. przy LLoQ różnica między dwoma pomiarami większa niż  $1 \log_{10}$  kopii/ml jest statystycznie istotna).

LLoQ określano za pomocą paneli testowych składających się z rozcieńczeń 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1 (podtyp B, kod NIBSC: 10/152) w ludzkim osoczu EDTA ujemnych względem wirusa HIV-1. Zgodnie z CLSI EP17-A2 panele były testowane z trzema seriami odczynników w replikatach po 30 dla każdej partii z 23 serii. Wyniki przedstawione są w Tabeli 5. Najwyższe LLoQ w trzech partiach testowanych przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx z zastosowaniem 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1 wynosi 15 kopii/ml ( $1,17 \log_{10}$  kopii/ml) (Tabela 6).

Tabela 5: Określenie LLoQ testu Aptima HIV-1 Quant Dx przy użyciu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1

| Partia odczynników | Stężenie docelowe ( $\log_{10}$ kopii/ml) | Aptima HIV-1 Quant Dx ( $\log_{10}$ kopii/ml) | SD ( $\log_{10}$ kopii/ml) | Obciążenie  ( $\log_{10}$ kopii/ml) | Obliczony TE ( $\log_{10}$ kopii/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 = odchylenie standardowe TE = całkowity błąd.

Tabela 6: : Podsumowanie dotyczące LLoQ przy zastosowaniu 3. międzynarodowej próbki wzorcowej WHO dla wirusa HIV-1 (3 partie odczynników)

| Partia odczynników | LLoQ ( $\log_{10}$ kopii/ml) | LLoQ (kopie/ml) |
|--------------------|------------------------------|-----------------|
| 1                  | 0,94                         | 8,7             |
| 2                  | 1,17                         | 15              |
| 3                  | 0,98                         | 9,5             |

### Weryfikacja LLoQ dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

LLoQ dla wszystkich podtypów i grup HIV-1 weryfikowano zgodnie z CLSI EP17-A2 (37). Panele zostały wykonane dla każdej grupy M wirusa HIV-1 (podtypy A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) oraz grup N i O przez dodanie do puli osocza ludzkiego EDTA HIV-1-ujemnego naturalnie zakażonych próbek klinicznych lub izolatów klinicznych. Badanie obejmowało łącznie 30 replikatów dla każdego elementu panelu. Dane w Tabeli 7 pokazują najniższe stężenie dla każdego podtypu lub każdej grupy, przy którym TE był mniejszy niż  $1 \log_{10}$  kopii/ml. Najwyższa wartość LLoQ dla wszystkich badanych podtypów i grup wynosiła 30 kopii/ml; ta wyższa wartość została zatem wybrana jako LLoQ dla testu Aptima HIV-1 Quant Dx (Tabela 7).

Tabela 7: Weryfikacja LLoQ według podtypu lub grupy wirusa HIV-1

| Panel           | LLoQ (kopie/ml) |
|-----------------|-----------------|
| Podtyp A        | 30              |
| Podtyp CRF01_AE | 10              |
| Podtyp CRF02_AG | 30              |
| Podtyp B        | 10              |
| Podtyp C        | 30              |
| Podtyp D        | 15              |
| Podtyp F        | 15              |
| Podtyp G        | 30              |
| Grupa N         | 10              |
| Grupa O         | 15              |

## Precyzja

Aby ocenić precyzję testu Aptima HIV-1 Quant Dx, panel, który został wykonany przez dodanie hodowlanego wirusa HIV-1 podtypu B do osocza EDTA HIV-1-ujemnego, był testowany przez trzech operatorów przy użyciu trzech partii odczynników na trzech aparatach Panther System w ciągu 20 dni (Tabela 8). Panel składał się z jednego elementu panelu HIV-1-ujemnego i ośmiu elementów panelu HIV-1-dodatnich. Przypisanie stężenia dla próbek klinicznych lub wyhodowanych zapasów wirusa zostało określone przy użyciu testu porównawczego.

Tabela 8: Precyzja testu Aptima HIV-1 Quant Dx

| Liczba ważnych replikatów | Średnie stężenie (log <sub>10</sub> kopii/ml) | Między urządzeniami |        | Między operatorami |        | Pomiędzy partiami |        | Pomiędzy seriami |        | W ramach serii |        | Ogółem |        |
|---------------------------|-----------------------------------------------|---------------------|--------|--------------------|--------|-------------------|--------|------------------|--------|----------------|--------|--------|--------|
|                           |                                               | 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 <sup>a</sup>                             | 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 = współczynnik zmienności, SD = odchylenie standardowe.

<sup>a</sup> Ten element panelu został rozcieńczony w stosunku 1:3 rozcieńczalnikami do próbek i przetestowany w celu oceny precyzji rozcieńczonej próbki.

**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce, jeśli zmienność w wyniku tych czynników jest bardzo niska. W tym przypadku SD = 0 i CV = 0%. Całkowita liczba badanych replikatów wynosiła 162 dla każdego panelu; analizowano tylko replikaty z wartością liczbową.

## Substancje endogenne i egzogenne potencjalnie powodujące interferencje

Oceniono podatność testu Aptima HIV-1 Quant Dx na interferencje spowodowane podwyższonym poziomem substancji endogennych oraz lekami powszechnie przepisywanymi osobom zakażonym wirusem HIV-1. Testowano próbki osocza ludzkiego EDTA HIV-1-ujemnego oraz próbki z domieszką wirusa HIV-1 do stężenia  $3 \log_{10}$  kopii/ml RNA wirusa HIV-1.

Nie zaobserwowano interferencji w wynikach testu Aptima HIV-1 Quant Dx w obecności albuminy (90 mg/ml), hemoglobiny (5 mg/ml), trójglicerydów (30 mg/ml) lub niezwiązanej bilirubiny (0,2 mg/ml).

Nie zaobserwowano interferencji wyników testu Aptima HIV-1 Quant Dx w obecności substancji egzogennych wymienionych w Tabeli 9 w stężeniach co najmniej trzykrotnie większych niż  $C_{maks.}$  (osocze ludzkie).

Tabela 9: Substancje egzogenne

| Pula substancji egzogennych | Badane substancje egzogenne                                                                                        |
|-----------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1                           | Lopinawir, indynawir, sakwinawir, rytonawir, mesylan nelfinawiru, darunawir, amprenawir, atazanawir                |
| 2                           | Newirapina, efawirenz, ryłpiwiryna, klarytromycyna, amfoterycyna B                                                 |
| 3                           | Fumaran tenofowiru dizoproksylu, dipiwoksyl adefowiru, rybawiryna, enfuwiryt, marawirok, raltegrawir, dolutegrawir |
| 4                           | Siarczan abakawiru, didanozyna, zydowudyna, lamiwudyna, stawudyna, entekawir, telbiwudyna, emtrycytabina           |
| 5                           | Chlorowodorek paroksetyny, fluoksetyna, sertralina                                                                 |
| 6                           | Gancyklowir, walacyklowir, acyklowir, ryfampina/ryfampicyna, etambutol                                             |
| 7                           | Ciprofloksacyna, azytromycyna, amoksycylina, cefaleksyna, ampicylina, trimetoprim                                  |
| 8                           | Chlorowodorek walgancyklowiru, boceprewir, telaprewir, symeprewir, sofosbuwir                                      |
| 9                           | Pegylowany interferon alfa -2b, interferon alfa -2a, interferon alfa -2b                                           |
| 10                          | Heparyna, EDTA, cytrynian sodu                                                                                     |
| 11                          | Typranawir                                                                                                         |
| 12                          | Izoniazyd                                                                                                          |

Kliniczne próbki osocza EDTA wymienione w Tabeli 10 pochodzące od pacjentów z podwyższonym poziomem zdefiniowanych substancji lub od pacjentów z wymienionymi chorobami były testowane przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx z obecnością i bez obecności RNA wirusa HIV-1 w ilości 3 log<sub>10</sub> kopii. Nie zaobserwowano żadnych interferencji w wynikach.

*Tabela 10: Badane typy próbek klinicznych*

| Typy próbek klinicznych |                                              |
|-------------------------|----------------------------------------------|
| 1                       | Czynnik reumatoidalny (RF)                   |
| 2                       | Przeciwciała przeciwjądrowe (ANA)            |
| 3                       | Przeciwciała anty-Jo-1 (JO-1)                |
| 4                       | Toczeń rumieniowaty (SLE)                    |
| 5                       | Artretyzm reumatyczny (RA)                   |
| 6                       | Stwardnienie rozsiane (MS)                   |
| 7                       | Hiperglobulinemia                            |
| 8                       | Podwyższona aminotransferaza alaninowa (ALT) |
| 9                       | Alkoholowa marskość wątroby (AC)             |
| 10                      | Szpiczak plazmocytowy (MM)                   |
| 11                      | Lipemia (podwyższony poziom lipidów)         |
| 12                      | Żółtaczka (podwyższona bilirubina)           |
| 13                      | Hemoliza (podwyższona hemoglobina)           |
| 14                      | Podwyższony poziom albumin białkowych        |
| 15                      | Przeciwciała HCV                             |
| 16                      | Przeciwciała HBV                             |
| 17                      | Przeciwciała HIV-2                           |

### Skuteczność z próbkami HIV-1-ujemnymi

Swoistość testu Aptima HIV-1 Quant Dx została określona za pomocą 120 świeżych i 510 zamrożonych próbek osocza EDTA HIV-1-ujemnego. RNA wirusa HIV-1 nie wykryto w żadnej z 630 próbek (swoistość 100%; 95% CI: 99,4–100%) (Tabela 11).

Tabela 11: Swoistość w próbkach osocza

|                            | Świeże osocze      | Zamrożone osocze   | Ogółem             |
|----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| <b>Ważne replikaty (n)</b> | 120                | 510                | 630                |
| <b>Niereaktywne</b>        | 120                | 510                | 630                |
| <b>Swoistość (95% CI)</b>  | 100%<br>(97,0–100) | 100%<br>(99,3–100) | 100%<br>(99,4–100) |

CI = Przedział ufności

### Mikrobiologiczne czynniki kontaminujące potencjalnie powodujące interferencje

Potencjalna reaktywność krzyżowa z patogenami (Tabela 12) została oceniona w teście Aptima HIV-1 Quant Dx w obecności lub nieobecności 3 log<sub>10</sub> kopii/ml RNA wirusa HIV-1 w osoczu ludzkim EDTA HIV-1-ujemnym. W obecności patogenów nie zaobserwowano żadnych interferencji w przeprowadzaniu testu.

Tabela 12: Patogeny przebadane pod kątem reaktywności krzyżowej

| Patogen                                         | Stężenie                         |
|-------------------------------------------------|----------------------------------|
| Wirus zapalenia wątroby typu A                  | 100 000 j.t.ł./ml <sup>a</sup>   |
| Wirus zapalenia wątroby typu B                  | 100 000 j.m./ml <sup>b</sup>     |
| Wirus zapalenia wątroby typu C                  | 100 000 j.m./ml                  |
| Wirus zapalenia wątroby typu G                  | 100 000 kopii/ml                 |
| Wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1)      | 100 000 j.t.ł./ml                |
| Wirus opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2)      | 75 000 j.t.ł./ml                 |
| Ludzki herpeswirus typu 6                       | 100 000 kopii/ml                 |
| Ludzki herpeswirus typu 8                       | 42 000 j.t.ł./ml                 |
| HIV-2                                           | 5500 j.t.ł./ml                   |
| Ludzki wirus limfotropowy komórek T typu (HTLV) | 100 000 cz.wir./ml <sup>c</sup>  |
| Wirus Zachodniego Nilu                          | 100 000 kopii/ml                 |
| Parwovirus B19                                  | 100 000 j.m./ml                  |
| Cytomegalowirus                                 | 100 000 kopii/ml                 |
| Wirus Epsteina-Barr                             | 100 000 kopii/ml                 |
| Adenowirus typu 5                               | 100 000 j.t.ł./ml                |
| Wirus dengi                                     | 100 000 kopii/ml                 |
| Wirus grypy A                                   | 100 000 j.t.ł./ml                |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                    | 1 000 000 j.t.k./ml <sup>d</sup> |
| <i>Propionibacterium acnes</i>                  | 1 000 000 j.t.k./ml              |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>               | 1 000 000 j.t.k./ml              |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>                    | 1 000 000 j.t.k./ml              |
| <i>Chlamydia trachomatis</i>                    | 300 000 j.t.i./ml <sup>e</sup>   |
| <i>Candida albicans</i>                         | 1 000 000 j.t.k./ml              |

<sup>a</sup> j.t.ł./ml = jednostki tworzące lysinki na ml.<sup>b</sup> j.m./ml = jednostki międzynarodowe na ml.<sup>c</sup> cz.wir./ml = cząsteczki wirusa na ml.<sup>d</sup> j.t.k./ml = jednostki tworzące kolonie na ml.<sup>e</sup> j.t.i./ml = jednostki tworzące inkluzje na ml.

## Powtarzalność próbek klinicznych

Dziesięć klinicznych próbek osocza EDTA i dziesięć próbek surowicy przebadano w trzech replikatach przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Średnie stężenie i odchylenie standardowe (Standard Deviation, SD) przedstawiono w Tabeli 13 i Tabeli 14.

Tabela 13: Powtarzalność próbek klinicznych osocza

| Próbka | Osocze                                           |      |
|--------|--------------------------------------------------|------|
|        | Średnie stężenie<br>(log <sub>10</sub> kopii/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 = odchylenie standardowe

Tabela 14: Powtarzalność próbek klinicznych surowicy

| Próbka | Surowica                                         |      |
|--------|--------------------------------------------------|------|
|        | Średnie stężenie<br>(log <sub>10</sub> kopii/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 = odchylenie standardowe

## Rozcieńczanie próbek przy użyciu rozcieńczalnika do próbek

Aby ocenić rozcieńczenie próbek, panel składający się z 11 próbek o stężeniach, które obejmowały zakres liniowy testu Aptima HIV-1 Quant Dx, i zawierający dwie próbki powyżej górnej granicy oznaczalności (ULoQ) testu, został przetestowany czysty i rozcieńczony (1:3 lub 1:100 w rozcieńczalniku do próbek) w trzech replikatach (Tabela 15).

Tabela 15: Rozcieńczenie próbek

| Rozcieńczenie | Średnie stężenie czyste (log <sub>10</sub> kopii/ml) | Średnie zgłoszone stężenie <sup>a</sup> (log <sub>10</sub> kopii/ml) | Różnica |
|---------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------|
| 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 <sup>b</sup>                                    | 2,19                                                                 | -0,27   |
| 1:100         | >7,00 (7,16 <sup>c</sup> )                           | 7,48                                                                 | 0,32    |
| 1:100         | >7,00 (7,40 <sup>c</sup> ) <sup>b</sup>              | 7,39                                                                 | -0,01   |

<sup>a</sup> Zgłoszone stężenie to wartość zgłoszona przez system Panther System po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia.

<sup>b</sup> Próbką z domieszką.

<sup>c</sup> Wszystkie wyniki >7,00 log<sub>10</sub> kopii/ml zostały oszacowane przy użyciu dodatkowej analizy.

## Przenoszenie

Aby ustalić, że Panther System minimalizuje ryzyko fałszywie dodatnich wyników, wynikających ze skażenia przez przeniesienie, przeprowadzono badanie analityczne na wielu seriach z wykorzystaniem paneli z domieszkami na dwóch aparatach Panther System. Przenoszenie zostało ocenione przy użyciu próbek z domieszką wirusa HIV-1 o wysokim mianie (7 log<sub>10</sub> kopii/ml), przeplatanych pomiędzy próbkami HIV-1-ujemnymi w układzie szachownicy. Testy przeprowadzono w pięciu seriach. Ogólny wskaźnik przenoszenia wyniósł 0% (n = 469).

## Panel serokonwersji

Przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano dziewiętnaście zestawów paneli serokonwersji HIV-1, składających się z 204 próbek. Wykrywanie RNA wirusa HIV-1 porównano z wykrywaniem za pomocą testów antygenów p24 oraz testów na obecność przeciwciał HIV-1/2. Liczba dni do pierwszego wyniku reaktywnego przy użyciu testów na obecność antygenu p24, testów na obecność przeciwciał anti-HIV 1/2 i testu Aptima HIV-1 Quant Dx jest podana w Tabeli 16. Test Aptima HIV-1 Quant Dx wykrywał RNA wirusa HIV-1 średnio 5,58 i 11,16 dnia przed testami na obecność antygenu p24 i przeciwciał anti-HIV 1/2.

Tabela 16: Podsumowanie danych dla panelu serokonwersji

| ID panelu           | Liczba przebadanych elementów panelu | Liczba reaktywnych elementów panelu |                        |                           | Dni do pierwszego reaktywnego wyniku |                        |                           | Różnica w dniach do pierwszego reaktywnego wyniku (na podstawie daty pobrania krwi) |                                                           |
|---------------------|--------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|
|                     |                                      | Aptima HIV-1 Quant Dx               | Antygen p24 wirusa HIV | Przeciwciała anti-HIV 1/2 | Aptima HIV-1 Quant Dx                | Antygen p24 wirusa HIV | Przeciwciała anti-HIV 1/2 | Dni wcześniejszego wykrycia niż antygen p24 wirusa HIV                              | Dni wcześniejszego wykrycia niż przeciwciała 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 <sup>a</sup>           | 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 <sup>a</sup>           | 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 <sup>a</sup>           | 7                                                                                   | 10                                                        |
| PRB963              | 7                                    | 4                                   | 2                      | 0                         | 9                                    | 17                     | 21 <sup>a</sup>           | 8                                                                                   | 12                                                        |
| PRB966              | 10                                   | 5                                   | 3                      | 2                         | 35                                   | 44                     | 48                        | 9                                                                                   | 13                                                        |
| PRB974 <sup>b</sup> | 4                                    | 3                                   | 2                      | 1                         | 7                                    | 9                      | 16                        | 2                                                                                   | 9                                                         |
| PRB975 <sup>b</sup> | 5                                    | 3                                   | 1                      | 0                         | 7                                    | 14                     | 14 <sup>a</sup>           | 7                                                                                   | 7                                                         |
| PRB978 <sup>b</sup> | 7                                    | 3                                   | 1                      | 0                         | 26                                   | 33                     | 33 <sup>a</sup>           | 7                                                                                   | 7                                                         |
| <b>Ogółem</b>       | <b>204</b>                           | <b>82</b>                           | <b>51</b>              | <b>20</b>                 |                                      |                        | <b>Średnia Mediana</b>    | <b>5,58<br/>7</b>                                                                   | <b>11,16<br/>12</b>                                       |

<sup>a</sup> Wszystkie próbki krwi w tym panelu były niereaktywne dla przeciwciał anti-HIV 1/2. Ostatni dzień pobrania krwi został użyty jako „Dni do pierwszego reaktywnego wyniku”.

Badanie przeciwciał anti-HIV-1/2 zostało wykonane przy użyciu Abbot Anti-HIV 1/2, z następującymi wyjątkami:

<sup>b</sup> Panele PRB974, PRB975 i PRB978 zostały przebadane testem Siemens Anti-HIV 1/2.

Testy na obecność antygenu p24 wirusa HIV-1 zostały wykonane przy użyciu produktu Coulter HIV-1 p24 Ag, z następującymi wyjątkami:

<sup>b</sup> Panele PRB974, PRB975 i PRB978 zostały przebadane testem BioMerieux p24 Ag.

## Badanie równoważności surowicy i osocza

W celu oceny równoważności dopasowane zestawy surowicy i osocza (25 HIV-1-dodatnich i 25 HIV-1-ujemnych) oraz 40 próbek, do których wprowadzono wyhodowanego wirusa HIV-1 (50–1 000 000 kopii/ml w osoczu i surowicy HIV-1-ujemnych) zostało przetestowanych przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Zgodność wyników ujemnych wyniosła 100,0% (95% CI: 97,0–100,0%). Zgodność wyników dodatnich wyniosła 98,4% (95% CI: 95,4–99,5%).

## Badania powtarzalności

### Powtarzalność w próbkach osocza

Powtarzalność testu Aptima HIV-1 Quant Dx w próbkach osocza została oceniona w 3 zewnętrznych placówkach. W każdym ośrodku testy przeprowadzało dwóch operatorów. Każdy operator wykonywał 2 serie testów dziennie w okresie 3 dni, korzystając z 3 partii odczynników. W ramach każdej serii testów badano 3 replikaty każdego elementu panelu.

Powtarzalność testowano przy użyciu elementów panelu, zawierających osocze EDTA HIV-1-ujemne. Dodatkowo elementy panelu tworzone były poprzez dodanie ujemnego osocza z wyhodowanym wirusem (HIV-1, podtyp B) w stężeniach zgodnych z zakresem liniowym testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabela 17 przedstawia powtarzalność i precyzję wyników testów dla każdego dodatniego elementu panelu między placówkami, między operatorami, między partiami, między dniami, między seriami, w obrębie serii i ogólnie. Gdy użyto jedynie próbek z wynikami powyżej dolnej granicy oznaczalności (LLOQ) (próbki z wynikami poniżej dolnej granicy oznaczalności zostały odrzucone), łączne SD wynosiło  $\leq 0,2 \log_{10}$  kopii/ml dla wszystkich elementów panelu. Gdy uwzględniono wszystkie próbki z wykrywalnym RNA wirusa HIV-1, łączne wartości SD pozostały niezmienione z wyjątkiem wartości dla elementu panelu 1, którego łączne SD wynosiło  $0,3 \log_{10}$  kopii/ml.

Dla wszystkich HIV-1-dodatnich elementów panelu wartości zgodności wynosiły 100%. Dla elementu panelu HIV-1-ujemnego przebadano 108 replikatów – w żadnym ze 108 replikatów nie wykryto RNA wirusa HIV-1 (ujemna zgodność = 100%, 95% CI dla wyniku: 96,6% do 100%).

Tabela 17: Powtarzalność i precyzja testu Aptima HIV-1 Quant Dx w systemie Panther System w dodatknych elementach panelu z osoczem

| Panel | N <sup>a</sup>   | Średnia<br>Log <sub>10</sub><br>kopii/ml | Między<br>ośrodkami |      | Między<br>operatorami |      | Między partiami |      | Między dniami |      | Między seriami |      | W obrębie serii |       | Ogółem |       |
|-------|------------------|------------------------------------------|---------------------|------|-----------------------|------|-----------------|------|---------------|------|----------------|------|-----------------|-------|--------|-------|
|       |                  |                                          | SD                  | %CV  | SD                    | %CV  | SD              | %CV  | SD            | %CV  | SD             | %CV  | SD              | %CV   | SD     | %CV   |
| 1     | 107              | 1,71 <sup>b</sup>                        | 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 <sup>c</sup>  | 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 <sup>d</sup> | 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 = współczynnik zmienności, SD = odchylenie standardowe

<sup>a</sup> Liczba ważnych wyników testów z wykrywalnym RNA wirusa HIV-1.

<sup>b</sup> Obejmuje 22 replikaty zgłoszone jako <1,47 log<sub>10</sub> kopii/ml. Ta próbka miała przypisaną wartość 1,176 log<sub>10</sub> kopii/ml.

<sup>c</sup> Liczba ważnych wyników testów w zakresie liniowym testu.

<sup>d</sup> Obejmuje jeden replikat zgłoszony jako >7 log<sub>10</sub> kopii/ml. Ta próbka miała przypisaną wartość 7,18 log<sub>10</sub> kopii/ml.

**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna, co może mieć miejsce, jeżeli zmienność spowodowana tymi czynnikami jest bardzo mała (mniejsza niż 0,01). W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0.

### Powtarzalność w próbkach surowicy

Powtarzalność testu Aptima HIV-1 Quant Dx w próbkach surowicy została oceniona w 3 zewnętrznych placówkach. W każdym ośrodku testy przeprowadzało dwóch operatorów. Każdy operator wykonywał 1 serię testów dziennie w okresie 5 dni, korzystając z 1 partii odczynników. W ramach każdej serii testów badano 3 replikaty każdego elementu panelu.

Powtarzalność testowano przy użyciu elementów panelu przygotowanych z surowicą HIV-1-ujemną. Dwa dodatnie elementy panelu zostały stworzone poprzez dodanie matrycy surowicy ujemnej ze stężeniami wynoszącymi 3X–5X granicy wykrywalności i stężeniami wynoszącymi 10X granicy wykrywalności wirusa hodowlanego (HIV-1, podtyp B).

Tabela 18 przedstawia powtarzalność i precyzję wyników testów dla każdego dodatniego elementu panelu między placówkami, między operatorami, między dniami, między seriami, w ramach serii i ogólnie.

Dla wszystkich HIV-1-dodatnich elementów panelu wartości zgodności wynosiły 100%. W przypadku elementu panelu HIV-1-ujemnego przetestowano 90 replikatów i nie wykryto RNA wirusa HIV-1 w 89 z 90 replikatów (zgodność ujemna = 98,9%, 95% CI dla wyniku: 94,0% do 99,8%).

*Tabela 18: Powtarzalność i precyzja testu Aptima HIV-1 Quant Dx w systemie Panther System w dodatnich elementach panelu z surowicą*

| Panel | N  | Średnia log <sub>10</sub><br>kopii/ml | Między<br>ośrodkami |      | Między<br>operatorami |      | Między<br>dniami |      | Między<br>seriami |      | W obrębie<br>serii |       | Ogółem |       |
|-------|----|---------------------------------------|---------------------|------|-----------------------|------|------------------|------|-------------------|------|--------------------|-------|--------|-------|
|       |    |                                       | 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 = współczynnik zmienności, rozkład logarytmiczno-normalny, SD = odchylenie standardowe (log<sub>10</sub> kopii/ml).

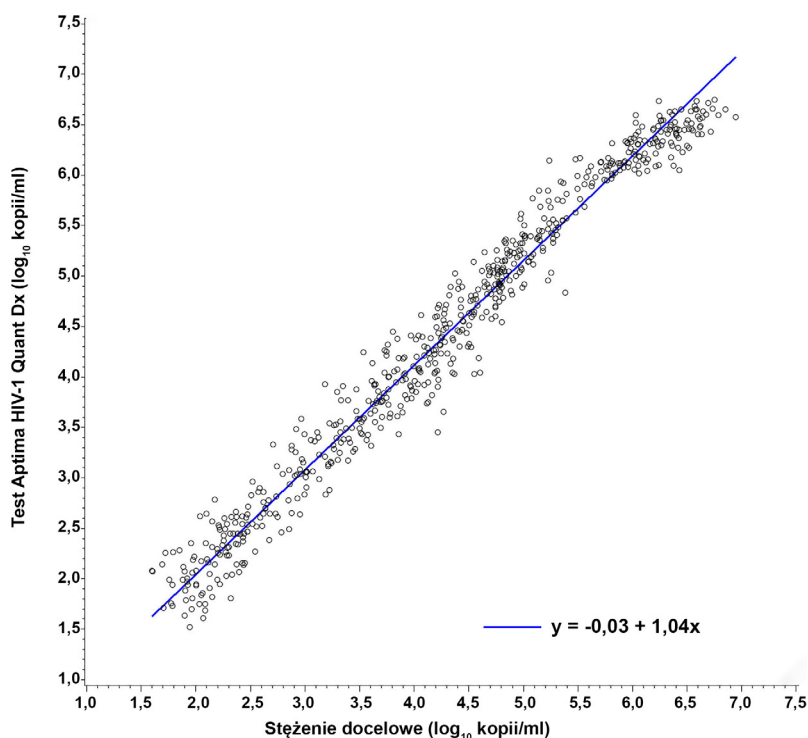
**Uwaga:** Zmienność w przypadku niektórych czynników może być liczbowo ujemna. Może to nastąpić wtedy, gdy zmienność wywołana tymi czynnikami jest bardzo niska. W takich przypadkach wartości SD i CV przedstawiono jako 0,00.

## Skuteczność kliniczna

### Weryfikacja oznaczalności miana wirusa

Porównano oznaczalność RNA wirusa HIV-1 testu Aptima HIV-1 Quant Dx z testem porównawczym. Badanie obejmowało testowanie klinicznych próbek osocza EDTA (przechowywanych w stanie świeżym lub zamrożonym) i wyhodowanych próbek (wyhodowany wirus z domieszką ujemnych klinicznych próbek osocza). Każda próbka została przebadana dwukrotnie — za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx i testu porównawczego. Badanie z użyciem testu Aptima HIV-1 Quant Dx zostało przeprowadzone w 3 zewnętrznych placówkach, gdzie każda placówka używała 3 partii zestawów odczynników; badanie za pomocą testu porównawczego zostało wykonane w 1 laboratorium zewnętrznym.

W badaniu z użyciem testu Aptima HIV-1 Quant Dx i testu porównawczego przebadano 628 dopasowanych zestawów próbek (mieszczących się w zakresie liniowym obu testów), stworzonych z użyciem próbek pobranych od 484 pacjentów biorących udział w badaniu i 144 próbek wyhodowanych. Rysunek 8. przedstawia wyniki analizy regresji Deminga ( $y = -0,03 + 1,04x$ ).



**Rysunek 8. Korelacja pomiędzy testem Aptima HIV-1 Quant Dx a testem porównawczym**

## Badania swoistości klinicznej

### Swoistość kliniczna próbek HIV-1-ujemnych

Za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano wcześniej zamrożone próbki osocza EDTA HIV-1-ujemne, uzyskane od dobrowolnych dawców krwi. Badania przeprowadzono z użyciem 3 partii zestawów odczynników w 3 zewnętrznych placówkach. Swoistość kliniczna została obliczona jako procent próbek ujemnych w kierunku HIV-1 z wynikami „Nie wykryto”. Przebadano sześćset (600) próbek osocza HIV-1-ujemnych i nie wykryto RNA wirusa HIV-1 w żadnej z tych 600 próbek. Swoistość w ujemnych próbkach osocza wynosiła 100% (600/600, 95% CI wyniku: 99,4% do 100%).

### Swoistość kliniczna w populacji o niskim ryzyku

Za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano zamrożone próbki pobrane od krwiodawców oddających krew po raz pierwszy i osób nie oddających krwi, w przypadku których ryzyko zakażenia wirusem HIV-1 jest niskie. Badania przeprowadzono za pomocą 1 partii zestawu odczynników w 1 zewnętrznej placówce. Swoistość kliniczna została obliczona poprzez porównanie wyników testu Aptima HIV-1 Quant Dx z wynikami testu NAT.

Tabela 19 pokazuje swoistość testu Aptima HIV-1 Quant Dx w populacji o niskim ryzyku według typu próbki.

Tabela 19: Swoistość kliniczna testu Aptima HIV-1 Quant Dx w populacji o niskim ryzyku według typu próbki

| Typ próbki | n   | TP | FP             | TN  | FN | Swoistość % (95% CI) <sup>a</sup> |
|------------|-----|----|----------------|-----|----|-----------------------------------|
| Ogółem     | 911 | 4  | 3              | 902 | 2  | 99,7 (99,0, 99,9)                 |
| Surowica   | 304 | 1  | 2 <sup>b</sup> | 300 | 1  | 99,3 (97,6, 99,9)                 |
| Osocze     | 607 | 3  | 1              | 602 | 1  | 99,8 (99,1, 100)                  |

CI = przedział ufności, FN = fałszywie ujemne, FP = fałszywie dodatnie, TN = prawdziwie ujemne, TP = prawdziwie dodatnie.

<sup>a</sup> CI Cloppera–Pearsona.

<sup>b</sup> 1 z 2 próbek surowicy z fałszywie dodatnimi wynikami była dodatnia w badaniu za pomocą testu immunologicznego 4. generacji z kombinacją antygenów/przeciwciał HIV-1/HIV-2.

## Badania wrażliwości klinicznej

### Wrażliwość kliniczna w próbkach HIV-1-dodatnich

Za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano zamrożone wcześniej próbki HIV-1-dodatnie. Badania przeprowadzono z użyciem 2 partii zestawów odczynników w 3 placówkach, w tym w 2 placówkach zewnętrznych.

Tabela 20 pokazuje wrażliwość testu Aptima HIV-1 Quant Dx w próbkach dodatnich według typu próbki.

Tabela 20: Wrażliwość kliniczna testu Aptima HIV-1 Quant Dx w próbkach HIV-1-dodatnich według typu próbki

| Typ próbki | n    | TP   | FN | Wrażliwość % (95% CI) <sup>a</sup> |
|------------|------|------|----|------------------------------------|
| Ogółem     | 1572 | 1565 | 7  | 99,6 (99,1, 99,8)                  |
| Surowica   | 524  | 520  | 4  | 99,2 (98,1, 99,8)                  |
| Osocze     | 1048 | 1045 | 3  | 99,7 (99,2, 99,9)                  |

CI=przedział ufności, FN=falszywie ujemne, TP=prawdziwie dodatnie.

<sup>a</sup>CI Cloppera–Pearsona.

### Wrażliwość kliniczna w populacji o wysokim ryzyku

Za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano próbki pobrane w ramach prospektywnych badań od osób o wysokim ryzyku zakażenia HIV-1. Badania przeprowadzono za pomocą 1 partii zestawu odczynników w 3 placówkach, w tym w 2 zewnętrznych placówkach. Wrażliwość kliniczna została obliczona poprzez porównanie wyników testu Aptima HIV-1 Quant Dx z wynikami testu NAT.

Spośród możliwych do zbadania 498 próbek 332 były próbkami osocza, a 166 było próbkami surowicy. Wrażliwość kliniczna wynosiła 100% (1/1, 95% CI: 20,7% do 100%) w próbkach surowicy. Wrażliwości nie można było ocenić w przypadku próbek osocza, ponieważ nie zaobserwowano żadnych wyników testów prawdziwie dodatnich lub fałszywie ujemnych.

### Dodatniość próbek niezgodnych serologicznie

Za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano zamrożone wcześniej próbki niezgodne serologicznie (tzn. wielokrotnie reaktywne we wstępnym teście immunologicznym wirusa HIV i niemożliwe do określenia lub ujemne w dodatkowym teście immunologicznym), uzyskane od dawców krwi i osób nieoddających krwi. Z 473 możliwych do oceny próbek wybrano 76 z paneli do serokonwersji. Badania przeprowadzano z użyciem 2 partii zestawów odczynników w 1 placówce wewnętrznej. Dodatniość obliczono dla próbek niezgodnych serologicznie, przebadanych za pomocą testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

Tabela 21 pokazuje dodatniość testu Aptima HIV-1 Quant Dx w próbkach niezgodnych serologicznie według grupy próbek, typu dodatkowego testu na HIV i wyniku dodatkowego testu na HIV.

Tabela 21: Dodatniość testu Aptima HIV-1 Quant Dx w próbkach niezgodnych serologicznie

| Typ testu dodatkowego           | Typ testu dodatkowego | Dodatniość % (n/N) 95% CI <sup>a</sup> |                        |                               |
|---------------------------------|-----------------------|----------------------------------------|------------------------|-------------------------------|
|                                 |                       | Bez serokonwersji<br>Grupa panelu      |                        | Serokonwersja<br>Grupa panelu |
|                                 |                       | 3. gen.                                | 4. gen.                | 4. gen.                       |
| Immunochromatograficzny HIV-1/2 | Ujemna                | Nd.                                    | 0,0 (0/11)<br>0,0–25,9 | 100 (6/6)<br>61,0–100         |
| Immunochromatograficzny HIV-1/2 | Nieokreślony          | Nd.                                    | 100 (1/1)<br>20,7–100  | 100 (1/1)<br>20,7–100         |
| Szybki HIV-1/2                  | Ujemna                | Nd.                                    | 0,0 (0/11)<br>0,0–25,9 | 100 (24/24)<br>86,2–100       |
| Szybki HIV-1/2                  | Nieokreślony          | Nd.                                    | 0,0 (0/2)<br>0,0–65,8  | Nd.                           |
| HIV-1 WB lub IFA                | Ujemna                | 0,4 (1/239)<br>0,1–2,3                 | 100 (4/4)<br>51,0–100  | 100 (35/35)<br>90,1–100       |
| HIV-1 WB lub IFA                | Nieokreślony          | 0,0 (0/128)<br>0,0–2,9                 | 100 (1/1)<br>20,7–100  | 100 (10/10)<br>72,2–100       |

3. gen. = test immunologiczny trzeciej generacji, 4. gen. = test immunologiczny czwartej generacji, CI = przedział ufności, IFA = pośredni test immunofluorescencyjny, Nd. = nie dotyczy, WB = Western Blot.

<sup>a</sup> CI dla wyniku.

## Bibliografia

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, W. Rozenbaum oraz 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 oraz 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 oraz 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 oraz J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach oraz 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 oraz P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud oraz 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 oraz L.V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B. oraz 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 oraz 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 oraz 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 oraz 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 i in. 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 oraz 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**, poprzedzający 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci oraz 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 oraz 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 oraz 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 oraz 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 oraz 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 i in. 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 oraz 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 oraz 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 oraz 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 oraz 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. oraz J. R. George,** wyd. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2<sup>nd</sup> ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield oraz 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 oraz 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 oraz 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. oraz 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 część 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); wersja bieżąca.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI dokument 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 dokument 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, dokument EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

## Dane kontaktowe i historia wersji



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



**Hologic BV**  
Da Vincilaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

**Sponsor w Australii**  
Hologic (Australia i  
Nowa Zelandia) Pty Ltd.  
Macquarie Park NSW 2113

Adres e-mail i numer telefonu działu pomocy technicznej i obsługi klienta właściwe dla danego kraju można znaleźć na stronie [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

W Unii Europejskiej należy zgłaszać poważne incydenty, które wystąpiły w związku z wyrobem, do wytwórcy i właściwego organu państwa członkowskiego, w którym użytkownik i/lub pacjent ma siedzibę/miejsce zamieszkania.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion i powiązane logo są znakami towarowymi lub zastrzeżonymi znakami towarowymi firmy Hologic i/lub spółek zależnych w Stanach Zjednoczonych i/lub innych państwach.

Armored RNA to znak towarowy należący do Asuragen, Inc.

Wszystkie inne znaki towarowe, które mogą się pojawić w tej ulotce załączonej do opakowania, należą do ich odpowiednich właścicieli.

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem w Stanach Zjednoczonych spośród wymienionych na stronie [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2020–2025 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.  
AW-28214-3401 Wersja 002  
10.2025

| Historia zmian           | Data                | Opis                                                                                                                                                                        |
|--------------------------|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AW-28214-3401 Wersja 001 | Kwiecień 2025 r.    | <ul style="list-style-type: none"> <li>Pierwsze wydanie ma na celu spełnienie wymagań zawartych w rozporządzeniu IVDR.</li> </ul>                                           |
| AW-28214-3401 Wersja 002 | Październik 2025 r. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Ta wersja jest zgodna z AW-28214-001 Rev. 002 i Rev. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 &amp; Rev. 003).</li> </ul> |