

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Kullanım Talimatları
In vitro diagnostik kullanım için
Sadece ABD'ye İhracat için

Genel Bilgiler	3
Kullanım Amacı	3
Testin Özeti ve Açıklaması	3
Prosedür Esasları	4
Güvenlik ve Performans Özeti	5
Uyarılar ve Önlemler	5
Reaktif Saklama ve Taşıma Gereklilikleri	9
Numune Toplama ve Saklama	10
Panther System'daki Cihaz İç Numuneler	13
Numune Taşıma	13
Panther System	14
Sağlanan Reaktifler ve Malzemeler	14
Gerekli Olan Ancak Ayrı Olarak Mevcut Materyaller	16
İsteğe Bağlı Malzemeler	17
Panther System Test Prosedürü	17
Prosedür Notları	21
Kalite Kontrolü	22
Tahlil Kalibrasyonu	22
Negatif ve Pozitif Kontroller	22
Dahili Kalibratör/Dahili Kontrol	22
Sonuçların Yorumlanması	23
Sınırlamalar	25
Analitik Performans	26
HIV-1 WHO 3. Uluslararası Standardı Kullanılarak Tespit Limiti (LoD)	26
HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında Tespit Limiti	27
Doğrusal Aralık	28
HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında Doğrusallık	29
3. HIV-1 WHO Uluslararası Standardı Kullanılarak Alt Kantitasyon Limitinin Belirlenmesi	30
HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında LLoQ Doğrulaması	31
Hassasiyet	32
Potansiyel Olarak İnterferan Endojen ve Ekzojen Maddeler	33
HIV-1 Negatif Örneklerle Performans	35
Potansiyel Olarak İnterferan Mikrobiyal Kirleticiler	35
Klinik Örneklerin Tekrarlanabilirliği	37
Örnek Seyreltici Kullanılarak Numune Seyreltme	38
Taşınma	38
Serokonversiyon Paneli	39
Serum, Plazma Eşdeğerlik Çalışması	40
Tekrarlanabilirlik Çalışmaları	40

Klinik Performans	43
Viral Yük Kantitasyonunun Doğrulanması	43
Klinik Spesiflik Çalışmaları	44
Klinik Duyarlılık Çalışmaları	44
Serodiskordant Örneklerde Pozitiflik	45
Kaynakça	46
İletişim Bilgileri ve Revizyon Geçmişi	48

Genel Bilgiler

Kullanım Amacı

Aptima® HIV-1 Quant Dx testi, tam otomatik Panther™ sisteminde insan bağışıklık yetmezliği virüsü tip 1 (HIV-1) RNA grupları M, N ve O'nun tespiti ve kantitasyonu için bir in vitro nükleik asit amplifikasyon testidir. HIV-1 enfeksiyonunun tanısında yardımcı olarak, HIV-1 enfeksiyonunun doğrulanmasında ve HIV-1 ile enfekte hastaların klinik yönetiminde yardımcı olarak kullanılması amaçlanmıştır.

Aptima HIV-1 Quant Dx testi, akut veya birincil enfeksiyon dahil olmak üzere HIV-1 enfeksiyonunun tanısında yardımcı olarak kullanılabilir. HIV-1 antikorlu olmayan hastaların plazma veya serumunda HIV-1 RNA'nın bulunması akut veya birincil HIV-1 enfeksiyonunun göstergesidir. Aptima HIV-1 Quant Dx testi, onaylı HIV bağışıklık testleriyle tekrarlayan reaktif sonuçlar veren örnekler için tamamlayıcı bir test olarak kullanılabilir. Aptima HIV-1 Quant Dx testinde örnek reaktifse HIV-1 enfeksiyonu doğrulanır.

Aptima HIV-1 Quant Dx testi, HIV-1 enfeksiyonu olan bireylerde klinik sunum ve hastalık prognozunu belirleyen başka laboratuvar belirteçleriyle de birlikte kullanılabilir. Aptima HIV-1 Quant Dx testi, plazmadaki HIV-1 RNA konsantrasyonundaki değişiklikleri ölçerek antiretroviral tedavinin etkisinin izlenmesinde yardımcı olarak kullanılabilir.

Aptima HIV-1 Quant Dx testi, HIV-1 enfeksiyonunun tanısında yardımcı olarak kullanıldığında, hem plazma hem de serum numuneleriyle kalitatif sonuçların performansı belirlenir.* Antiretroviral tedavinin etkisinin izlenmesinde yardımcı olarak kullanıldığında, kantitatif sonuçların performansı yalnızca plazma numuneleriyle belirlenir. Serum örnekleri kantitatif sonuçlar için kullanılamaz.

Bu test kan veya plazma donörlerinin taranmasında kullanılmak üzere tasarlanmamıştır.

**Aptima HIV-1 Quant Dx testiyle, kurutulmuş kan lekesi (DBS) numuneleri de kullanılabilir. DBS numunelerinin amaçlanan kullanımı ve bilgileri hakkında tam açıklama için Aptima HIV-1 Quant Dx Testi paket ekine eklenen Kurutulmuş Kan Lekesi Ekine bakın.*

Testin Özeti ve Açıklaması

Epidemiyolojik çalışmalarda edinilmiş bağışıklık yetmezliği sendromunun (AIDS) etyolojik ajanın insan bağışıklık yetmezliği virüsü tip 1 (HIV-1) olduğu saptanmıştır (1-7). HIV, cinsel temas, enfekte kan veya kan ürünlerine maruz kalma veya anneden çocuğa bulaşma yoluyla bulaşabilir (8). HIV'e maruz kalınmasını izleyen ilk 3 ila 6 hafta içinde, enfekte bireylerde genellikle grip benzeri semptomlarla karakterize ve periferik kanda yüksek viremi seviyeleriyle ilişkili, kısa süreli, akut bir sendrom gelişir (9-12). Enfekte bireylerin çoğunda, bu erken evreyi HIV'ye özgü bir bağışıklık tepkisi ve plazma viremisinde bir düşüş izler; bu genellikle semptomların başlangıcından itibaren 4 ila 6 hafta içinde gerçekleşir (13-14). Serokonversiyondan sonra enfekte bireyler genellikle yıllarca sürebilen klinik olarak kararlı, asemptomatik bir faza girer (15-17). Asemptomatik dönem, kalıcı, düşük düzeyde plazma viremi (18) ve CD4+ T lenfositlerin kademeli olarak azalmasıyla karakterize edilir. Bu azalma ciddi bağışıklık yetmezliğine, birden çok fırsatçı enfeksiyona, malignitelere ve ölüme yol açar (19). Enfeksiyonun asemptomatik fazında periferik kandaki virüs düzeyleri nispeten düşük olsa da, virüs çoğalması ve temizlenmesi, yüksek oranda virüs üretimi ve CD4+ hücre enfeksiyonunun, eşit oranda yüksek oranda virüs temizlenmesi, enfekte hücrelerin ölümü ve CD4+ hücre yenilenmesiyle dengelendiği ve bunun sonucunda hem plazma viremisinin hem de CD4+ hücrelerinin nispeten kararlı düzeylerde seyrettiği dinamik süreçler gibi görünmektedir (20-22).

Periferik kanda HIV'nin kantitatif ölçümleri, daha yüksek virüs düzeylerinin HIV ile ilişkili hastalığın klinik ilerlemesi riskinin artmasıyla ilişkili olabileceğini ve plazma virüs düzeylerindeki azalmaların klinik ilerleme riskinin azalmasıyla ilişkili olabileceğini göstermiştir (23-25). Periferik kandaki virüs düzeyleri, serumda HIV p24 antijeninin ölçülmesiyle, plazmadan HIV'nin kantitatif kültürüyle veya nükleik asit amplifikasyonu veya sinyal amplifikasyonu teknolojileri kullanılarak plazmadaki viral RNA'nın doğrudan ölçülmesiyle belirlenebilir (26-30).

Transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) gibi moleküler teknikler, nükleik asitleri çoğaltmak için yaygın olarak kullanılmaktadır (31). TMA, kan bağışçısı testleri için CT, NG, HPV, TV ve HIV/HCV/HBV dahil olmak üzere birden fazla bulaşıcı hastalıkta nükleik asitleri tespit etme amaçlı spesifik hedef yakalama ve izotermal amplifikasyon kullanır (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx testi, TMA üzerinden HIV-1'in yüksek mutasyon oranını telafi etmek amacıyla HIV-1 genomunun çeşitli bölgelerini hedefleyen birden çok uzun primer kullanır. Test, HIV-1 genomunun iki bölgesini (pol ve LTR) bağımsız olarak hedef alan çift hedefli amplifikasyon ve tespit sistemlerini içermektedir. Test yazılımı iki sistemden gelen sinyallerin ortalamasını almaz.

Aptima çift hedefli sistem, numunelerin doğru bir şekilde tespit edilip ölçülmesi olasılığını artırmak için tasarlanmıştır.

Prosedür Esasları

Aptima HIV-1 Quant Dx testi, Panther sistemindeki tek bir tüpte gerçekleşen üç ana adımı içerir: hedef yakalama, transkripsiyon aracılı amplifikasyon (TMA) ile hedef amplifikasyonu ve floresan etiketli problemler (meşaleler) tarafından amplifikasyon ürünlerinin (amplikon) tespiti.

Hedef yakalama sırasında viral nükleik asitler örneklerden izole edilir. Viral zarfı çözmek, proteinleri doğasından uzaklaştırmak ve viral genomik RNA'yı serbest bırakmak için örnek bir deterjanla işlenir. Yakalama oligonükleotidleri, test örneğinde varsa HIV-1 genomunun yüksek oranda korunan bölgelerine melezlenir. Melezlenen hedef daha sonra manyetik alan içerisinde örnekten ayrılan manyetik mikro parçacıklar üzerinde yakalanır. Yıkama adımları, yabancı bileşenleri reaksiyon tüpünden uzaklaştırır.

Hedef amplifikasyonu, Moloney fare lösemi virüsü (MMLV) ters transkriptaz ve T7 RNA polimeraz olmak üzere iki enzimi kullanan bir transkripsiyon aracılı nükleik asit amplifikasyon yöntemi olan TMA aracılığıyla gerçekleşir. Ters transkriptaz, hedef dizinin bir DNA kopyasını (T7 RNA polimerazı için bir promotor dizisi bulunur) oluşturmak için kullanılır. T7 RNA polimeraz, DNA kopya şablonundan birden fazla RNA amplikon kopyası üretir. Aptima HIV-1 Quant Dx testi, HIV-1 RNA'nın iki bölgesini (pol ve LTR) çoğaltmak için TMA yöntemini kullanır. HIV-1 grupları M, N ve O'yu çoğaltmak üzere tasarlanmış spesifik primerler kullanılarak her bölgenin çoğaltılmasıyla bağımsız bir sinyal üretilir.

Her bir hedefin çoğaltılması sırasında mevcut olan ve gerçek zamanlı olarak amplikonlara özgü şekilde melezlenen tek zincirli nükleik asit meşaleleri kullanılarak tespit gerçekleştirilir. Her meşalede bir florofor ve bir söndürücü bulunur. Meşale amplikonla melezlenmediğinde söndürücü florofora yakın mesafede olup floresansı baskılar. Meşale amplikona bağlandığında söndürücü florofordan daha uzağa gider ve bir ışık kaynağı tarafından uyarıldığında belirli bir dalga boyunda bir sinyal yayar. Daha fazla meşale amplikonla melezlendikçe daha yüksek bir floresan sinyali üretilir. Her bir hedefin floresan sinyalinin belirli bir eşiğe ulaşması için geçen süre ("tTime"), başlangıçtaki HIV-1 konsantrasyonu ile orantılıdır. Her reaksiyonda numune işleme, amplifikasyon ve tespitteki potansiyel değişiklikleri kontrol eden bir dahili kalibratör/dahili kontrol (IC) bulunur. Daha sonra, Panther sistem yazılımı tarafından hem pol hem de LTR amplifikasyonu için tTimes kullanılarak bir numunenin konsantrasyonu hesaplanır. Panther sistem yazılımı, algoritması ve depolanan kalibrasyon bilgileriyle karşılaştırma yapması sayesinde her numune için klinik olarak doğrulanmış tek bir sonuç döndürür.

Güvenlik ve Performans Özeti

SSP (Güvenlik ve Performans Özeti), cihaz tanımlayıcılarına (Temel UDI-DI) bağlı olduğu Avrupa tıbbi cihazlar veri tabanında (Eudamed) mevcuttur. Aptima HIV-1 Quant Dx tahlilinin SSP'sini bulmak için Temel Benzersiz Cihaz Tanımlayıcıya (BUDI) bakın: 54200455DIAGAPTHIV1XB

Uyarılar ve Önlemler

- A. *In vitro* diagnostik kullanım için.
- B. Profesyonel kullanım için.
- C. Aptima HIV-1 Quant Dx testinin, bağışlanmış kanda HIV-1 varlığına yönelik bir tarama testi olarak kullanılması amaçlanmamıştır.
- D. Geçersiz sonuç riskini azaltmak amacıyla bu testi yapmadan önce tüm paket ekini ve *Panther/Panther Fusion™ Sistem Kullanıcı Kılavuzunu* dikkatle okuyun.

Laboratuvarla İlgili

- E.  **DİKKAT:** Bu testin kontrollerinde insan plazması bulunmaktadır. Plazma, ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nin lisanslı prosedürlerine göre test edildiğinde Hepatit B yüzey antijeni (HBsAg), HCV antikoru, HIV-1 ve HIV-2 antikoru ve HIV antijeni açısından negatif çıkmıştır. Ayrıca, havuza alınmış numuneler kullanılarak lisanslı nükleik asit testleri yapıldığında plazmanın HCV RNA ve HIV-1 RNA'ya karşı reaktif olmadığı görülmüştür. İnsan kanından elde edilen tüm materyaller potansiyel olarak bulaşıcı kabul edilmeli ve Evrensel Önlemlerle işlenmelidir. (33-35).
- F. Bu prosedür yalnızca Aptima HIV-1 Quant Dx testinin kullanımı ve potansiyel olarak bulaşıcı materyallerin işlenmesi konusunda yeterli eğitime sahip personel tarafından gerçekleştirilmelidir. Dökülmesi durumunda, uygun çalışma merkezi prosedürlerini izleyerek hemen dezenfekte edin.
- G. Yalnızca sağlanan veya belirtilen tek kullanımlık laboratuvar malzemelerini kullanın.
- H. Rutin laboratuvar önlemlerini kullanın. Ağız yoluyla pipet kullanmayın. Belirlenen çalışma alanlarında herhangi bir şey yiyip içmeyin veya sigara içmeyin. Örnekleri ve kit reaktiflerini kullanırken tek kullanımlık, pudrasız eldivenler, koruyucu gözlük ve laboratuvar önlükleri kullanın. Örnekleri ve kit reaktiflerini kullandıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- I. Çalışma yüzeyleri, pipetler ve diğer ekipmanlar %2,5 ila %3,5 (0,35 M ila 0,5 M) sodyum hipoklorür çözeltisiyle düzenli olarak dekontamine edilmelidir.
- J. Numuneler ve reaktiflerle temas eden tüm malzemeleri bölgesel yönetmeliklere uygun şekilde bertaraf edin (33-36). Tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin.
- K. Kontrollerde koruyucu olarak sodyum azit bulunmaktadır. Reaktif aktarımı için metal boru kullanmayın. Sodyum azit bileşiklerin bulunduğu çözeltiler sıhhi tesisat sistemine atılacaksa seyreltilmeli ve bol miktarda akan suyla yıkanmalıdır. Bu önlemler, metal borularda tortu birikmesiyle oluşabilen patlayıcı koşulları önlemek için önerilmektedir.
- L. Moleküler laboratuvarlara yönelik iyi standart uygulamalar arasında çevre denetimi de yer alır. Bir laboratuvar ortamının denetimi için aşağıdaki prosedür önerilmektedir.
 - 1. Pamuklu bir çubuk alın ve Aptima® Numune Alikot Tüpü (SAT) ile eşleştirin.
 - 2. Her SAT'yi uygun şekilde etiketleyin.
 - 3. Her SAT'ı 1 mL Aptima® Numune Seyreltici ile doldurun.

4. Yüzey numunelerini toplamak için bir çubuğu nükleaz içermeyen iyondan arındırılmış suyla hafifçe nemlendirin.
5. İlgili yüzeyi yukarıdan aşağıya doğru dikey hareketlerle silin. Bölgeyi temizlerken çubuğu yaklaşık yarım tur döndürün.
6. Sürüntü numunesini hemen tüpe yerleştirin ve sürüntüye bulaşabilecek maddeleri çıkarmak için sürüntüyü seyreltici içinde yavaşça döndürün. Taşıma tüpünün yan tarafındaki çubuğu bastırarak mümkün olduğunca fazla sıvıyı çıkarın. Pamuklu çubuğu atıp tüpün kapağını kapatın.
7. Kalan sürüntü numuneleri için adımları tekrarlayın.
8. Moleküler testli test çubuğu.

Numuneyle İlgili

- M. Örnekler enfeksiyöz olabilir. Bu testi gerçekleştirirken Evrensel Önlemleri (33-35) alın. Yerel düzenlemelere göre uygun kullanım ve imha yöntemleri belirlenmelidir (36). Bu prosedür yalnızca Aptima HIV-1 Quant Dx testinin kullanımı ve bulaşıcı materyallerin işlenmesi konusunda eğitime sahip personel tarafından gerçekleştirilmelidir.
- N. Örneğin bütünlüğünü korumak için örnek gönderimi sırasında uygun saklama koşullarını koruyun. Örneğin önerilenler dışında kalan gönderim koşullarındaki stabilitesi değerlendirilmemiştir.
- O. Örnek kullanma adımları sırasında çapraz kontaminasyondan kaçının. Örnekleri gevşetirken veya kapaklarını açarken aerosollerin yayılmasıyla oluşabilecek kontaminasyonu önlemek için özellikle dikkatli olun. Örneklerde son derece yüksek düzeylerde organizma bulunabilir. Örnek kaplarının birbirine temas etmediğinden emin olun ve kullanılmış materyalleri açık kapların üzerinden geçirmeden atın. Örnekle temas halinde eldivenleri değiştirin.

Tahlille İlgili

- P. Aptima HIV-1 Quant Dx testinin kantitatif sonuçları plazmayla değerlendirilmiştir. Serum kantitatif sonuçlar almak amacıyla kullanılamaz. Kalitatif sonuçlar hem plazmayla hem de serumla değerlendirilmiştir. Bu test kitinin, bu test kitiyle birlikte kullanım için özel olarak onaylanmış numuneler dışındaki numunelerle kullanılması, yanlış test sonuçlarına yol açabilir.
- Q. Aptima HIV-1 Quant Dx testi, Panther sistem yazılımındaki algoritma kullanılarak klinik olarak doğrulanmıştır. Raporlanacak doğrulanmış sonuç, Panther sistem yazılımı tarafından Sonuçlar ekranında ve Sonuçlar raporunda sağlanır.
- R. Reaktif kitini, kalibratörü veya kontrolleri son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- S. Farklı ana parti numaralarına sahip kitlerdeki analiz reaktiflerini birbiriyle değiştirmeyin, karıştırmayın veya birleştirmeyin. Test sıvıları farklı parti numaralarından olabilir. Kontroller ve kalibratör farklı parti numaralarından olabilir.
- T. Reaktiflerin mikrobiyal ve nükleaz kontaminasyonundan kaçınılmalıdır.
- U. Tüm test reaktiflerinin kapaklarını kapatıp belirtilen sıcaklıklarda saklayın. Uygun şekilde saklamayan test reaktiflerinin kullanılmasını testin performansını etkileyebilir. Daha fazla bilgi için bkz. *Reaktif Saklama ve Taşıma Gereklilikleri ve İsteğe Bağlı Malzemeler*.

V. Özel talimat olmadan hiçbir tahlil reaktifini veya sıvısını birleştirmeyin. Reaktiflere veya sıvılara ekleme yapmayın. Panther sistemi, reaktif düzeylerini doğrular.

W. Bu kitteki bazı reaktifler tehlike bilgileriyle etiketlenmiştir.

Not: Tehlike iletişimi, AB Güvenlik Veri Formu (SDS) sınıflandırmalarını yansıtmaktadır. Bölgenize özel tehlike iletişimi bilgileri için www.hologicsds.com adresindeki Güvenlik Veri Sayfası Kitaplığında bulunan bölgeye özel SDS'ye bakın. Semboller hakkında daha fazla bilgi için, www.hologic.com/package-inserts adresindeki sembol açıklamalarına bakın.

AB Tehlike Bilgileri	
—	Amplifikasyon Reaktifi Magnezyum Klorür %60-65 — H412 - Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. P273 - Çevreye salınmasından kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.
—	Enzim Reaktifi HEPES %1-5 Triton X-100 %1-5 — H412 - Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. P273 - Çevreye salınmasından kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.
—	Enzim Rekonstitüsyon Solüsyonu Gliserol %20-25 Triton X-100 %5-10 HEPES %1-5 — H412 - Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. P273 - Çevreye salınmasından kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.
—	Promotör Reaktif Magnezyum Klorür %60-65 — H412 - Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. P273 - Çevreye salınmasından kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.
—	Hedef Yakalama Reaktifi HEPES %15-20 Lauril Sülfat Lityum Tuzu %5-10 Lityum Hidroksit, Monohidrat %1-5 Süksinik Asit %1-5 — H412 - Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır. P273 - Çevreye salınmasından kaçının. P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.

**HIV VL Kit Controls**

İnsan Serumu/İnsan Plazması %95-100
Sodyum Azid <%1

TEHLİKE

H300 - Yutulması halinde öldürücüdür.

H410 - Sucul ortamda uzun süre kalıcı, çok toksik etki.

P264 - Elleçlemeden sonra yüzü, elleri ve maruz kalan cildi iyice yıkayın.

P273 - Çevreye verilmesinden kaçının.

P301 + P310 - YUTULDUĞUNDA: ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru/hekimi arayın.

P321 - Özel müdahale gerekli (bu etiket üzerindeki ilave ilk yardım talimatlarına bakınız).

P330 - Ağızınızı çalkalayın.

P391 - Döküntüleri toplayın.

HIV VL Kit Calibrators

HEPES %15-20

Lauryl Sulfate Lithium Salt %5-10

Lithium Hydroxide, Monohydrate %1-5

Süksinik Asit %1-5

H412 - Uzun süreli etkilerle sudaki yaşam için zararlıdır.

P273 - Çevreye salınmasından kaçının.

P501 - İçeriği/kabı onaylı bir atık bertaraf tesisine atın.

Reaktif Saklama ve Taşıma Gereklilikleri

- A. Aşağıdaki tabloda reaktifler, kontroller ve kalibratör için saklama koşulları ve stabilite gösterilmiştir.

Reaktif	Açılmamış Halde Saklama	Açık Kit (Rekonstitüye Edilmiş)	
		Saklama	Stabilite
qHIV-1 Amplification Reagent	2 °C ila 8 °C		
qHIV-1 Amplification Reconstitution Solution	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHIV-1 Enzyme Reagent	2 °C ila 8 °C		
qHIV-1 Enzyme Reconstitution Solution	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHIV-1 Promoter Reagent	2 °C ila 8 °C		
qHIV-1 Promoter Reconstitution Solution	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHIV-1 Target Capture Reagent	2 °C ila 8 °C	2 °C ila 8 °C	30 gün ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (Negative Control)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 20 saat içinde kullanın
qHIV-1 LPC CONTROL + (Low Positive Control)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 20 saat içinde kullanın
qHIV-1 HPC CONTROL + (High Positive Control)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 20 saat içinde kullanın
qHIV-1 PCAL (Positive Calibrator)	-15 °C ila -35 °C	15 °C ila 30 °C	Tek kullanımlık flakon 20 saat içinde kullanın

^a Reaktifler Panther sisteminden çıkarıldığında derhâl uygun saklama sıcaklıklarına geri getirilmelidir.

- B. Kullanılmayan sulandırılmış reaktifleri ve hedef yakalama reaktifini (TCR) 30 gün sonra veya Ana Parti son kullanma tarihinden sonra, hangisi önce gerçekleşirse elden çıkarın.
- C. Panther sisteminde saklanan reaktifler 72 saatlik stabiliteye sahiptir. Reaktifler Panther sistemine en fazla 8 kez yüklenebilir. Panther sistemi reaktiflerin her yüklenişini günlüğe alır.
- D. Kalibratör çözüldükten sonra çözelti berrak olmalıdır; başka bir deyişle bulanık olmamalı ya da tortu içermemelidir.
- E.  Promoter Reaktif ve rekonstitüye Promoter Reaktif ışığa duyarlıdır. Bu reaktifleri saklama ve kullanıma hazırlama sırasında ışıktan koruyun.

Numune Toplama ve Saklama

Not: Tüm numunelere potansiyel enfeksiyöz ajanlar içeriyormuş gibi muamelede bulunun. Genel Amaçlı Önlemleri uygulayın.

Not: Numune işleme adımları esnasında çapraz kontaminasyondan kaçınmaya özen gösterin. Örneğin kullanılmış malzemeleri açık tüplerin üzerinden geçirmeden atın.

Not: Saklama için sadece plastik ikincil tüpler önerilmektedir.

Aşağıdaki cam veya plastik tüplerde toplanan tam kan örnekleri şu şekillerde kullanılabilir:

Kantitatif ölçümler için:

- EDTA veya Asit Sitrat Dekstroz (ACD) antikoagülanların bulunduğu tüpler veya
- Plazma Hazırlama Tüpleri (PPT).

Kalitatif tespit için:

- EDTA veya ACD antikoagülanların bulunduğu tüpler veya
- PPT'ler veya
- Serum tüpleri veya
- Serum ayırıcı tüpler (SST)

Serum için, daha fazla işleme sokmadan önce pıhtı oluşmasına izin verin.

A. Örnek Toplama

Tam kan 2 °C ile 30 °C arasında saklanabilir; örnek toplanmasını izleyen 24 saat içinde santrifüj uygulanmalıdır. Kullanılan tüp üreticisinin talimatlarını izleyerek plazmayı veya serumu peletli kırmızı kan hücrelerinden ayırın. Plazma veya serum, birincil tüpte Panther sisteminde test edilebilir veya ikincil bir tüpe aktarılabilir. 500 µL reaksiyon hacmini elde etmek için birincil toplama tüpleri için plazma veya serumun minimum hacmi en çok 1200 µL, ikincil tüpler içinse minimum hacim 700 µL'dir. Aşağıdaki tabloda, her birincil ve ikincil tüp tipi için ölü hacim gereklilikleri belirtilmiştir:

Tüp (Boyut ve Tip)	Panther System'da Ölü Hacim
Aptima Numune Alikuotlu Tüp (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm, Jelli	0,3 mL
16x100 mm, Jelli	0,7 mL

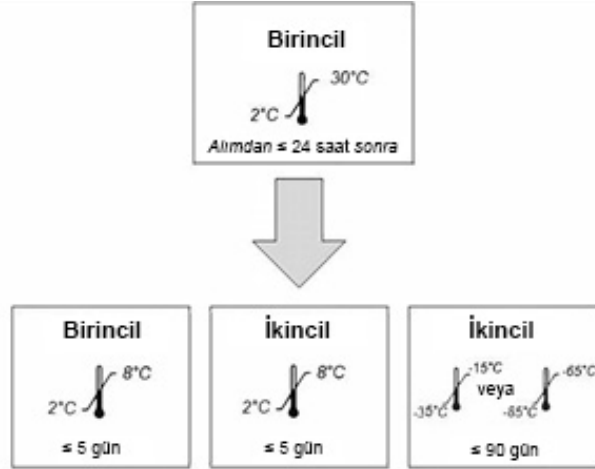
Hemen test yapılmıyacaksa plazma veya serumlar aşağıda belirtilen şartlara uygun olarak saklanabilir. İkincil bir tüpe aktarılırsa, plazma -20 °C veya -70 °C'de ve serum -20 °C'de dondurulabilir. Sonucu etkilememek için üç dondurma-çözme döngüsünü aşmayın. EDTA, ACD veya serum birincil toplama tüplerindeki örnekleri dondurmayın.

B. Örnek Saklama Koşulları

1. EDTA ve ACD Plazma Örnekleri

Örnek toplandıktan sonra 24 saate kadar, santrifüj uygulanmış plazmanın bulunduğu birincil tüpler 2 ° C ila 30 ° C arası sıcaklıklarda saklanabilir (Şekil 1, üst kutu). 24 saat sonra plazma, aşağıdaki koşullardan birinin (Şekil 1, alt kutular) altında daha uzun süre saklanabilir:

- Birincil toplama tüpünde 2 ° C ila 8 ° C arası sıcaklıkta 3 güne kadar,
- İkincil tüpte 2 ° C ila 8 ° C arası sıcaklıkta 5 güne kadar veya
- -20 ° C veya -70 ° C'de 90 güne kadar ikincil tüpte.

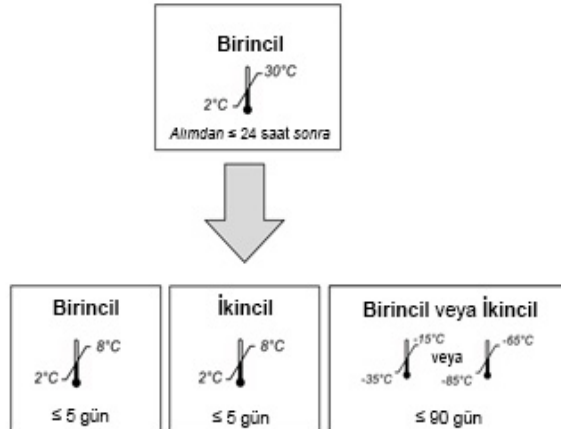


Şekil 1. EDTA/ACD Tüpleri için Saklama Koşulları

2. PPT Örnekleri

Örnek toplandıktan sonra 24 saate kadar, santrifüj uygulanmış plazmanın bulunduğu PPT'ler 2 ° C ila 30 ° C arası sıcaklıklarda saklanabilir (Şekil 2, üst kutu). 24 saat sonra plazma, aşağıdaki koşullardan birinin (Şekil 2, alt kutular) altında daha uzun süre saklanabilir:

- PPT'de 2 ° C ila 8 ° C arası sıcaklıkta 3 güne kadar,
- İkincil tüpte 2 ° C ila 8 ° C arası sıcaklıkta 5 güne kadar veya
- PPT'de veya ikincil tüpte -20 ° C veya -70 ° C sıcaklıkta 90 güne kadar.

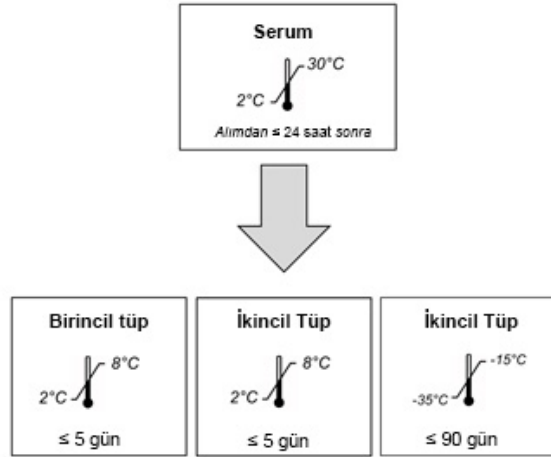


Şekil 2. PPT'ler için Saklama Koşulları

3. Serum Tüpü Örnekleri

Örnek toplandıktan sonra 24 saate kadar, santrifüj uygulanmış serumun bulunduğu serum tüpleri 2 °C ila 30 °C arası sıcaklıklarda saklanabilir (Şekil 3, üst kutu). 24 saat sonra serum, aşağıdaki koşullardan birinin (Şekil 3, alt kutular) altında daha uzun süre saklanabilir:

- Serum tüpünde 2 °C ila 8 °C arası sıcaklıkta 5 güne kadar veya
- İkincil tüpte 2 °C ila 8 °C arası sıcaklıkta 5 güne kadar veya
- İkincil tüpte -20 °C sıcaklıkta 90 güne kadar.

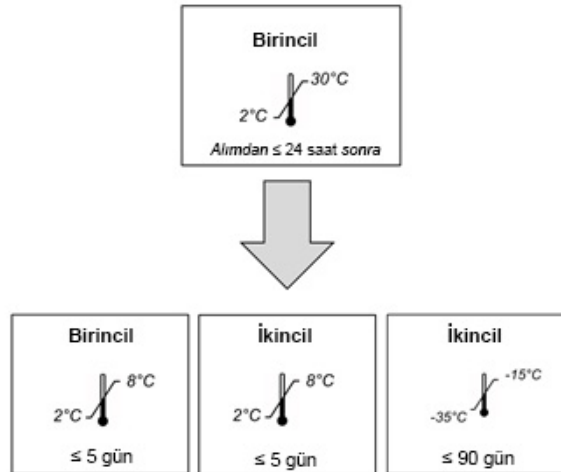


Şekil 3. Serum Tüpleri için Saklama Koşulları

4. SST Numuneleri

Örnek toplandıktan sonra 24 saate kadar, santrifüj uygulanmış serumun bulunduğu SST'ler 2 °C ila 30 °C arası sıcaklıklarda saklanabilir (Şekil 4, üst kutu). 24 saat sonra serum, aşağıdaki koşullardan birinin (Şekil 4, alt kutular) altında daha uzun süre saklanabilir:

- SST'de 2 °C ila 8 °C arası sıcaklıkta 5 güne kadar,
- İkincil tüpte 2 °C ila 8 °C arası sıcaklıkta 5 güne kadar veya
- İkincil tüpte -20 °C sıcaklıkta 90 güne kadar.



Şekil 4. SST'leri Saklama Koşulları

C. Plazma Örneklerinin Seyreltilmesi

Not: Panther sisteminde test için plazma örneği SAT'de veya ikincil tüpte seyretililebilir. Daha fazla bilgi için bkz. Panther System Test Prosedürü, Adım E.4.

Not: Numune seyretilmişse seyretilme işleminden hemen sonra test edilmelidir. Seyretilmiş numuneyi dondurmayın.



Not: Plazma örneklerinin seyretilmesi sadece kantitatif sonuçlar için kullanılabilir. Tanı sonuçlarına yönelik plazma numunelerini seyretilmeyin.

Panther System'daki Cihaz İçi Numuneler

Numuneler, Panther sisteminde toplam 8 saate kadar ağız açık şekilde bırakılabilir. Panther sistemi tarafından numunenin pipetle işlenmesinden önce ortamda geçirilen toplam süre 8 saati geçmediği sürece numuneler Panther sisteminden çıkarılıp test edilebilir.

Numune Taşıma

Numune saklama koşullarının *Numune Toplama* ve *Saklama* bölümünde açıklandığı şekilde olmasını sağlayın.

Not: Numuneler yürürlükteki ulusal, uluslararası ve bölgesel nakliye düzenlemelerine uygun olarak sevk edilmelidir.

Panther System

Aptima HIV-1 Quant Dx testi için Panther sistemine yönelik reaktifler aşağıda listelenmiştir. Reaktif Tanımlama Sembolleri, reaktif adının yanında da listelenir.

Sağlanan Reaktifler ve Malzemeler

Aptima HIV-1 Quant Dx Test Kiti

100 test (1 tahlil kiti, 1 kalibratör kiti ve 1 kontrol kiti) (Kat. No. PRD-03000)

İlave kalibratörler ve kontroller ayrıca sipariş edilebilir. Aşağıda ilgili katalog numaralarını görebilirsiniz.

Aptima HIV-1 Quant Dx Test Kiti

(teslim aldıktan sonra 2 °C ila 8 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
A	qHIV-1 Amplification Reagent <i>Tamponlu solüsyonda kurutulmuş, enfeksiyöz olmayan nükleik asitler.</i>	1 flakon
E	qHIV-1 Enzyme Reagent <i>HEPES tamponlu solüsyonda kurutulmuş ters transkriptaz ve RNA polimeraz.</i>	1 flakon
PRO	qHIV-1 Promoter Reagent <i>Tamponlu solüsyonda kurutulmuş, enfeksiyöz olmayan nükleik asitler.</i>	1 flakon
AR	qHIV-1 Amplification Reconstitution Solution <i>Gliserol ve koruyucu maddeler içeren sulu solüsyon.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHIV-1 Enzyme Reconstitution Solution <i>Bir sürfaktan ve gliserol içeren HEPES tamponlu solüsyon.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHIV-1 Promoter Reconstitution Solution <i>Gliserol ve koruyucu maddeler içeren sulu solüsyon.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHIV-1 Target Capture Reagent <i>Tamponlu tuz solüsyonu içinde katı fazda bulunan nükleik asitler, bulaşıcı olmayan nükleik asitler ve Dahili Kalibratör.</i>	1 x 72,0 mL
	Rekonstitüsyon Manşonları	3
	Ana Lot Barkod Sayfası	1 sayfa

Aptima HIV-1 Quant Dx Kalibratör Kiti (Kat. No. PRD-03001)

(teslim aldıktan sonra -15 °C ila -35 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
PCAL	qHIV-1 Positive Calibrator <i>Tamponlu çözeltideki transkript.</i>	5 x 2,5 mL
	Kalibratör Barkod Etiketi	—

Aptima HIV-1 Quant Dx Kontrol Kiti (Kat. No. PRD-03002)

(teslim aldıktan sonra -15 °C ila -35 °C'de saklayın)

Sembol	Bileşen	Miktar
NC	qHIV-1 Negative Control <i>Koruyucu olarak gentamisin ve %0,2 sodyum azidin yer aldığı HIV-1 negatif fibrinsiz insan plazması.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	qHIV-1 Low Positive Control <i>Koruyucu olarak gentamisin ve %0,2 sodyum azidin yer aldığı fibrinsiz insan plazmasında bulaşıcı olmayan HIV-1 Armored RNA.</i>	5 x 1,5 mL
HPC	qHIV-1 High Positive Control <i>Koruyucu olarak gentamisin ve %0,2 sodyum azidin yer aldığı fibrinsiz insan plazmasında bulaşıcı olmayan HIV-1 Armored RNA.</i>	5 x 1,5 mL
	Kontrol Barkod Etiketi	—

Gerekli Olan Ancak Ayrı Olarak Mevcut Materyaller

Not: Aksi belirtilmediği sürece, Hologic'ten temin edilebilen materyallerin katalog numaraları listelenmiştir.

Malzeme	Kat. No.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System Sürekli Sıvı ve Atık (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx Kalibratör Kiti	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx Kontrol Kiti	PRD-03002
Gerçek Zamanlı Tahliller İçin Panther™ Çalışma Kiti (sadece gerçek zamanlı tahliller için)	PRD-03455 (5000 test)
Aptima® Tahlil Sıvıları Kiti (aynı zamanda Genel Amaçlı Sıvı kiti olarak da bilinir) <i>Aptima® Yıkama Solüsyonu, Aptima® Deaktivasyon Sıvısı Tamponu ve Aptima® Yağ Reaktifleri içerir</i>	303014 (1000 test)
<i>Çoklu tüp üniteleri (MTU'lar)</i>	104772-02
<i>Panther™ Atık Torbası Kiti</i>	902731
<i>Panther™ Çöp Kutusu Kapağı</i>	504405
Veya Panther™ System Çalıştırma Kiti (gerçek zamanlı TMA testleriyle gerçek zamanlı olmayan TMA testleri paralel olarak çalıştırıldığında) MTU'lar, atık torbaları, atık kutusu kapakları, otomatik saptama ve test sıvıları	303096 (5000 test)
Uçlar, 1000 µL filtreli, iletken, sıvı algılamalı ve tek kullanımlık <i>Tüm ürünler her bölgede mevcut değildir. Bölgeye özgü bilgiler için temsilcinizle iletişime geçin</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Çamaşır suyu, %5 ila %8,25 (0,7 M ila 1,16 M) sodyum hipoklorür çözeltisi	—
Tek kullanımlık, pudrasız eldivenler	—
Reaktif yedek kapaklar <i>Amplifikasyon, Enzim ve Promotör reaktif rekonstitüsyon şişeleri</i> <i>TCR şişesi</i>	CL0041 (100 kapak) CL0040 (100 Kapak)
Plastik destekli laboratuvar tezgah örtüleri	—
Tüy bırakmayan mendiller	—
Pipetör	—
Uçlar	—
Birincil toplama tüpü (EDTA, ACD, PPT, SST, Serum) seçenekleri: 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Santrifüj	—
Vorteks mikser	—

İsteğe Bağlı Malzemeler

Malzeme	Kat. No.
İkincil tüp seçenekleri:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima Örnek Alikuotlu Tüpleri (SAT'ler) (100 paket)	FAB-18184
Taşıma Tüpü Kapağı (100 paket)	504415
SAT için kapak	
Aptima Örnek Seyreltici	PRD-03003
Aptima Örnek Seyreltici Kiti	PRD-03478
örnek seyreltici, 100 SAT ve 100 kapak içerir	
Taşıma pipetleri	—
Ticari olarak kullanılabilir paneller, örneğin:	—
Moleküler Tanı için Kalite Kontrolüne (QCMD) ait HIV-1 veya	
College of American Pathologists (CAP) HIV viral yük anketi paneli veya	
SeraCare ACCURUN HIV Panelleri	
Pamuklu çubuklar	—
Tüp sallayıcı	PRD-03488

Panther System Test Prosedürü

Not: Ek prosedür bilgileri için Panther/Panther Fusion System Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

A. Çalışma Alanının Hazırlanması

1. Reaktiflerin hazırlanacağı çalışma yüzeylerini temizleyin. Çalışma yüzeylerini %2,5 ila %3,5 (0,35 M ila 0,5 M) sodyum hipoklorür çözeltisiyle silin. Sodyum hipoklorit çözeltisinin yüzeylerle en az 1 dakika temas etmesini sağlayın, ardından deiyonize (DI) su ile durulayın. Sodyum hipoklorür çözeltisinin kurumasına izin vermeyin. Reaktiflerin ve numunelerin hazırlanacağı tezgah yüzeyini temiz, plastik destekli emici laboratuvar tezgah örtüleriyle örtün.
2. Numunelerin hazırlanacağı ayrı bir çalışma yüzeyini temizleyin. Yukarıda açıklanan prosedürü kullanın (Adım A.1).
3. Pipetleri temizleyin. Yukarıda açıklanan prosedürü kullanın (Adım A.1).

B. Kalibratörün ve Kontrollerin Hazırlanması

İşleme başlamadan önce kalibratörün ve kontrollerin aşağıdaki gibi 15 °C ila 30 °C sıcaklığa ulaşmasını sağlayın:

1. Kalibratörü ve kontrolleri saklama yerinden (-15 °C ila -35 °C arası) çıkarıp 15 °C ila 30 °C arası sıcaklığa yerleştirin. Çözme işlemi boyunca, her tüpü iyice karışması için yavaşça ters çevirin. Kullanmadan önce tüp içeriğinin tamamen çözöldüğünden emin olun.

Seçenek. Kalibratör ve kontrol tüpleri iyice karışmaları için tüp salıncağına yerleştirilebilir. Kullanmadan önce tüp içeriğinin tamamen çözöldüğünden emin olun.

Not: Kalibratörü ve kontrolleri ters çevirirken aşırı köpük oluşturmaktan kaçının. Köpük, Panther sisteminin seviye algılama özelliğini tehlikeye atar.

2. Tüpün içeriği çözöldüğünde, tüpün dışını temiz, kuru, tek kullanımlık bir bezle kurulayın.
3. Kontaminasyonu önlemek için tüpleri bu aşamada açmayın.

C. Reaktif Rekonstitüsyonu/Yeni Kit Hazırlama

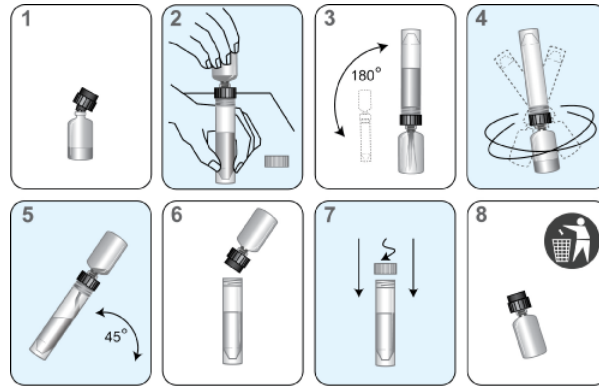
Not: Panther sisteminde herhangi bir çalışmaya başlamadan önce reaktiflerin rekonstitüye edilmesi gerekir.

1. Target Capture Reagent'i (TCR) hazırlamak için şunları gerçekleştirin:
 - a. TCR'yi sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C arası) çıkarın. TCR şişesindeki parti numarasının, Ana Parti Barkod Sayfasındaki parti numarasıyla aynı olduğundan emin olmak için kontrol edin.
 - b. TCR şişesini hemen 10 kez kuvvetli bir şekilde çalkalayın. TCR şişesinin en az 45 dakika boyunca 15 °C ila 30 °C arası bir sıcaklıkta ılımasını sağlayın. Bu süre zarfında TCR şişesini en az 10 dakikada bir çalkalayıp ters çevirin.

Seçenek. TCR şişesi, aşağıdaki talimatları izleyerek bir tüp sallayıcıda hazırlanabilir: TCR'yi saklandığı yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarıp hemen 10 kez kuvvetli bir şekilde çalkalayın. TCR şişesini bir tüp sallayıcıya yerleştirip en az 45 dakika 15 °C ila 30 °C arası bir sıcaklıkta ılmaya bırakın.
 - c. Kullanmadan önce tüm tortunun çözeltide olduğundan ve manyetik parçacıkların süspansiyonda tutulduğundan emin olun.
2. Amplification, Enzyme ve Promoter Reagent'ları rekonstitüye etmek için aşağıdakileri gerçekleştirin:
 - a. Liyofilize reaktifleri ve ilgili rekonstitüsyon çözeltilerini sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C) çıkarın. Her rekonstitüsyon çözeltisini liyofilize reaktifleriyle eşleştirin.
 - b. Rekonstitüsyon çözeltisinin ve liyofilize reaktifin etiket renklerinin aynı olduğundan emin olun. Uygun reaktiflerin eşleştirildiğinden emin olmak için Ana Parti Barkod Sayfasındaki parti numaralarını kontrol edin.
 - i. Metalik contayı ve kauçuk tıpayı çıkararak liyofilize edilmiş reaktif şişesini açın.
 - ii. Rekonstitüsyon manşonunun çentikli ucunu (siyah) flakon üzerine sıkıca yerleştirin (Şekil 5, Adım 1).
 - iii. Uygun rekonstitüsyon çözeltisi şişesini açıp kapağını temiz, kaplanmış bir çalışma yüzeyine koyun.
 - iv. Rekonstitüsyon çözelti şişesini sabit bir yüzeye (yani tezgaha) koyun. Daha sonra liyofilize reaktif flakonunu, rekonstitüsyon solüsyonu şişesinin üzerinde tersine çevirip manşonu rekonstitüsyon solüsyonu şişesine sıkıca takın (Şekil 5, Adım 2).

- v. Birleştirilmiş şişeleri (solüsyon şişesine takılı flakon) yavaşça tersine çevirip solüsyonun cam flakona boşalmasını sağlayın (Şekil 5, Adım 3).
- vi. Birleştirilmiş şişeleri elinize alıp en az 10 saniye süreyle bu şişeleri çalkalayın (Şekil 5, Adım 4).
- vii. Liyofilize reaktifin çözeltiye karışması için en az 30 dakika bekleyin.
- viii. Liyofilize reaktif çözeltiye karıştıktan sonra, birleştirilmiş şişeleri en az 10 saniye çalkalayın, ardından çözeltiyi cam şişe içinde ileri geri hafifçe sallayarak iyice karışmasını sağlayın.
- c. Birleştirilmiş şişeleri tekrar yavaşça eğerek tüm solüsyonun rekonstitüsyon solüsyonu şişesine geri akmasını sağlayın (Şekil 5, Adım 5).
- d. Rekonstitüsyon manşonunu ve cam flakonı dikkatlice çıkarın (Şekil 5, Adım 6).
- e. Şişenin kapağını geri takın. Etiket operatörün baş harfleri ile rekonstitüsyon tarihini kaydedin (Şekil 5, Adım 7).
- f. Rekonstitüsyon manşonunu ve cam flakonı atın (Şekil 5, Adım 8).

Uyarı: Reaktifleri rekonstitüye ederken aşırı köpük oluşumundan kaçının. Köpük, Panther sisteminin seviye algılama özelliğini tehlikeye atar.



Şekil 5. Reaktif Rekonstitüsyon İşlemi

D. Daha Önce Hazırlanmış Reaktifler İçin Reaktif Hazırlama

1. Daha önceden hazırlanmış reaktifleri sakladığınız yerden (2 °C ila 8 °C arası) çıkarın.
2. Daha önceden hazırlanmış Amplification, Enzyme, Promoter reagent'ların ve TCR'nin, test başlamadan önce 15 °C ila 30 °C arası sıcaklığa ulaşması gerekir.
3. Önceden hazırlanmış TCR'yi sisteme yüklemeyi önce yukarıdaki Adım C.1'i uygulayın.
4. Sisteme yüklemeyi önce Amplification, Enzyme ve Promoter reagent'ları tamamen karıştırmak için döndürün ve ters çevirin. Reaktifleri ters çevirirken aşırı köpük oluşumundan kaçının.

Seçenek: Önceden hazırlanmış reaktifler, aşağıdaki talimatlar izlenerek bir tüp salıncağında hazırlanabilir: Reaktifleri saklama yerinden (2 °C ila 8 °C) çıkarın. Reaktifleri bir tüp salıncağına yerleştirip 15 °C ila 30 °C'de en az 30 dakika ısınmaya bırakın.

5. Boş olmayan reaktif şişeleri üzerine ekleme yapmayın. Panther sistemi, ekleme yapılan şişeleri tanıyacak ve reddedecektir.

E. Numune İşleme

1. Birincil tüplerdeki işlenmiş numunelerin veya ikincil tüplerdeki seyreltilmemiş numunelerin *Numune Toplama ve Saklama* bölümünde açıklandığı şekilde saklandığından emin olun.
2. Dondurulmuş örneklerin tamamen çözöldüğünden emin olun. Çözölmüş örneklere iyice karışmaları için 3 ila 5 saniye arası vorteks uygulayın.
3. İşleme başlamadan önce örneklerin 15 °C ila 30 °C arası sıcaklığa ulaşmasını sağlayın. Ek hazırlık bilgileri için *Panther System'daki Cihaz İçi Numuneler* bölümüne bakın.
4. Her birincil toplama tüpünde en fazla 1200 µL örnek bulunduğundan veya her SAT'de en az 700 µL örnek bulunduğundan emin olun. Her birincil ve ikincil tüp tipi için ölü hacim gereksinimlerini belirlemek için *Numune Toplama ve Saklama* konumunda verilen tabloya bakın. Örneğin seyreltilmesi gerekiyorsa, ek bilgi için bkz. aşağıda bulunan Adım E.5.
5. Plazma örneğini, SAT'de 1:3 oranında veya ikincil tüpte 1:100 oranında seyreltin.

Panther sisteminde test için plazma örneği ikincil tüpte seyreltilebilir.



Not: *Plazma örneklerinin seyreltilmesi sadece kantitatif sonuçlar için kullanılabilir. Tanı sonuçlarına yönelik plazma numunelerini seyreltmeyin.*

Not: *Bir örnek seyreltilirse, seyreltmeden hemen sonra test edilmelidir.*

a. Düşük hacimli örneklerin seyreltilmesi

Plazma örneklerinin hacmi, Aptima Örnek Seyreltici kullanılarak gereken minimum hacme (700 µL) kadar artırılabilir. En az 240 µL plazma içeren örnekler, aşağıdaki şekilde iki parçalı örnek seyrelticiyle (1:3) seyreltilebilir:

- i. SAT'ye 240 µL örnek koyun.
- ii. 480 µL Aptima Örnek Seyreltici ekleyin.
- iii. Tüpün kapağını kapatın.
- iv. Karıştırmak için 5 kez yavaşça ters çevirin.

1:3 oranında seyreltilmiş örnekler, Panther sistemindeki 1:3 seçeneği kullanılarak test edilebilir (daha fazla bilgi için bkz. *Panther/Panther Fusion System Kullanım Kılavuzu*). Yazılım, seyreltme faktörünü uygulayarak temiz sonucu otomatik olarak bildirecektir. Bu örnekler seyreltilmiş örnek olarak işaretlenecektir.

b. Yüksek titreli örneklerin seyreltilmesi

Bir örneğin sonucu üst kantifikasyon limitinin üzerindeyse, 99 kısım Aptima Örnek Seyrelticiyle (1:100) aşağıdaki gibi seyreltilebilir:

- i. SAT'ye veya ikincil tüpe 30 µL örnek koyun.
- ii. 2970 µL Aptima Örnek Seyreltici ekleyin.
- iii. Tüpün kapağını kapatın.
- iv. Karıştırmak için 5 kez yavaşça ters çevirin.

1:100 oranında seyreltilmiş örnekler, Panther sistemindeki 1:100 seçeneği kullanılarak test edilebilir (daha fazla bilgi için bkz. *Panther/Panther Fusion System Kullanım Kılavuzu*). Yazılım, seyreltme faktörünü uygulayarak temiz sonucu otomatik olarak bildirecektir. Bu örnekler seyreltilmiş örnek olarak işaretlenecektir.

Not: *ULoQ'den daha büyük saf konsantrasyonlara sahip seyreltilmiş örnekler için sonuçlar bilimsel notasyon kullanılarak bildirilecektir.*

6. Numuneleri Numune Rafına yüklemeyen hemen önce her numuneyi 1000 ila 3000 g'de 10 dakika boyunca santrifüjleyin. Kapakları çıkarmayın. Tüpteki kabarcıklar Panther sisteminin düzey algılamasını tehlikeye atabilir.

Rafın yüklenmesi ve kapakların çıkarılması hakkında bilgi için aşağıdaki Bkz. *Sistemi Hazırlama*, F.2 adımına bakın.

F. Sistemi Hazırlama

1. Sistemi *Panther/Panther Fusion System Kullanıcı Kılavuzu* ve *Prosedür Notları* içinde belirtilen talimatlara göre kurun. Uygun boyutlu reaktif raflarının ve TCR adaptörlerinin kullanıldığından emin olun.
2. Numuneleri Numune Rafına yükleyin. Her numune tüpü (örnek ve gerektiğinde kalibratör ve kontroller) için aşağıdaki adımları gerçekleştirin:
 - a. Bir numune tüpünün kapağını gevşetin ancak henüz çıkarmayın.
Not: *Aerosollerin yayılmasıyla oluşabilecek kontaminasyonu önlemek için özellikle dikkatli olun. Numuneler üzerindeki kapakları yavaşça gevşetin.*
 - b. Numune tüpünü Numune Rafına yükleyin.
 - c. Kalan her numune için a ve b adımlarını tekrarlayın.
 - d. Numuneler Numune Rafına yüklendikten sonra bir Numune Rafında yer alan her numune tüpünün kapağını çıkarıp atın. Kontaminasyonu önlemek için, kapağı başka hiçbir Numune Rafının veya numune tüpünün üzerinden geçirmeyin.
 - e. Gerekirse, kabarcıkları veya köpüğü gidermek için yeni, tek kullanımlık bir aktarma pipeti kullanın.
 - f. Son kapak çıkarıldığında, bir Numune Rafını Numune Bölmesine yükleyin.
Not: *Aynı anda başka tahliller ve numune türleri çalıştırıyorsanız Numune Rafını Numune Bölmesine yüklemeyin önce Numune Tutucuyu sabitleyin.*
 - g. Bir sonraki Numune Rafı için Adım a ile f arasını tekrarlayın.

Prosedür Notları

A. Kalibratör ve Kontroller

1. qHIV-1 pozitif kalibratör, qHIV-1 düşük pozitif kontrol, qHIV-1 yüksek pozitif kontrol ve qHIV-1 negatif kontrol tüpleri, Panther sistemindeki Numune Rafındaki herhangi bir konuma ve herhangi bir Numune Bölmesi Hattına yüklenebilir. Örnek pipetleme işlemi aşağıdaki iki koşuldan biri karşılandığında başlayacaktır:
 - a. Kalibratör ve kontroller halihazırda sistem tarafından işlenmelidir.
 - b. Kalibratör ve kontroller için geçerli sonuçlar sisteme kaydedilmelidir.
2. Kalibratör ve kontrol tüpleri pipetle çalışıldıktan ve Aptima HIV-1 Quant Dx test reaktif kiti için işlendikten sonra, örnekler ilgili, sulandırılmış kitle 24 saate kadar test edilebilir; **ancak bu şu durumlar haricinde gerçekleştirilebilir:**
 - a. Kalibratör veya kontrol sonuçları geçersizdir.
 - b. İlgili test reaktif kiti sistemden çıkarılmıştır.
 - c. İlgili tahlil reaktif kiti stabilite limitlerini aşmıştır.
3. Kalibratör ve her kontrol tüpü bir kez kullanılabilir. Tüpü birden fazla kez kullanmaya çalışmak işlem hatalarına yol açabilir.

B. Eldiven Pudrası

Her reaktif sisteminde olduğu gibi, bazı eldivenlerdeki fazla pudra, açılan tüplerin kontaminasyonuna neden olabilir. Pudrasız eldivenler önerilir.

Kalite Kontrolü

Test gerçekleştirildiği sırada teknik, operatör veya cihaz zorlukları gözlemlenirse ve bunlar belgelenirse, çalışma veya örnek sonucu operatör tarafından geçersiz sayılabilir. Bu durumda örneklerin tekrar test edilmesi gerekir.

Tahlil Kalibrasyonu

Geçerli sonuçlar elde etmek için bir test kalibrasyonunun tamamlanması gerekir. Panther sistemine bir reaktif kiti her yüklendiğinde tek bir positive calibrator üç kez çalıştırılır. Kalibrasyon bir kez başlatıldıktan sonra 24 saate kadar geçerliliğini korur. Panther sisteminin yazılımı kalibrasyon gerektiğinde operatörü uyarır. Operatör, her reaktif kitiyle birlikte verilen Ana Parti Barkod Sayfasında bulunan kalibrasyon katsayısını tarar.

İşleme sırasında kalibratörün kabul kriterleri Panther sistemindeki yazılım tarafından otomatik olarak doğrulanır. İkinci altında kalibratör tekrarı geçerliyse yazılım otomatik olarak çalışmayı geçersiz kılar. Geçersiz kılınan bir çalışmada numuneler, yeni hazırlanmış bir kalibratör ve yeni hazırlanmış kontroller kullanılarak tekrar test edilmelidir.

Negatif ve Pozitif Kontroller

Geçerli sonuçlar elde etmek için bir dizi test kontrolünün test edilmesi gerekir. Panther sistemine bir reaktif kiti yüklendiğinde her seferinde negatif kontrolün, düşük pozitif kontrolün ve yüksek pozitif kontrolün bir tekrarı test edilmelidir. Kontroller bir kez başlatıldıktan sonra 24 saate kadar geçerliliğini korur. Panther sisteminin yazılımı kontrol gerektiğinde operatörü uyarır.

İşleme sırasında kontrollerin kabul kriterleri Panther sistemindeki yazılım tarafından otomatik olarak doğrulanır. Geçerli sonuçlar elde edebilmek için negatif kontrolün "Saptanmadı" sonucunu, pozitif kontrollerin ise önceden tanımlanmış parametreler dahilindeki sonuçları vermesi gerekir (LPC Hedefi: ~ 3 Log₁₀ kopya/mL, HPC Hedefi: ~ 5 Log₁₀ kopya/mL). Kontrollerden herhangi biri geçersiz bir sonuca sahipse yazılım otomatik olarak çalışmayı geçersiz kılar. Geçersiz kılınan bir çalışmada numuneler, yeni hazırlanmış bir kalibratör ve yeni hazırlanmış kontroller kullanılarak tekrar test edilmelidir.

Dahili Kalibratör/Dahili Kontrol

Her numunede dahili kalibratör/dahili kontrol (IC) bulunur. İşlem sırasında IC kabul kriterleri otomatik olarak Panther sistemi yazılımı tarafından doğrulanır. IC sonucu geçersizse numune sonucu da geçersiz sayılır. Geçersiz IC sonucuna sahip her numunenin geçerli bir sonuç elde etmek için tekrar test edilmesi gerekir. Panther sistemi yazılımı, prosedürler bu prospektüs ve *Panther/Panther Fusion System Kullanıcı Kılavuzu*'nda verilen talimatlara uygun olarak gerçekleştirildiğinde hatasız şekilde işlem doğrulama için tasarlanmıştır.

Sonuçların Yorumlanması

Not: Aptima HIV-1 Quant Dx testinin kantitatif sonuçları plazmayla değerlendirilmiştir. Serum kantitatif sonuçlar almak amacıyla kullanılamaz. Kalitatif sonuçlar hem plazmayla hem de serumla değerlendirilmiştir.

Panther sistemi, sonuçları bir kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırarak örnekler ve kontroller için HIV-1 RNA konsantrasyonunu otomatik olarak saptar. HIV-1 RNA konsantrasyonları kopya/mL ve $\log_{10}$ kopya/mL olarak rapor edilmektedir. Sonuçların yorumu Tablo 1 içinde verilmiştir. Aptima HIV-1 Quant Dx testi, pol ve LTR'yi bağımsız olarak hedefleyen çift hedefli amplifikasyon ve tespit sistemlerine sahiptir. Sistem tarafından bildirilen sonuç, pol amplifiye edilmediği sürece birincil sistem olan pol hedefine dayanacaktır. Bu durumlarda sistem, ikincil sistem olan LTR'den gelen sonucu bildirecektir.

Seyreltilmiş örnekler için 1:3 veya 1:100 oranında seyreltme kullanılırsa, Panther sistemi seyreltilmiş konsantrasyonu seyreltme faktörüyle çarparak saf örnek için HIV-1 konsantrasyonunu otomatik olarak hesaplar ve seyreltilmiş örnekler seyreltilmiş olarak işaretlenir.

Not: Seyreltilmiş örnekler için, "Saptanmadı" veya "<30 saptandı" olarak listelenen sonuçlar, LoD (tespit limiti) veya LLoQ (kantitasyon alt limiti) üzerinde ancak onlara yakın bir konsantrasyona sahip bir örneği seyrelterek üretilebilir. Kantitatif bir sonuç elde edilemediği takdirde yeni bir saf numune alınarak bunun test edilmesi önerilir.

Panther sistemi tanı amaçlı kullanım için kalitatif bir sonuç (yani "Reaktif" veya "Reaktif Olmayan") vermez. Operatör, bildirilen HIV-1 RNA konsantrasyonunu kalitatif bir sonuç olarak yorumlamalıdır (Tablo 1). Sonuçları "Saptanmadı" olarak listelenen örnekler HIV-1 RNA için reaktif değildir. "<30 saptandı" şeklinde listelenen sonuçlara sahip örnekler veya sonuçları doğrusal aralıkta ve üzerinde listelenen örnekler, HIV-1 RNA'nın saptandığını ve bu örneklerin HIV-1 RNA için reaktif olduğunu gösterir.

Tablo 1: Sonuç Yorumlaması

Raporlanan Aptima HIV-1 Quant Dx Testi Sonucu		HIV-1 RNA Konsantrasyonu Yorum	Kullanıcının Tanı Kalitatif Yorumu ^c
Kopya/mL ^a	Log ₁₀ Değeri ^b		
Saptanmadı	Saptanmadı	HIV-1 RNA saptanmadı.	HIV-1 RNA için reaktif olmayan
<30 olarak saptandı	<1,47	HIV-1 RNA'sı saptandı, ancak LLoQ'nun altında bir seviyede.	HIV-1 RNA için reaktif
30 ila 10.000.000	1,47 ila 7,00	HIV-1 RNA konsantrasyonu 30 ila 10.000.000 kopya/mL arası doğrusal aralığındadır.	HIV-1 RNA için reaktif
>10.000.000	>7,00	HIV-1 RNA konsantrasyonu sulandırma üst limitinin (ULoQ) üzerindedir.	HIV-1 RNA için reaktif
Geçersiz ^d	Geçersiz ^d	Sonuç oluşturulurken bir hata oluştu. Örnek tekrar test edilmeli.	Geçersiz ^d

^a HIV-1 RNA için 3. Uluslararası Standardına (10/152) yönelik Uluslararası Birim (IU) kopyalarına dönüştürme faktörü 0,35 kopya/IU'dur.

^b Değer iki ondalık basamağa kısaltıldı.

^c Seyreltilmiş numuneler için "reaktif olmayan" bir sonuçtan tanısıl bir yorum yapılmamalıdır. Yeni, seyreltilmemiş bir numune alın ve tekrar test edin.

^d Geçersiz sonuçlar mavi renkte yazıyla gösterilir.

Sonuçlar, Sonuçlar ekranında mevcut olduktan sonra Panther sistem yazılımındaki Örnek Eğri Raporu özelliğini kullanarak her hedef için kantitasyon değerine erişilebilir. Değerleri ve amplifikasyon eğrilerini görüntülemek için Panther sistem yazılımının Sonuçlar ekranında örneğin Örnek Kimliğini seçin. Daha sonra "Eğri Verileri" butonunu seçin. Numuneye ait floresan profillerini ve kantitasyon değerlerinin bulunduğu Örnek Eğri Raporunu içeren bir pencere açılır.

Not: Örnek Eğri Raporundan elde edilen veriler yalnızca bilgilendirme amaçlıdır (örneğin sorun giderme ve eğri doğrulaması). Numune için raporlanacak doğrulanmış sonuç, Panther sistem yazılımı tarafından Sonuçlar ekranında ve Sonuçlar raporunda sağlanır.

Not: Panther sisteminin çalışması hakkında ek talimatlar için Panther/Panther Fusion System Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

Aptima HIV-1 Quant Dx testi kontrollerinin her biri için kabul kriterleri Tablo 2 içinde özetlenmiştir.

Not: Aşağıda listelenen geri kazanım aralığı, belirli her bir lotun atanmış değerine göre değişir. Kontrol kutularıyla birlikte verilen Kontrol Barkod Sayfası ekinde listelenen atanmış konsantrasyona bakın.

Tablo 2: Aptima HIV-1 Quant Dx Testi için Kurtarma Aralığı Kabul Kriterleri

Bileşen	Geçerli Çalıştırmalarda Geri Kazanım Aralığı
Negatif Kontrol	Geçerli Değil
Düşük Pozitif Kontrol	+/- 0,5 log ₁₀ kopya/mL
Yüksek Pozitif Kontrol	+/- 0,5 log ₁₀ kopya/mL

Sınırlamalar

- A. Bu tahlili yalnızca bu prosedür konusunda eğitim almış personel kullanabilir. Bu kullanma talimatında yer alan talimatlara uyulmaması hatalı sonuçlara yol açabilir.
- B. Güvenilir sonuçlar, yeterli örnek toplanması, taşınması, saklanması ve işlenmesine bağlıdır.
- C. Bu testin yalnızca insan EDTA ve ACD plazmasıyla kantitatif analiz olarak kullanılması onaylanmıştır.
- D. Bu testin insan EDTA ve ACD plazması ve serumuyla kalitatif analiz olarak kullanılması onaylanmıştır.
- E. Nadir olmakla birlikte, Aptima HIV-1 Quant Dx testindeki primerlerin ve/veya problemlerin kapsadığı viral genomun oldukça korunan bölgelerindeki mutasyonlar, virüsün yetersiz kantifikasyonuna veya tespit edilememesine neden olabilir.
- F. Bu test, CAR-T hücre tedavisi gibi lentiviral vektör tabanlı tedaviler gören hastalarda kullanım için doğrulanmamıştır. Aptima HIV-1 Quant Dx testindeki primerler ve/veya problemlerin kapsadığı viral genomun potansiyel olarak örtüşen bölgeleri, lentiviral vektör bazlı tedavilerde kullanılan lentiviral vektörlerin çoğaltılmasıyla sonuçlanabilir.

Analitik Performans

HIV-1 WHO 3. Uluslararası Standardı Kullanılarak Tespit Limiti (LoD)

Tespit limiti (LoD), CLSI EP17-A2'ye göre %95 veya daha yüksek olasılıkla tespit edilen HIV-1 RNA konsantrasyonu olarak tanımlanır (37). LoD, HIV-1 negatif EDTA plazma ve serumda 3. HIV-1 WHO Uluslararası Standardının (alt tip B, NIBSC kodu 10/152) seyreltilerinden oluşan paneller test edilerek belirlenmiştir. Her seyreltmenin otuz tekrarı, her seyreltme için toplam 90 tekrar olacak şekilde üç reaktif partisi kullanılarak üç Panther sisteminde çalıştırıldı. CLSI EP17-A2'ye göre, LoD'ler öngörülen tespit limiti LoD için en yüksek konsantrasyona sahip reaktif partisinden elde edilen sonuçlar kullanılarak tanımlanmıştır ve Tablo 3 içinde gösterilmektedir. Probit analizine göre, Aptima HIV-1 Quant Dx testi için LoD'ye yönelik olarak öngörülen %95 tespit limiti plazmada 12 kopya/mL (35 IU/mL) ve serumda 8,9 kopya/mL'dir (25 IU/mL) (0,35 kopya=1 IU).

Tablo 3: HIV-1 WHO 3. Uluslararası Standardını Kullanarak Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Tespit Limiti

Öngörülen Tespit Limiti	Plazma		Serum	
	Konsantrasyon (kopya/mL)	Konsantrasyon (IU/mL)	Konsantrasyon (kopya/mL)	Konsantrasyon (IU/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

HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında Tespit Limiti

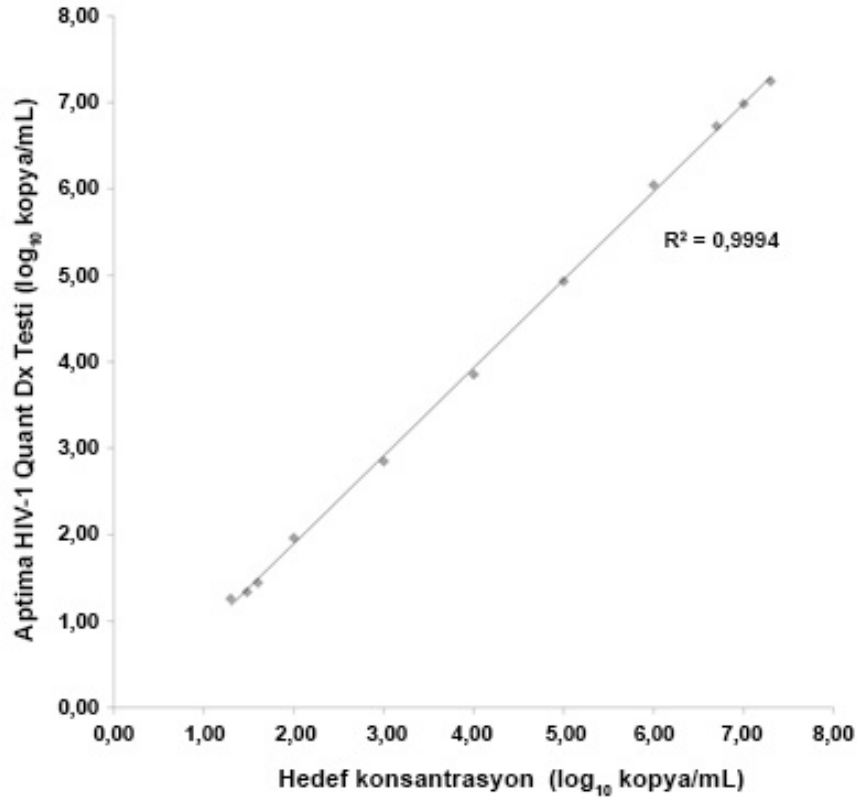
HIV-1 grup M (alt tipler A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) ve gruplar N ve O için, kültür uygulanmış HIV-1 virüsü veya pozitif klinik örnekler HIV-1 negatif insan EDTA plazmasına ve serumuna (0 ila 40 kopya/mL) eklenerek altı pozitif panel ve bir negatif panel oluşturulmuştur. Her panel üyesi, panel üyesi başına toplam 60 tekrar olacak şekilde iki reaktif partisiyle 30 tekrarda test edildi. Klinik örnekler veya kültür virüs stokları için konsantrasyonun atanması, bir karşılaştırma testi kullanılarak belirlendi. Tahmin edilen %50 ve %95 saptama sınırlarını elde etmek için probit analizi gerçekleştirilmiştir. CLSI EP17-A2'ye (37) göre LoD'ler, Tablo 4 içinde gösterilen şekilde LoD olarak tanımlanan öngörülen tespit limiti için en yüksek konsantrasyona sahip reaktif partisinden elde edilen sonuçlar kullanılarak tanımlanmıştır.

Tablo 4: HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında Tespit Limiti

Alt Tip/Grup	Tahmini Saptama Sınırı	Plazma	Serum
		Konsantrasyon (kopya/mL)	Konsantrasyon (kopya/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

Doğrusal Aralık

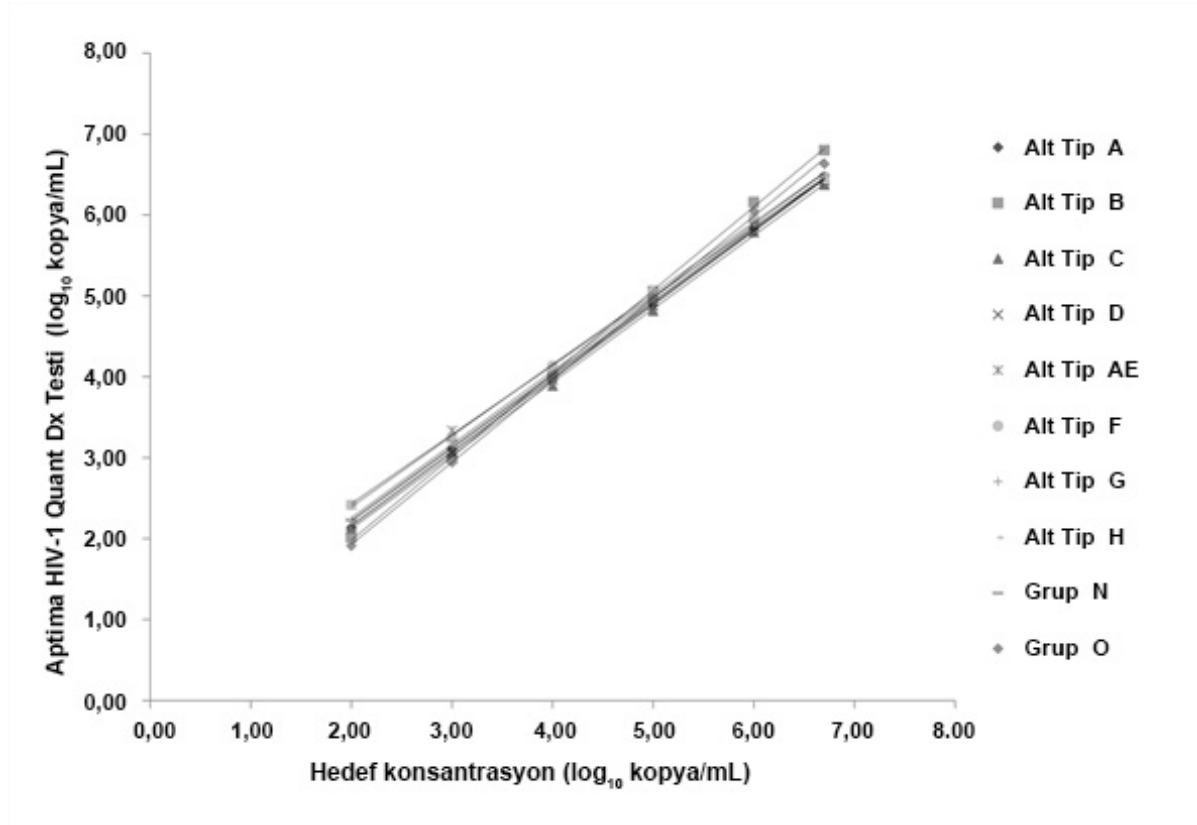
Aptima HIV-1 Quant Dx testinin doğrusal aralığı, CLSI EP06-A'ya (38) göre HIV-1 negatif insan EDTA plazmasında seyreltilmiş kültür uygulanmış HIV-1 alt tip B virüsünden oluşan panelleri test ederek belirlendi. Panellerin konsantrasyonu 1,30 ile 7,30 $\log_{10}$ kopya/mL arasında değişti. İki reaktif partisi kullanılarak yedi Panther sisteminde test gerçekleştirildi. Şekil 6 üzerinde gösterildiği gibi, Aptima HIV-1 Quant Dx testi test edilen aralıkta doğrusallık göstermektedir.



Şekil 6. Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Doğrusallığı

HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında Doğrusallık

Aptima HIV-1 Quant Dx testinin grup M (alt tipler A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) ve grup N ve O'daki doğrusal yanıtı, 2,00 ila 6,70 $\log_{10}$ kopya/mL konsantrasyon aralığında tamponda seyreltilmiş HIV-1 transkriptinden oluşan test panelleriyle doğrulanmıştır. Testler dört Panther sistemi ve altı çalışmada gerçekleştirilmiştir. Test edilen aralıkta doğrusallık göstermiştir (Şekil 7).



Şekil 7. Grup M (Alt Tipler A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) ve Grup N ve O arasında doğrusallık

3. HIV-1 WHO Uluslararası Standardı Kullanılarak Alt Kantitasyon Limitinin Belirlenmesi

CLSI EP17-A2'ye (37) göre, alt kantitasyon limiti (LLOQ), HIV-1 RNA'nın toplam hata (TE) dahilinde güvenilir bir şekilde kantitatif olarak belirlendiği en düşük konsantrasyon olarak tanımlanır. TE, Westgard modeli kullanılarak hesaplanmıştır ($TE = |bias| + 2SD$). Ölçümlerin doğruluğunu ve hassasiyetini sağlamak için Aptima HIV-1 Quant Dx testinin TE değeri $1 \log_{10}$ kopya/mL olarak belirlenmiştir (yani LLOQ'da, $1 \log_{10}$ kopya/mL'den fazla olan iki ölçüm arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıdır).

LLOQ, HIV-1 negatif insan EDTA plazmasında 3. HIV-1 WHO Uluslararası Standardının (alt tip B, NIBSC kodu 10/152) seyreltilerinden oluşan paneller test edilerek belirlenmiştir. CLSI EP17-A2'ye göre paneller, 23 çalışmadan her biri için 30'ar tekrarlı üç reaktif partisiyle test edilmiştir. Sonuçlar Tablo 5 içinde gösterilmektedir. Aptima HIV-1 Quant Dx testiyle 3. HIV-1 WHO Uluslararası Standardı kullanılarak test edilen üç partide en yüksek LLOQ 15 kopya/mL'dir ($1,17 \log_{10}$ kopya/mL) (Tablo 6).

Tablo 5: 3. HIV-1 WHO Uluslararası Standardını Kullanarak Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin LLOQ'sunun Belirlenmesi

Reaktif Lotu	Hedef Konsantrasyon ($\log_{10}$ kopya/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ kopya/mL)	SD ($\log_{10}$ kopya/mL)	Yanılma ($\log_{10}$ kopya/mL)	Hesaplanan TE ($\log_{10}$ kopya/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=standart sapma, TE=toplam hata.

Tablo 6: HIV-1 WHO 3. Uluslararası Standardı (3 Reaktif Partisi) Kullanılarak LLoQ Özeti

Reaktif Lotu	LLoQ (log ₁₀ kopya/mL)	LLoQ (kopya/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

HIV-1 Alt Tipleri ve Grupları Arasında LLoQ Doğrulaması

HIV-1 alt tipleri ve grupları arasında LLoQ, CLSI EP17-A2'ye göre doğrulanmıştır (37). Her HIV-1 grubu M (alt tipler A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) ve gruplar N ve O için, birleştirilmiş HIV-1 negatif insan EDTA plazmasına doğal olarak enfekte olmuş klinik numuneler veya klinik izolatlar eklenerek paneller oluşturulmuştur. Testler panel üyesi başına toplam 30 tekrardan oluşmaktadır. Tablo 7 içindeki veriler, TE'nin 1 log₁₀ kopya/mL'den az olduğu her alt tip veya grup için en düşük konsantrasyonu göstermektedir. Test edilen tüm alt tipler ve gruplar için en yüksek LLoQ 30 kopya/mL'di; bu nedenle bu daha yüksek değer Aptima HIV-1 Quant Dx testi için LLoQ olarak seçilmiştir (Tablo 7).

Tablo 7: HIV-1 Alt Tipi veya Grubuna Göre LLoQ Doğrulaması

Panel	LLoQ (kopya/mL)
Alt Tip A	30
Alt Tip CRF01_AE	10
Alt Tip CRF02_AG	30
Alt Tip B	10
Alt Tip C	30
Alt Tip D	15
Alt Tip F	15
Alt Tip G	30
Grup N	10
Grup O	15

Hassasiyet

Aptima HIV-1 Quant Dx testinin hassasiyetini değerlendirmek için HIV-1 negatif EDTA plazmaya kültür uygulanmış HIV-1 alt tip B virüsü eklenerek yapılan bir panel, üç operatör tarafından üç Panther sisteminde 20 gün boyunca üç reaktif partisi kullanılarak test edilmiştir (Tablo 8). Panelde bir HIV-1 negatif panel üyesi ve sekiz HIV-1 pozitif panel üyesi yer almıştır. Klinik örnekler veya kültür virüs stokları için konsantrasyonun atanması, bir karşılaştırma testi kullanılarak belirlendi.

Tablo 8: Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Hassasiyeti

Geçerli Tekrar Sayısı	Ortalama Konsantrasyon (log ₁₀ kopya/mL)	Cihazlar Arası		Operatörler Arası		Partiler Arası		Çalışmalar Arası		Çalışma İçi		Toplam	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV=varyasyon katsayısı, SD=standart sapma.

^a Bu panel üyesi örnek seyrelticiyle 1:3 oranında seyreltili ve seyreltilmiş numunenin hassasiyetini değerlendirmek için test edildi.

Not: Bazı faktörlerden kaynaklanan değişkenlik, sayısal olarak negatif olabilir; bu durum, söz konusu faktörlerden kaynaklanan değişkenliğin çok küçük olması durumunda ortaya çıkabilir. Bu durumda SD=0 ve CV=%0 olur. Her panel için test edilen toplam tekrar sayısı 162'ydi; yalnızca sayısal değeri olan tekrarlar analiz edildi.

Potansiyel Olarak İnterferan Endojen ve Ekzojen Maddeler

Aptima HIV-1 Quant Dx testinin, endojen maddelerin yüksek düzeyleri ve HIV-1 enfekte kişilere sıklıkla reçete edilen ilaçlar tarafından etkileşime girmeye duyarlılığı değerlendirilmiştir.

HIV-1 negatif EDTA insan plazma numuneleri ve HIV-1 RNA konsantrasyonu $3 \log_{10}$ kopya/mL olan HIV-1 eklenmiş numuneler test edilmiştir.

Albümin (90 mg/mL), hemoglobin (5 mg/mL), trigliseritler (30 mg/mL) veya unkonjuge bilirubin (0,2 mg/mL) varlığında Aptima HIV-1 Quant Dx testinin performansında herhangi bir etkileşim gözlenmemiştir.

Tablo 9 içinde listelenen Aptima HIV-1 Quant Dx testinin performansında, C_{max} ögesinin (insan plazması) en az üç katı konsantrasyonlarda ekzojen maddelerin varlığında herhangi bir müdahale gözlenmemiştir.

Tablo 9: Ekzojen Maddeler

Ekzojen Madde Havuzu	Test Edilen Ekzojen Maddeler
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesilat, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efaviren, rilpivirin, klaritromisin, amfoterisin B
3	Tenofovir disoproksil fumarat, adefovir dipivoksil, ribavirin, enfuvirtid, maravirok, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavir sülfat, didanozin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entekavir, telbivudin, emtrisitabin
5	Paroksetin HCl, fluoksetin, sertralin
6	Gansiklovir, valasiklovir, asiklovir, rifampin/rifampisin, etambutol
7	Siprofloksasin, azitromisin, amoksisilin, sefalekssin, ampisilin, trimetoprim
8	Valgansiklovir hidroklorür, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegile interferon alfa -2b, interferon alfa -2a, interferon alfa -2b
10	Heparin, EDTA, sodyum sitrat
11	Tipranavir
12	İzoniazid

Tanımlı maddelerin seviyeleri yüksek hastalardan veya listelenen hastalıklara sahip hastalara ait, Tablo 10 konumunda listelenen klinik EDTA plazma örnekleri, 3 log₁₀ kopya HIV-1 RNA'sının varlığıyla birlikte ve varlığı olmadığında Aptima HIV-1 Quant Dx testiyle test edilmiştir. Performansta herhangi bir etkileşim gözlenmemiştir.

Tablo 10: Test Edilen Klinik Numune Türleri

Klinik Numune Türleri	
1	Romatoid faktör (RF)
2	Antinükleer antikor (ANA)
3	Anti-Jo-1 antikor (JO-1)
4	Sistemik lupus eritematozus (SLE)
5	Romatoid artrit (RA)
6	Multipl skleroz (MS)
7	Hyperglobulinemia
8	Yükselmiş alanin aminotransferaz (ALT)
9	Alkolik sirozu (AC)
10	Multipl miyelom (MM)
11	Lipemik (yükselmiş lipid)
12	İkterik (yükselmiş bilirubin)
13	Hemolize (yükselmiş hemoglobin)
14	Yükselmiş protein albumin
15	HCV antikorları
16	HBV antikorları
17	HIV-2 antikorları

HIV-1 Negatif Örneklerle Performans

Aptima HIV-1 Quant Dx testinin spesifikliğı 120 taze ve 510 dondurulmuş HIV-1 negatif EDTA plazma örneğı kullanılarak belirlendi. 630 örneğın hiçbirinde HIV-1 RNA saptanmadı (%100 spesifiklik; %95 CI: %99,4-100) Tablo 11.

Tablo 11: Plazma Örneklerinde Spesifiklik

	Taze Plazma	Donmuş Plazma	Tümü
Geçerli replikatlar (n)	120	510	630
Reaktif Olmayan	120	510	630
Spesifiklik (%95 CI)	%100 (97,0-100)	%100 (99,3-100)	%100 (99,4-100)

CI=güven aralığı

Potansiyel Olarak İnterferan Mikrobiyal Kirleticiler

Patojenlere yönelik potansiyel çapraz reaktiflik (Tablo 12), HIV-1 negatif insan EDTA plazmasında 3 log₁₀ kopya/mL HIV-1 RNA olmasında veya olmamasında Aptima HIV-1 Quant Dx testinde değerlendirilmiştir. Patojenler olduğunda testin performansında herhangi bir bozulma gözlenmemiştir.

Tablo 12: Çapraz Reaktivite İçin Test Edilen Patojenler

Patojen	Konsantrasyon
Hepatit A virüsü	100.000 PFU/mL ^a
Hepatit B virüsü	100.000 IU/mL ^b
Hepatit C virüsü	100.000 IU/mL
Hepatit G virüsü	100.000 kopya/mL
Herpes simpleks virüsü 1 (HSV-1)	100.000 PFU/mL
Herpes simpleks virüsü 2 (HSV-2)	75.000 PFU/mL
İnsan herpes virüsü 6	100.000 kopya/mL
İnsan herpes virüsü 8	42.000 PFU/mL
HIV-2	5.500 PFU/mL
İnsan T hücreli lenfotropik virüsü (HTLV)	100.000 vp/mL ^c
Batı Nil virüsü	100.000 kopya/mL
Parvovirüs B19	100.000 IU/mL
Sitomegalovirüs	100.000 kopya/mL
Epstein-Barr virüsü	100.000 kopya/mL
Adenovirüs tip 5	100.000 PFU/mL
Dang virüsü	100.000 kopya/mL
İnfluenza A virüsü	100.000 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 CFU/mL ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300.000 IFU/mL ^e
<i>Candida albicans</i>	1.000.000 CFU/mL

^a PFU/mL=mL başına plak oluşturan birim.^b IU/mL=mL başına uluslararası birim.^c vp/mL=mL başına viral partikül.^d CFU/mL=mL başına koloni oluşturan birim.^e IFU/mL=mL başına inklüzyon oluşturan birim.

Klinik Örneklerin Tekrarlanabilirliği

On klinik EDTA plazma numunesi ve on serum numunesi Aptima HIV-1 Quant Dx testi kullanılarak üç tekrarla test edilmiştir. Ortalama konsantrasyon ve standart sapma (SD) Tablo 13 ve Tablo 14 üzerinde gösterilmiştir.

Tablo 13: Plazma Klinik Örneklerinin Tekrarlanabilirliği

Numune	Plazma	
	Ortalama Konsantrasyon (log ₁₀ kopya/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 = standart sapma

Tablo 14: Serum Klinik Örneklerinin Tekrarlanabilirliği

Numune	Serum	
	Ortalama Konsantrasyon (log ₁₀ kopya/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 = standart sapma

Örnek Seyreltici Kullanılarak Numune Seyreltme

Numune seyreltmeyi değerlendirmek için, Aptima HIV-1 Quant Dx testinin doğrusal aralığını kapsayan konsantrasyonlara sahip 11 numuneden oluşan ve testin UloQ'sunun üzerinde iki numuneden oluşan bir panel, saf ve seyreltilmiş (örnek seyrelticiinde 1:3 veya 1:100) olarak üç kez test edildi (Tablo 15).

Tablo 15: Numune Seyreltme

Seyreltme	Ortalama Saf Konsantrasyon (log ₁₀ kopya/mL)	Ortalama Bildirilmiş Konsantrasyon ^a (log ₁₀ kopya/mL)	Fark
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^b	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

^a Raporlanmış konsantrasyon, seyreltme faktörü uygulandıktan sonra Panther sistemi tarafından raporlanan değerdir.

^b Spayklanmış örnek.

^c Tüm sonuçlar > 7,00 log₁₀ kopya/mL ek analiz kullanılarak tahmin edilmiştir.

Taşınma

Panther sisteminin, önceden kalan kontaminasyon kaynaklı yanlış pozitif sonuç riskini en aza indirdiğini belirlemek için, iki Panther sisteminde spayklanmış paneller kullanılarak çok aşamalı bir analitik çalışma yürütülmüştür. Önceden kalma, HIV-1 negatif numunelerin arasına dama tahtası şeklinde serpiştirilmiş yüksek titreli HIV-1 eklenmiş numuneler (7 log₁₀ kopya/mL) kullanılarak değerlendirilmiştir. Testler beş çalışma üzerinden gerçekleştirilmiştir. Genel önceden kalma oranı %0'dır (n=469).

Serokonversiyon Paneli

Aptima HIV-1 Quant Dx testi kullanılarak, 204 numuneden oluşan on dokuz HIV-1 serokonversiyon panel seti test edilmiştir. HIV-1 RNA saptaması, p24 antijen testleri ve HIV-1/2 antikor testleri kullanılarak saptamayla karşılaştırılmıştır. P24 antijen testleri, anti-HIV 1/2 antikor testleri ve Aptima HIV-1 Quant Dx testi kullanılarak ilk reaktif sonuca kadar geçen gün sayısı Tablo 16 içinde listelenmiştir. P24 antijeni ve anti-HIV 1/2 antikor testlerinden ortalama 5,58 ve 11,16 gün önce, Aptima HIV-1 Quant Dx testi HIV-1 RNA'yı saptamıştır.

Tablo 16: Serokonversiyon Paneli Veri Özeti

Panel No	Test Edilen Panel Üye Sayısı	Reaktif Panel Üye Sayısı			İlk Reaktif Sonuca Yönelik Gün Sayısı			İlk Reaktif Sonuca Yönelik Gün Cinsinden Fark (Kanama Tarihine Göre)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 Antijeni	Anti HIV 1/2 Antikoru	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 Antijeni	Anti HIV 1/2 Antikoru	HIV p24 Antijenine Göre Erken Saptama Gün Sayısı	Anti-HIV 1/2 Antikoru Göre Erken Saptama Gün Sayısı
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Toplam	204	82	51	20			Ortalama Medyan	5,58 7	11,16 12

^a Bu paneldeki hiçbir kanama anti-HIV 1/2 antikoru için reaktif değildi. Son kanama günü "İlk Reaktif Sonuca Yönelik Gün Sayısı" olarak kullanıldı.

Anti-HIV-1/2 antikor testleri, aşağıdaki istisnalar dışında Abbott Anti-HIV 1/2 ile tamamlanmıştır:

^b PRB974, PRB975 ve PRB978 panelleri Siemens Anti-HIV 1/2 testiyle test edilmiştir.

HIV-1 p24 antijen testi, aşağıdaki istisnalar dışında Coulter HIV-1 p24 Ag ile tamamlanmıştır:

^b PRB974, PRB975 ve PRB978 panelleri BioMerieux p24 Ag testiyle test edilmiştir.

Serum, Plazma Eşdeğerlik Çalışması

Eşdeğerliği değerlendirmek için serum ve plazmanın eşleştirilmiş setleri (25 HIV-1 pozitif ve 25 HIV-1 negatif) ve kültür oluşturulmuş HIV-1 ile spayklanmış 40 numune (HIV-1 negatif plazma ve serumda 50-1.000.000 kopya/mL) Aptima HIV-1 Quant Dx testiyle test edilmiştir. Negatif uyum %100,0 (%95 CI: %97,0–%100,0). Pozitif uyum %98,4 (%95 CI: %95,4–%99,5).

Tekrarlanabilirlik Çalışmaları

Plazma Numunelerinde Tekrarlanabilirlik

Aptima HIV-1 Quant Dx testinin plazma örneklerinde tekrarlanabilirliği 3 harici merkezde değerlendirildi. Her bölgede iki operatör test gerçekleştirdi. Her operatör, test sırasında 3 reaktif lotu kullanarak 3 gün boyunca günde 2 kez çalışma gerçekleştirdi. Her çalışma, her panel üyesinin 3 replikasına sahipti.

Tekrarlanabilirlik, HIV-1 negatif EDTA plazmasından oluşan panel üyeleri kullanılarak test edildi. Pozitif panel üyeleri, negatif plazmaya Aptima HIV-1 Quant Dx testinin doğrusal aralığını kapsayan konsantrasyonlarda kültür virüsü (HIV-1 alt tipi B) eklenerek oluşturuldu.

Tablo 17 içinde her bir pozitif panel üyesine yönelik tahlil sonuçlarının tesisler arasında, operatörler arasında, lotlar arasında, günler arasında, çalıştırmalar arasında, çalıştırmalar içinde ve genel olarak tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti gösterilmiştir. Yalnızca kantitasyon alt limitinin (LLOQ) üzerinde sonuçları olan örnekler dahil edildiğinde (LLOQ'nun altında sonuçları olan örnekler hariç tutuldu) tüm panel üyeleri için toplam SD $\leq 0,2 \log_{10}$ kopya/mL oldu. Saptanabilir HIV-1 RNA'sı olan tüm örnekler dahil edildiğinde, toplam SD değerleri, toplam SD'si $0,3 \log_{10}$ kopya/mL olan panel üyesi 1 hariç değişmeden kaldı.

HIV-1 pozitif tüm panel üyeleri için uyum değerleri %100 oldu. HIV-1 negatif panel üyesi için 108 tekrar test edildi ve HIV-1 RNA'sı 108 tekrarın hiçbirinde tespit edilmedi (negatif uyum=%100, %95 Puan CI: %96,6 ila %100).

Tablo 17: Pozitif Plazma Panel Üyelerinde Panther System'da Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Tekrarlanabilirliği ve Hassasiyeti

Panel	N ^a	Ortalama Log ₁₀ Kopya/mL	Sahalar Arasında		Operatörler Arasında		Lotlar Arasında		Günler Arası		Çalıştırmalar Arası		Çalışma İçi		Toplam	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
1	107	1,71 ^b	0,05	2,66	0,07	4,10	0,07	4,09	0,00	0,00	0,17	9,90	0,25	14,62	0,32	18,77
	85 ^c	1,84	0,07	3,51	0,00	0,00	0,02	0,97	0,00	0,00	0,06	3,07	0,17	8,98	0,19	10,17
2	108	2,94	0,08	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	1,49	0,00	0,00	0,11	3,69	0,14	4,83
3	108	3,84	0,07	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,95	0,04	0,98	0,06	1,62	0,11	2,75
4	108	4,94	0,08	1,52	0,00	0,00	0,03	0,57	0,03	0,50	0,05	1,01	0,06	1,18	0,11	2,30
5	108	5,71	0,07	1,26	0,00	0,00	0,01	0,22	0,05	0,85	0,04	0,77	0,07	1,23	0,12	2,11
6	108 ^d	6,71	0,05	0,80	0,00	0,00	0,02	0,32	0,03	0,43	0,07	1,03	0,06	0,85	0,11	1,65

CV=varyasyon katsayısı, SD=standart sapma

^a Saptanabilir HIV-1 RNA içeren geçerli test sonuçlarının sayısı.

^b <1,47 log₁₀ kopya/mL olarak bildirilen 22 tekrarı içerir. Bu örneğin atanan değeri 1,176 log₁₀ kopya/mL olmuştur.

^c Testin doğrusal aralığında geçerli sonuçların sayısı.

^d >7 log₁₀ kopya/mL olarak bildirilen bir tekrarı içerir. Bu örneğin atanan değeri 7,18 log₁₀ kopya/mL olmuştur.

Not: Bazı faktörlerden kaynaklanan değişkenlik, sayısal olarak negatif olabilir. Bu durum, söz konusu faktörlerden kaynaklanan değişkenliğin çok küçük (0,01'den az) olması durumunda ortaya çıkabilir. Böyle durumlarda SD ve CV 0 olarak gösterilir.

Serum Numunelerinde Tekrarlanabilirlik

Aptima HIV-1 Quant Dx testinin serum örneklerinde tekrarlanabilirliği 3 harici merkezde değerlendirildi. Her bölgede iki operatör test gerçekleştirdi. Her operatör, test sırasında 1 reaktif lotu kullanarak 5 gün boyunca günde 1 kez çalışma gerçekleştirdi. Her çalışma, her panel üyesinin 3 replikasına sahipti.

Tekrarlanabilirlik, HIV-1 negatif serumdan hazırlanan panel üyeleri kullanılarak test edildi. Negatif serum matrisine 3X-5X LoD ve 10X LoD konsantrasyonlarında kültür virüsü (HIV-1 alt tipi B) eklenerek iki pozitif panel üyesi oluşturuldu.

Tablo 18 içinde her bir pozitif panel üyesine yönelik tahlil sonuçlarının tesisler arasında, operatörler arasında, günler arasında, çalıştırmalar arasında, çalıştırmalar içinde ve genel olarak tekrarlanabilirliği ve hassasiyeti gösterilmiştir.

HIV-1 pozitif tüm panel üyeleri için uyum değerleri %100 oldu. HIV-1 negatif panel üyesi için 90 tekrar test edildi ve 89/90 tekrarda HIV-1 RNA saptanmadı (negatif uyum=%98,9, %95 Puan CI: %94,0 ila %99,8).

Tablo 18: Pozitif Serum Panel Üyelerinde Panther System'da Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Tekrarlanabilirliği ve Hassasiyeti

Panel	N	Ortalama Log ₁₀ Kopya/ mL	Sahalar Arasında		Operatörler Arasında		Günler Arası		Çalıştırmalar Arası		Çalışma İçi		Toplam	
			SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
1	90	1,34	0,07	5,41	0,00	0,00	0,04	2,63	0,00	0,00	0,22	16,26	0,23	17,34
2	89	1,95	0,05	2,41	0,02	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	9,67	0,20	10,01

CV=log-normal varyasyon katsayısı, SD=standart sapma (log₁₀ kopya/mL).

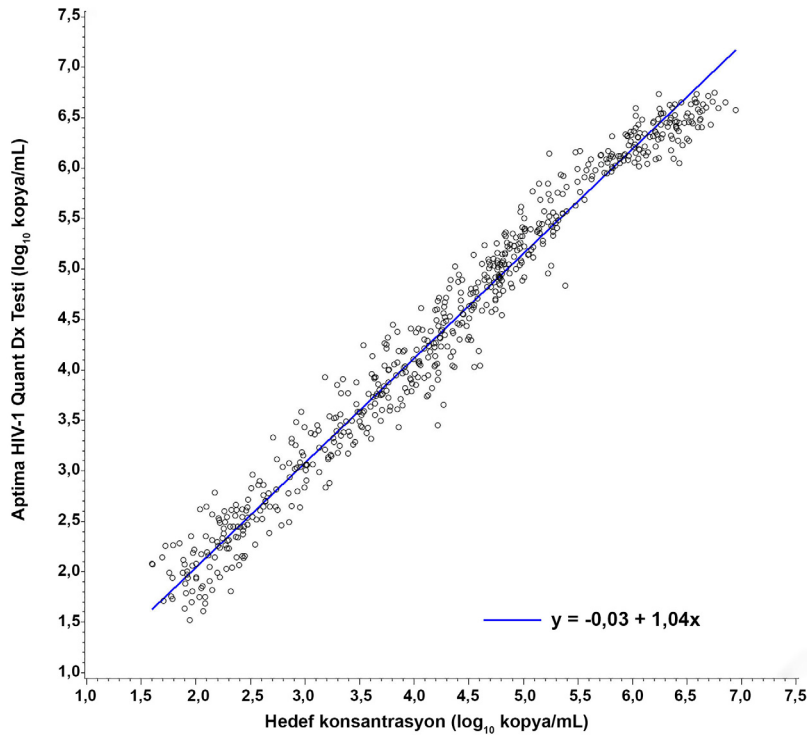
Not: Bazı faktörlerden kaynaklanan değişkenlik sayısal olarak negatif olabilir. Söz konusu faktörlerden kaynaklanan değişkenlik çok küçükse bu durum meydana gelebilir. Böyle durumlarda SD ve CV 0,00 olarak gösterilir.

Klinik Performans

Viral Yük Kantitasyonunun Doğrulanması

HIV-1 RNA'nın kantitasyonu Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile bir karşılaştırma testi arasında kıyaslandı. Çalışma, klinik EDTA plazma örneklerinin (taze veya dondurulmuş olarak saklanan) ve yapay örneklerin (negatif klinik plazma örneklerine kültür virüsü eklenmiş) test edilmesini içeriyordu. Her numune Aptima HIV-1 Quant Dx testi ve karşılaştırma testi ile iki kez test edildi. Aptima HIV-1 Quant Dx testi, her biri 3 reaktif kiti partisi kullanan 3 harici laboratuvar da gerçekleştirildi; karşılaştırma testi 1 harici laboratuvar da gerçekleştirildi.

484 kayıtlı gönüllüden oluşturulan 628 eşleşen örnek seti (her iki testin doğrusal aralığında) ve 144 yapay örnek Aptima HIV-1 Quant Dx testi ve karşılaştırma testi ile test edildi. Şekil 8, Deming regresyon analizinin sonuçlarını göstermektedir ($y = -0,03 + 1,04x$).



Şekil 8. Aptima HIV-1 Quant Dx Testi ile Karşılaştırma Testi Arasındaki Korelasyon

Klinik Spesifiklik Çalışmaları

HIV-1 Negatif Örneklerde Klinik Spesifiklik

Gönüllü tam kan bağışçılarından alınan ve daha önce dondurulmuş HIV-1 negatif EDTA plazma örnekleri Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile test edildi. Testler 3 harici merkezde 3 reaktif kiti partisi ile gerçekleştirildi. Klinik spesifiklik, "Saptanmadı" sonucuna sahip HIV-1 negatif numunelerin yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Altı yüz (600) HIV-1 negatif plazma örneği test edildi ve 600 örneğin hiçbirinde HIV-1 RNA tespit edilmedi. Negatif plazma örneklerinde spesifiklik %100'dü (600/600, %95 Puan CI: %99,4 ila %100).

Düşük Riskli Popülasyonda Klinik Spesifiklik

HIV-1 enfeksiyonu açısından düşük risk taşıyan, ilk kez kan bağışında bulunan kişilerden ve kan bağışında bulunmayan kişilerden alınan daha önceden dondurulmuş örnekler Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile test edildi. Test, 1 harici merkezde 1 reaktif kiti partisi ile gerçekleştirildi. Klinik spesifiklik, Aptima HIV-1 Quant Dx testi sonuçlarının NAT testi sonuçlarıyla karşılaştırılması üzerinden hesaplandı.

Tablo 19, düşük riskli bir popülasyonda Aptima HIV-1 Quant Dx testinin örnek türüne göre spesifikliğini göstermektedir.

Tablo 19: Düşük Riskli Bir Popülasyonda Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Örnek Türüne Göre Klinik Spesifikliği

Örnek Türü	n	TP	FP	TN	FN	Spesifiklik % (%95 CI) ^a
Tümü	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Serum	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plazma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

CI=güven aralığı, FN=yanlış negatif, FP=yanlış pozitif, TN=gerçek negatif, TP=gerçek pozitif.

^a Clopper-Pearson CI.

^b Yanlış pozitif sonuç veren 2 serum örneğinden 1'i, 4. nesil HIV-1/HIV-2 antijen/antikor kombinasyonlu immünolojik test kullanılarak test edildiğinde pozitif çıktı.

Klinik Duyarlılık Çalışmaları

HIV-1 Pozitif Örneklerde Klinik Duyarlılık

Daha önce dondurulmuş HIV-1 pozitif örnekler Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile test edildi. Testler, 2 harici merkez de dahil olmak üzere 3 merkezde 2 reaktif kiti partisiyle gerçekleştirildi.

Tablo 20, örnek türüne göre pozitif örneklerde Aptima HIV 1 Quant Dx testinin duyarlılığını göstermektedir.

Tablo 20: Örnek Türüne Göre HIV-1 Pozitif Örneklerde Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Klinik Duyarlılığı

Örnek Türü	n	TP	FN	Duyarlılık % (%95 CI) ^a
Tümü	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Serum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plazma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

CI=güven aralığı, FN=yanlış negatif, TP=gerçek pozitif.

^a Clopper-Pearson CI.

Yüksek Riskli Popülasyonda Klinik Duyarlılık

HIV-1 enfeksiyonu açısından yüksek risk taşıyan bireylerden prospektif olarak toplanan örnekler Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile test edildi. Testler 2 harici merkez de dahil olmak üzere 3 merkezde 1 reaktif kiti partisi ile gerçekleştirildi. Klinik duyarlılık, Aptima HIV-1 Quant Dx testi sonuçlarının NAT testi sonuçlarıyla karşılaştırılması üzerinden hesaplandı.

Değerlendirilebilen 498 örnekten 332'si plazma örneği, 166'sı ise serum örneğiydi. Serum örneklerinde klinik duyarlılık %100 oldu (1/1, %95 CI: %20,7 ila %100). Plazma örneklerinde duyarlılık değerlendirilemedi çünkü gerçek pozitif veya yanlış negatif test sonuçlarına sahip hiçbir örnek gözlemlenmedi.

Serodiskordant Örneklerde Pozitiflik

Kan bağışçılarından ve kan bağışçısı olmayanlardan elde edilen, daha önce dondurulmuş serodiskordant numuneler (yani, başlangıç HIV immünolojik testinde tekrar tekrar reaktif ve ek immünolojik testte belirsiz veya negatif çıkan) Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile test edildi. Değerlendirilebilir 473 örnekten 76'sı serokonversiyon panellerinden seçildi. Test, 1 dahili merkezde 2 reaktif kiti partisiyle gerçekleştirildi. Pozitiflik, Aptima HIV-1 Quant Dx testi ile test edilen serodiskordant örnekler için hesaplandı.

Tablo 21, Aptima HIV-1 Quant Dx testinin serodiskordant örneklerde pozitifliğini örnek grubuna, HIV ek test türüne ve HIV ek test sonucuna göre göstermektedir.

Tablo 21: Serodiskordant Örneklerde Aptima HIV-1 Quant Dx Testinin Pozitifliği

Ek Test Türü	Ek Test Sonucu	Pozitiflik % (n/N) %95 CI ^a		
		Serokonversiyon Olmayan Panel Grubu		Serokonversiyon Panel Grubu
		3. Nesil	4. Nesil	4. Nesil
HIV-1/2 İmmüno-kromatografik	Negatif	Geçerli Değil	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (6/6) 61,0-100
HIV-1/2 İmmüno-kromatografik	Belirsiz	Geçerli Değil	100 (1/1) 20,7-100	100 (1/1) 20,7-100
HIV-1/2 Hızlı	Negatif	Geçerli Değil	0,0 (0/11) 0,0-25,9	100 (24/24) 86,2-100
HIV-1/2 Hızlı	Belirsiz	Geçerli Değil	0,0 (0/2) 0,0-65,8	Geçerli Değil
HIV-1 WB veya IFA	Negatif	0,4 (1/239) 0,1-2,3	100 (4/4) 51,0-100	100 (35/35) 90,1-100
HIV-1 WB veya IFA	Belirsiz	0,0 (0/128) 0,0-2,9	100 (1/1) 20,7-100	100 (10/10) 72,2-100

3. Nesil=üçüncü nesil immünolojik test, 4. Nesil=dördüncü nesil immünolojik test, CI=güven aralığı, IFA=dolaylı immüno floresan testi, N/A=mevcut değil, WB=Western blot.

^a Puan CI.

Kaynakça

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

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
33. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
34. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

İletişim Bilgileri ve Revizyon Geçmişi



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



Hologic BV
Da Vinciilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Avustralya Sponsoru
Hologic (Avustralya ve
Yeni Zelanda) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Ülkeye özgü Teknik Destek ve Müşteri Hizmetleri e-posta adresi ve telefon numarası için www.hologic.com/support adresini ziyaret edin.

Avrupa Birliği'nde cihazla ilgili olarak meydana gelen ciddi olaylar, üreticiye ve kullanıcının ve/veya hastanın yerleşik olduğu üye devletteki yetkili makama bildirilmelidir.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion ve ilişkili logoları; Hologic, Inc. şirketinin ve/veya iştiraklerinin ABD ve/veya diğer ülkelerdeki ticari marka veya tescilli ticari markalarıdır.

Armored RNA, Asuragen, Inc. şirketinin ticari markasıdır.

Bu kullanma talimatında gösterilebilecek tüm diğer ticari markalar ilgili sahiplerinin malıdır.

Bu ürün, www.hologic.com/patents adresinde tanımlı bir veya daha fazla ABD patenti kapsamı altında olabilir.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Tüm hakları saklıdır.

AW-28214-3601 Rev. 002

2025-10

Revizyon Geçmişi	Tarih	Açıklama
AW-28214-3601 Rev. 001	Nisan 2025	• IVDR gereksinimlerini karşılamak için ilk sürüm.
AW-28214-3601 Rev. 002	Ekim 2025	• Bu sürüm AW-28214-001 Rev. 002 ve Rev. 003 ile uyumludur (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).