

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Упутство за употребу
За *in vitro* дијагностичку употребу
Само за извоз у САД

Опште информације	3
Намена	3
Сажетак и објашњење теста	3
Принципи процедуре	4
Сажетак безбедности и перформанси	5
Упозорења и мере предострожности	5
Захтеви у погледу складиштења и руковања реагенсима	9
Прикупљање и складиштење узорака	10
Узорци на систему Panther	13
Транспорт узорака	13
Систем Panther	14
Реагенси и материјали који се испоручују	14
Потребни материјали који су доступни засебно	16
Опциони материјали	17
Процедура тестирања на систему Panther	17
Напомене у вези са поступком	22
Контрола квалитета	23
Калибрација теста	23
Негативне и позитивне контроле	23
Интерни калибратор/интерна контрола	23
Тумачење резултата	24
Ограничења	26
Аналитичке перформансе	27
Ограничење за детекцију (LoD) коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1	27
Граница детекције међу подтипима и групама HIV-1	28
Линеарни опсег	29
Линеарност HIV-1 подтипова и група	30
Одређивање доње границе квантификације коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1	31
Верификација LLoQ кроз HIV-1 подтипове и групе	32
Прецизност	33
Потенцијално ометајуће ендогене и екзогене супстанце	34
Перформансе са HIV-1 негативним узорцима	36
Потенцијално ометајући микробни загађивачи	36
Могућност понављања за клиничке узорке	38
Разблаживање узорка коришћењем разблаживача узорка	39
Преношење	39
Панел сероконверзије	40
Студија еквиваленције серума и плазме	41
Студије поновљивости	41

Клиничке перформансе	44
Валидација квантификације вирусног оптерећења	44
Студије клиничке специфичности	45
Студије клиничке осетљивости	45
Позитивност у серодисхармонијским узорцима	46
Библиографија	47
Контакт информације и историја ревизија	49

Опште информације

Намена

Тест Aptima® HIV-1 Quant Dx assay је in vitro тест амплификације нуклеинске киселине за детекцију и квантификацију RNK вируса хумане имунодефицијенције типа 1 (HIV-1), групе М, N и О, на потпуно аутоматизованом систему Panther™. Намењен је за употребу као помоћ у дијагностиковању HIV-1 инфекције, као потврда за HIV-1 инфекцију и као помоћ за клиничко збрињавање пацијената инфицираних са вирусом HIV-1.

Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay може се користити као помоћ у дијагностици HIV-1 инфекције, укључујући акутну или примарну инфекцију. Присуство HIV-1 RNK у плазми или серуму пацијената без антитела на HIV-1 је индикација за акутну или примарну HIV-1 инфекцију. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay може се користити као додатни тест за узорке који имају поновљене реактивне резултате са одобреним HIV имунотестовима. Ако је узорак реактиван на тесту Aptima HIV-1 Quant Dx assay, HIV-1 инфекција је потврђена.

Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay може такође да се користи заједно са клиничком презентацијом и другим лабораторијским маркерима за прогнозу болести код појединаца инфицираних са HIV-1. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay може да се користи као помоћ за надзор ефекта антиретровиралне терапије мерењем промена у концентрацији HIV-1 RNK у плазми.

Када се тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay користи као помоћно средство у дијагностици HIV-1 инфекције, његова ефикасност за квалитативне резултате потврђена је и за узорке плазме и за узорке серума.* Када се користи као помоћно средство за праћење ефекта антиретровирусне терапије, ефикасност за квантитативне резултате је потврђена само за узорке плазме. Узорци серума се не могу користити за квантитативне резултате.

Овај тест није намењен за употребу у скринингу давалаца крви или плазме.

**Узорци са осушеном капи крви (Dried Blood Spot, DBS) могу се такође користити са тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Комплетан опис предвиђених намена и информација за DBS узорке потражите у Додатку за осушену кап крви упутства у паковању теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.*

Сажетак и објашњење теста

Епидемиолошке студије идентификовале су људски имунодефицијентни вирус типа 1 (HIV-1) као етиолошко средство стеченог имунодефицијентног синдрома (AIDS) (1-7). HIV може да се пренесе сексуалним контактом, услед излагања инфицираној крви или производима од крви или преносом са мајке на дете (8). У року од 3 до 6 недеља након излагања HIV-у, инфициране особе обично развијају краткотрајни акутни синдром који се одликује симптомима сличним грипу и који је повезан са високим нивоима вiremije у периферној крви (9-12). Код већине инфицираних особа, ову рану фазу прати имунолошка реакција која је специфична за HIV и смањење вiremije плазме, обично у оквиру од 4 до 6 недеља од почетка симптома (13-14). Након сероконверзије, заражене особе обично улазе у клинички стабилну, асимптоматску фазу која може трајати годинама (15-17). Асимптоматски период карактерише упорна вiremija плазме ниског нивоа (18) и постепено смањење CD4+ Т лимфоцита. Ово смањење доводи до озбиљне имунодефицијенције, вишеструких опортунистичких инфекција, малигнитета и смрти (19). Иако су нивои вируса у периферној крви релативно ниски током асимптоматске фазе инфекције, чини се да су репликација и елиминација вируса динамични процеси у којима се високе стопе продукције вируса и инфицирања CD4+ ћелија уравнотежују једнако високим стопама елиминације вируса, умирања инфицираних ћелија и обнове CD4+ ћелија, што доводи до релативно стабилних нивоа и плазма вiremije и CD4+ ћелија (20-22).

Квантитативна мерења HIV-а у периферној крви показала су да виши нивои вируса могу бити повезани са повећаним ризиком од клиничке прогресије болести повезане са HIV-ом, као и да смањење нивоа вируса у плазми може бити повезано са смањеним ризиком од клиничке прогресије (23-25). Нивои вируса у периферној крви могу се квантификовати мерењем HIV p24 антигена у серуму, квантитативном културом HIV-а из плазме или директним мерењем вирусне RNK у плазми помоћу технологија амплификације нуклеинске киселине или амплификације сигнала (26-30).

Молекуларне технике као што је транскрипционо посредовано појачање (ТМА) широко се користе за амплификацију нуклеинских киселина (31). ТМА користи специфично хватање циљне секвенце и изотермалну амплификацију за детекцију нуклеинских киселина код више инфективних болести, укључујући СТ, NG, HPV, TV и HIV/HCV/HBV у сврхе тестирања давалаца крви (32).

Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay, путем ТМА технологије, користи више дугих прајмера који циљају неколико региона HIV-1 генома како би се надокнадила висока стопа мутација код HIV-1. Тест укључује системе за амплификацију и детекцију са два циљна региона, који независно циљају два региона HIV-1 генома (pol и LTR). Софтвер теста не упросечава сигнале из два система.

Систем за двоструко циљање теста Aptima осмишљен је да повећа вероватноћу тачне детекције и квантификације узорка.

Принципи процедуре

Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay укључује три главна корака, који се сви обављају у једној епрувети на систему Panther: бележење циља, амплификација циља помоћу транскрипционо усмерене амплификације (ТМА) и детекцију производа амплификације (ампликон) помоћу флуоросцентно означених сонди (бакљи).

Током хватања циља, виралне нуклеинске киселине су изоловане из узорка. Узорак се третира са детергентом за растварање омотача вируса, денатурирање протеина и ослобађање геномске RNK вируса. Олигонуклеотиди за бележење се хибридују са високо очуваним регионима HIV-1 генома, ако постоје, у узорку за тестирање. Хибридувана мета се затим хвата на магнетне микрочестице које се одвајају од узорка у магнетном пољу. Кораци прања уклањају стране компоненте из реакционе епрувете.

До амплификације циља долази путем ТМА, који представља транскрипционо усредњену методу амплификације нуклеинске киселине који користи два ензима, реверзну транскриптазу вируса леукемије миша Moloney (MMLV) и полимеразу T7 RNK. Реверзна транскриптаза користи се за генерисање копије ДНК (која садржи низ промотера за T7 RNK полимеразу) за циљани низ. T7 RNK полимеразу производи више копија RNK ампликона из шаблона DNK копије. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay користи ТМА методу за амплификацију две области HIV-1 RNK (pol и LTR). Независан сигнал се генерише амплификацијом сваког региона помоћу специфичних прајмера, који су дизајнирани да амплификују HIV-1 групе M, N и O.

Детекција се остварује помоћу једноланчаних нуклеинских киселинских сонди које су присутне током амплификације сваког циља и које се специфично хибридују са ампликонима у реалном времену. Свака бакља има флуорофор и гасиоца. Када бакља није хибридувана у ампликону, гасилац је близу флуорофора и сузбија флуоресценцију. Када се бакља веже за ампликон, гасилац се помера даље од флуорофора и он ће емитовати сигнал на одређеној таласној дужини када је побуђен извором светлости. Како

се више бакљи хибридује са ампликоном, генерише се виши флуоресцентни сигнал. Време потребно да флуоресцентни сигнал сваког циља достигне одређени праг („tTime“) пропорционално је почетној концентрацији HIV-1. Свака реакција садржи унутрашњи калибратор/унутрашњу контролу (IC) који служи за контролу потенцијалних варијација у обради узорка, амплификацији и детекцији. Концентрација узорка се затим израчунава на основу tTimes вредности за амплификацију pol и LTR региона, помоћу софтвера система Panther. Помоћу свог алгоритма и поређења са сачуваним информацијама о калибрацији, софтвер система Panther враћа један, клинички валидиран резултат за сваки узорак.

Сажетак безбедности и перформанси

SSP (Сажетак безбедности и перформанси) доступан је у Европској бази података о медицинским производима (Eudamed), где је повезан са идентификаторима уређаја (Основни UDI-DI број уређаја). Да бисте пронашли SSP за тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay, погледајте основни јединствени идентификатор уређаја (BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Упозорења и мере предострожности

- A. За *in vitro* дијагностичку употребу.
- B. За професионалну употребу.
- C. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay није намењен за коришћење као скрининг тест за присуство HIV-1 у донираној крви.
- D. Да бисте смањили ризик од неважећих резултата, пажљиво прочитајте цело упутство уз паковање и *Panther/Panther Fusion™ Приручник за руковање системом* пре извођења овог теста.

Информације релевантне за лабораторију

- E.  ОПРЕЗ: Контроле за овај тест садрже људску плазму. Плазма је негативна на површински антиген хепатитиса Б (HBsAg), антитела на HCV, антитела на HIV-1 и HIV-2 и HIV антиген када се тестира по процедурама које је лиценцирала Администрација за храну и лекове у САД. Поред тога, плазма је нереактивна на HCV RNK и HIV-1 RNK када се тестира лиценцираним тестовима нуклеинске киселине користећи обједињене узорке. Све материјале изведене из људске крви треба сматрати потенцијално заразним и њима треба руковати уз универзалне мере предострожности (33-35).
- F. Само особље које је адекватно обучено за употребу теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay и за руковање потенцијално инфективним материјалима треба да изврши ову процедуру. Ако дође до изливања, одмах дезинфикујте према одговарајућим процедурама на локацији.
- G. Користите само испоручени или специфицирани лабораторијски прибор за једнократну употребу.
- H. Примењујте рутинске лабораторијске мере предострожности. Не пипетирајте устима. Немојте јести, пити нити пушити у наменским радним просторима. Носите једнократне рукавице без пудера, заштиту за очи и лабораторијске мантиле приликом руковања узорцима и реагенсима из комплета. Темељно оперите руке након руковања узорцима и реагенсима из комплета.

- I. Радне површине, пипете и друга опрема мора се редовно деконтаминирати коришћењем раствора натријум хипохлорита концентрације од 2,5% до 3,5% (0,35 M до 0,5 M).
- J. Сав материјал који је дошао у контакт са узорцима и реагенсима одложите у складу са регионалним прописима (33-36). Темељно очистите и дезинфикујте све радне површине.
- K. Контроле садрже натријум-азид као конзерванс. Не користите металне епрувете за пренос реагенса. Ако се раствори који садрже једињења натријум азида одлажу у водоводни систем, треба их разблажити и испрати великом количином текуће воде. Ове мере предострожности се препоручују да би се избегло накупљање наслага у металним цевима у којима би се могли развити експлозивни услови.
- L. Добре стандардне праксе за молекуларне лабораторије укључују праћење животне средине. За праћење окружења у лабораторији, предлаже се следећи поступак.
 - 1. Узмите брис са штапићем памучним врхом и упарите га са Aptima® епруветом за аликвотирање узорка (SAT).
 - 2. Означите сваки SAT на одговарајући начин.
 - 3. Напуните сваку SAT епрувету са 1 mL Aptima® средства за разблаживање узорка.
 - 4. Да бисте сакупили површинске узорке, лагано навлажите тампон дејонизованом водом без нуклеазе.
 - 5. Обришите површину која вас занима вертикалним покретима од врха до дна. Окрените брис за отприлике пола окрета док бришете локацију.
 - 6. Одмах ставите узорак бриса у епрувету и нежно окрените брис у разблаживачу да бисте извукли потенцијалне материјале за брис. Притисните штапић са стране епрувете за транспорт да бисте извукли што је могуће више течности. Одбаците брис и затворите епрувету.
 - 7. Поновите кораке за преостале узорке брисева.
 - 8. Тест брис са молекуларним тестом.

Информације релевантне за узорак

- M. Узорци могу бити заразни. Придржавајте се универзалних мера предострожности (33-35) приликом извођења овог теста. Правилно руковање и методе одлагања потребно је успоставити у складу са локалним прописима (36). Само особље које је адекватно обучено за употребу теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay и обучено за руковање инфективним материјалима треба да изврши ову процедуру.
- N. Одржавајте одговарајуће услове складиштења током транспорта узорка како бисте осигурали интегритет узорка. Стабилност узорка у условима слања осим оних препоручених није процењена.
- O. Избегавајте унакрсну контаминацију током корака руковања узорцима. Будите посебно опрезни да избегнете контаминацију ширењем аеросола приликом лабављења или скидања поклопца узорка. Узорци могу садржавати изузетно високе нивое организама. Уверите се да посуде са узорцима не додирују једна другу и баците коришћене материјале без проласка преко отворене посуде. Замените рукавице ако дођу у контакт са узорком.

Информације релевантне за тест

- P. Квантитативни резултати теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay су оцењивани помоћу плазме. Серум се не може користити за добијање квантитативних резултата. Квалитативни резултати су процењени и са плазмом и са серумом. Употреба овог комплета теста са узорцима који нису посебно одобрени за употребу са овим комплетом теста може довести до нетачних резултата тестирања.
- Q. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay је клинички валидиран помоћу алгорита у софтверу система Panther. Валидирани резултат који се пријављује обезбеђује софтвер система Panther на екрану са резултатима и у извештају о резултатима.
- R. Немојте користити комплет реагенса, калибратор или контроле након истека рока трајања.
- S. Немојте мењати, мешати или комбиновати реагенсе за тест из комплета са различитим главним бројевима серије. Тачности за тестирање могу бити из различитих серија. Контроле и калибратор могу бити из различитих серија.
- T. Избегавајте микробну и нуклеазну контаминацију реагенса.
- U. Затворите реагенсе за тест и држите их на наведеним температурама. На ефикасност резултата теста може утицати неправилно складиштење комплета реагенса за тест. За више информација погледајте *Захтеви у погледу складиштења и руковања реагенсима* и *Опциони материјали*.
- V. Немојте комбиновати никакве реагенсе за тест или тачности без посебних упутстава. Не допуњавајте реагенсе или тачности. Систем Panther проверава нивое реагенса.
- W. Неки реагенси у овом комплету су означени уз информације о опасностима.

Напомена: *Комуникација о опасностима одражава класификације према Безбедносном листу (SDS) ЕУ. За информације о комуникацији о опасностима које су специфичне за ваш регион, погледајте Безбедносни лист (SDS) специфичан за регион у библиотеци безбедносних листова на сајту www.hologicsds.com. За више информација о симболима, погледајте легенду симбола на сајту www.hologic.com/package-inserts.*

Информације о опасностима за ЕУ	
—	Amplification Reagent Magnesium Chloride 60–65% — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
—	Enzyme Reagent HEPES 1–5% Triton X-100 1–5% — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobađanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.

—	Enzyme Reconstitution Reagent <i>Glycerol 20–25%</i> <i>Triton X-100 5–10%</i> <i>HEPES 1–5%</i> — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobođanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
—	Promoter Reagent <i>Magnesium Chloride 60–65%</i> — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobođanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
—	Target Capture Reagent <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%</i> <i>Succinic Acid 1–5%</i> — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobođanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.
  	HIV VL Kit Controls <i>Ljudski serum/ljudska plazma 95–100%</i> <i>Hampujm-a3uđ < 1%</i> OPASNOST H300 - Smrtonosno ako se proguta. H410 - Veoma toksično po živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P264 - Oprati lice, ruke i svu izloženu kožu detaljno nakon rukovanja. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobođanje u životnu sredinu. P301 + P310 - AKO SE PROGUTA: Hitno pozvati CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili se obratiti lekaru. P321 - Specifičan tretman (videti dodatna uputstva za prvu pomoć na ovoj etiketi). P330 - Isprati usta. P391 - Sakupiti prosuti sadržaj.
—	HIV VL Kit Calibrators <i>HEPES 15–20%</i> <i>Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10%</i> <i>Lithium Hydroxide, Monohydrate 1–5%</i> <i>Succinic Acid 1–5%</i> — H412 - Štetno za živi svet u vodi sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje/oslobođanje u životnu sredinu. P501 - Odlaganje sadržaja/ambalaže u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.

Захтеви у погледу складиштења и руковања реагенсима

- A. Табела у наставку приказује услове складиштења и стабилност за реагенсе, контроле и калибратор.

Реагенс	Складиштење неотвореног производа	Отворени комплет (реконституисан)	
		Складиштење	Стабилност
qHIV-1 амплификациони реагенс	од 2 °C до 8 °C		
qHIV-1 реконституциони раствор за амплификацију	од 2 °C до 8 °C	од 2°C до 8 °C	30 дана ^a
qHIV-1 ензимски реагенс	од 2 °C до 8 °C		
qHIV-1 раствор за реконституцију ензима	од 2 °C до 8 °C	од 2°C до 8 °C	30 дана ^a
qHIV-1 промотер реагенс	од 2 °C до 8 °C		
qHIV-1 раствор за реконституцију промотера	од 2 °C до 8 °C	од 2°C до 8 °C	30 дана ^a
qHIV-1 реагенс за бележење циља	од 2 °C до 8 °C	од 2 °C до 8 °C	30 дана ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (Негативна контрола)	од -15 °C до -35 °C	од 15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати
qHIV-1 LPC CONTROL + (Ниска позитивна контрола)	од -15 °C до -35 °C	од 15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати
qHIV-1 HPC CONTROL + (Висока позитивна контрола)	од -15 °C до -35 °C	од 15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати
qHIV-1 PCAL (Позитивни калибратор)	од -15 °C до -35 °C	од 15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати

^a Када се реагенси уклоне из система Panther, треба их одмах вратити на одговарајућу температуру складиштења.

- B. Одбаците све неискоришћене реконституисане реагенсе и реагенс за хватање циља (TCR) после 30 дана или после датума истека главне серије, шта год наступи прво.
- C. Реагенси који се чувају у систему Panther имају 72 сата стабилности. Реагенси се могу убацити у систем Panther до 8 пута. Систем Panther евидентира сваки пут када се реагенси поставе.
- D. Након одмрзавања калибратора, раствор мора бити бистар, односно не сме бити замућен или имати талог.
- E.  Промотер реагенс и реконституисани промотер реагенс су фотосензитивни. Заштитите ове реагенсе од светлости током складиштења и припреме за употребу.

Прикупљање и складиштење узорак

Напомена: Рукујте свим узорцима као да садрже потенцијално инфективна средства. Примењујте универзалне мере предострожности.

Напомена: Водите рачуна о томе да избегнете унакрсну контаминацију током корака руковања узорцима. На пример, одбаците коришћени материјал без проласка преко отворених епрувета.

Напомена: Препоручује се искључиво употреба пластичних секундарних епрувета за складиштење.

Могу се користити узорци пуне крви прикупљени у следећим стакленим или пластичним епруветама:

За квантитативна мерења:

- Епрувете које садрже EDTA или антикоагулансе кисели цитрат декстрозе (Acid Citrate Dextrose, ACD) или
- Епрувете за припрему плазме (Plasma Preparation Tubes, PPT).

За квалитативно одређивање:

- Епрувете које садрже EDTA или ACD антикоагулансе, или
- PPT-ови, или
- Епрувете са серумом, или
- Епрувете за одвајање серума (Serum Separator Tubes, SST).

За серум, пустите да се формира угрушак пре даље обраде.

А. Прикупљање узорак

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C и мора се центрифугирати у року од 24 сата од прикупљања узорка. Одвојите плазму или серум од пелетираних црвених крвних зрнаца пратећи упутства произвођача за епрувету која се користи. Плазма или серум могу се тестирати на систему Panther у примарној епрувети или након преношења у секундарну епрувету. Да би се добио реакциони волумен од 500 µL, минимална запремина плазме или серума за примарне епрувете за прикупљање је до 1200 µL, а за секундарне епрувете минимална запремина је 700 µL. Табела у наставку приказује захтеве у погледу мртвог волумена за сваку врсту примарне и секундарне епрувете:

Епрувета (величина и врста)	Мртви волумен на систему Panther
Aptima аликвотна епрувета за узорке (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm са гелом	0,3 mL
16 x 100 mm са гелом	0,7 mL

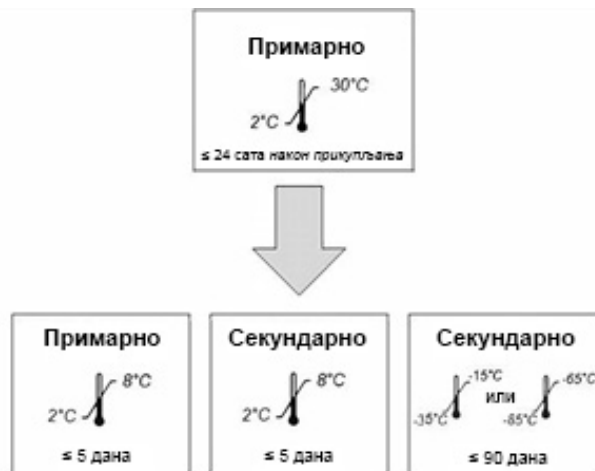
Ако се тестирање не изврши одмах, плазма или серум могу се складиштити у складу са доле наведеним спецификацијама. Ако се узорак пренесе у секундарну епрувету, плазма се може замрзнути на -20 °C или -70 °C, а серум се може замрзнути на -20 °C. Не треба прелазити више од три циклуса замрзавања и одмрзавања како се резултат не би нарушио. Немојте замрзавати узорке у EDTA, ACD или примарним епруветама за прикупљање серума.

В. Услови складиштења узорка

1. EDTA и ACD узорци плазме

До 24 сата након прикупљања узорка, примарне епрувете које садрже центрифугирану плазму могу да се чувају на температури од 2 °C до 30 °C (Слика 1, горња кутија). Након 24 сата, плазма се може чувати на дужи временски период под једним од следећих услова (Слика 1, доње кутије):

- У примарној епрувети за прикупљање на 2 °C до 8 °C до 3 дана,
- У секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- У секундарној епрувети на -20 °C или -70 °C до 90 дана.

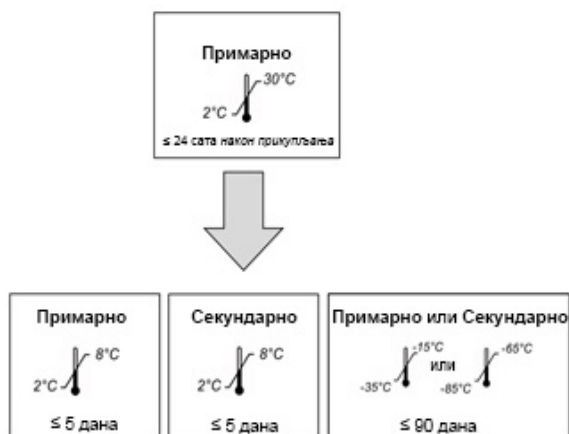


Слика 1. Услови складиштења за EDTA/ACD епрувете

2. PPT узорци

До 24 сата након прикупљања узорка, PPT-ови који садрже центрифугирану плазму могу се чувати на 2 °C до 30 °C (Слика 2, горња кутија). Након 24 сата, плазма се може чувати на дужи временски период под једним од следећих услова (Слика 2, доње кутије):

- У PPT на 2 °C до 8 °C за до 3 дана,
- У секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- У PPT или секундарној епрувети на -20 °C или -70 °C до 90 дана.

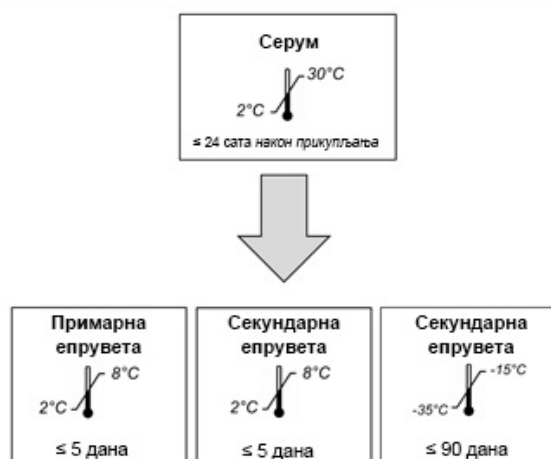


Слика 2. Услови складиштења за PPT

3. Епрувете за узорке серума

До 24 сата након прикупљања узорка, епрувете за серум које садрже центрифугирани серум могу да се чувају на температури од 2 °C до 30 °C (Слика 3, горња кутија). Након 24 сата, серум се може чувати на дужи временски период под једним од следећих услова (Слика 3, доње кутије):

- у секундарној епрувети за серум на 2 °C до 8 °C до 5 дана,
- У секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- у секундарној епрувети на -20 °C до 90 дана.

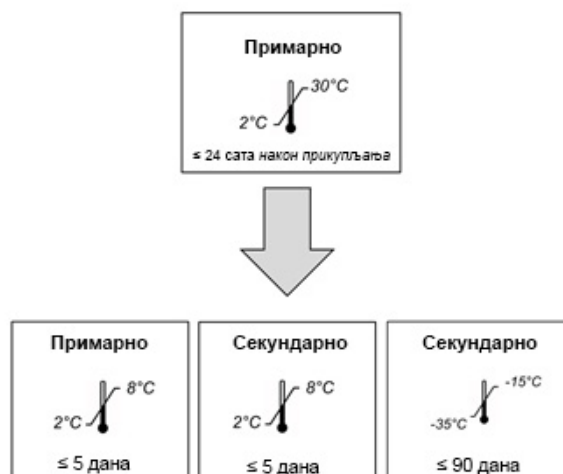


Слика 3. Услови складиштења епрувета са серумом

4. SST узорци

До 24 сата након прикупљања узорка, SST епрувете које садрже центрифугирани серум могу да се чувају на температури од 2 °C до 30 °C (Слика 4, горња кутија). Након 24 сата, серум се може чувати на дужи временски период под једним од следећих услова (Слика 4, доње кутије):

- у SST епрувети на температури 2 °C до 8 °C до 5 дана,
- У секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- у секундарној епрувети на -20 °C до 90 дана.



Слика 4. Услови складиштења за SST

С. Разблаживање узорака плазме

Напомена: Узорак плазме се може разблажити у SAT или секундарној епрувети за тестирање на систему Panther. За више информација видите Процедура тестирања на систему Panther, корак Е.4.

Напомена: Ако је узорак разблажен, треба га тестирати одмах након разблажења. Не замрзавајте разблажени узорак.



Напомена: Разблаживање узорака плазме може се користити само за квантитативне резултате. Не разблажујте узорке плазме за дијагностичке резултате.

Узорци на систему Panther

Узорци се могу оставити на систему Panther неотворени до укупно 8 сати. Узорци се могу уклонити из система Panther и тестирати све док укупно време на систему не прелази 8 сати пре пипетирања узорка помоћу Panther система.

Транспорт узорака

Одржавајте услове складиштења узорака као што је описано у одељку Прикупљање и складиштење узорака.

Напомена: Узорци морају да се испоручују у складу са важећим националним, међународним и регионалним прописима о транспорту.

Систем Panther

Реагенси за тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay су наведени у наставку за систем Panther. Идентификациони симболи реагенса су такође наведени поред назива реагенса.

Реагенси и материјали који се испоручују

Комплет теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

100 тестова (1 тест комплет, 1 комплет калибратора и 1 комплет контрола)
(кат. бр. PRD-03000)

Додатне калибраторе и контроле можете наручити одвојено. Погледајте одговарајуће каталошке бројеве у наставку.

Комплет теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

(по пријему чувати на температури од 2 °C до 8 °C)

Симбол	Компонента	Количина
A	qHIV-1 амплификациони реагенс <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферованом раствору.</i>	1 бочица
E	qHIV-1 ензимски реагенс <i>Реверзна транскриптаза и RNK полимераза осушене у HEPES пуферованом раствору.</i>	1 бочица
PRO	qHIV-1 промотер реагенс <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферованом раствору.</i>	1 бочица
AR	qHIV-1 реконституциони раствор за амплификацију <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHIV-1 раствор за реконституцију ензима <i>HEPES пуферовани раствор који садржи сурфактант и глицерол.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHIV-1 раствор за реконституцију промотера <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHIV-1 реагенс за бележење циља <i>Нуклеинске киселине у пуферованом раствору соли који садржи чврсту фазу, неинфективне нуклеинске киселине и унутрашњи калибратор.</i>	1 x 72,0 mL
	Обујмице за реконституцију	3
	Лист бар кодова главне серије	1 лист

Aptima HIV-1 Quant Dx Calibrator комплет (кат. бр. PRD-03001)
(по пријему чувати на температури од -15 °C до -35 °C)

Симбол	Компонента	Количина
PCAL	qHIV-1 позитивни калибратор <i>Транскрипт у пуферском раствору.</i>	5 x 2,5 mL
	Налепница са бар-кодом калибратора	—

Aptima HIV-1 Quant Dx комплет контрола (кат. бр. PRD-03002)
(по пријему чувати на температури од -15 °C до -35 °C)

Симбол	Компонента	Количина
NC	qHIV-1 негативна контрола <i>HIV-1 негативна дефибринисана људска плазма која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	qHIV-1 ниска позитивна контрола <i>Неинфективна HIV-1 Armored RNK у дефибринисаној људској плазми која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 1,5 mL
HPC	qHIV-1 висока позитивна контрола <i>Неинфективна HIV-1 Armored RNK у дефибринисаној људској плазми која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 1,5 mL
	Налепница са бар-кодом контроле	—

Потребни материјали који су доступни засебно

Напомена: Материјали које испоручује компанија Hologic имају наведене каталожке бројеве, осим ако није другачије наведено.

Материјал	Кат. бр.
Систем Panther	303095
Систем Panther Fusion	PRD-04172
Континуиране течности и отпад за систем Panther (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx комплет калибратора	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx комплет контрола	PRD-03002
Panther™ комплет за извођење теста у реалном времену (само за тестове у реалном времену)	PRD-03455 (5000 тестова)
Aptima® комплет течности за тестирање (познат и као универзални комплет течности) <i>садржи Aptima® Wash Solution, Aptima® Buffer for Deactivation Fluid и Aptima® Oil Reagent</i>	303014 (1000 тестова)
<i>Јединице са више епрувета (енгл. Multi-tube units, MTU)</i>	104772-02
<i>Panther™ комплет за корпу за смеће</i>	902731
<i>Panther™ поклопац корпе за смеће</i>	504405
Или, комплет за извођење теста на систему Panther™ (при извођењу ТМА тестова који нису у реалном времену паралелно са ТМА тестовима у реалном времену) <i>садржи MTU јединице, кесе за отпад, поклопце за канте за отпад, аутоматску детекцију и тестне течности</i>	303096 (5000 тестова)
Врхови пипета, 1000 µL, филтрирани, проводљиви, осетљиви на течност и за једнократну употребу <i>Нису сви производи доступни у свим регионима. Обратите се свом представнику за информације које су специфичне за регион</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Избељивач 5% до 8,25% (0,7 М до 1,16 М) раствор натријум хипохлорита	—
Рукавице без пудера за једнократну употребу	—
Заменски поклопци за реагенс <i>Бочице за реконституцију реагенса за амплификацију, ензим и промотор</i> <i>TCR боца</i>	CL0041 (100 поклопаца) CL0040 (100 поклопаца)
Покривачи лабораторијских клупа са пластичним задњим делом	—
Марамике које не остављају длачице	—
Пипетор	—
Врхови	—
Опције примарних епрувета за прикупљање (EDTA, ACD, PPT, SST, серум): <i>13 mm x 100 mm</i> <i>13 mm x 75 mm</i> <i>16 mm x 100 mm</i>	— — —
Центрифуга	—
Мешалица Vortex	—

Опциони материјали

Материјал	Кат. бр.
Опције за секундарну епрувету:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Аptima епрувете за аликвотирање узорка (SAT-ови) (100 у пакету)	FAB-18184
Поклопац епрувете за транспорт (100 у пакету) поклопац за SAT	504415
Аptima разблаживач за узорак	PRD-03003
Аptima комплет за разблаживање узорка садржи разблаживач узорка, 100 SAT епрувета и 100 поклопаца	PRD-03478
Пипете за пренос	—
Комерцијално доступни панели, на пример: HIV-1 из Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) или Панел за процену вирусног оптерећења HIV-а Колеџа америчких патолога (CAP) или SeraCare ACCURUN HIV панели	—
Штапићи са памуком за брисове	—
Клацкалица за епрувету	PRD-03488

Процедура тестирања на систему Panther

Напомена: Погледајте Приручник за кориснике система Panther / Panther Fusion за додатне информације о поступку.

А. Припрема радног подручја

1. Очистите радне површине на којима ће се припремати реагенси. Обришите радне површине 2,5–3,5% раствором натријум хипохлорита (0,35–0,5 M). Сачекајте да раствор натријум хипохлорита буде у контакту са површинама најмање 1 минут а затим исперите дејонизованом водом (енгл. deionized, DI). Не дозволите да се раствор натријум хипохлорита осуши. Покријте радну површину лабораторијског стола на којем ће се припремати реагенси и узорци чистим упијајућим навлакама са пластифицираном полеђином.
2. Очистите посебну радну површину на којој ће се припремати узорци. Примените процедуру описану изнад (корак А.1).
3. Очистите све пипеторе. Примените процедуру описану изнад (корак А.1).

В. Припрема калибратора и контрола

Оставите калибратор и контроле да достигну 15 °C до 30 °C пре обраде на следећи начин:

1. Уклоните калибратор и контроле из складишта (-15 °C до -35 °C) и оставите на 15 °C до 30 °C. Током процеса одмрзавања, нежно окрените сваку епрувету да бисте се добро промешали. Уверите се да је садржај епрувете потпуно одмрзнут пре употребе.

Опција. Калибратор и контролне епрувете могу да се поставе на клацкалицу за епрувете ради темељног мешања. Уверите се да је садржај епрувете потпуно одмрзнут пре употребе.

Напомена: Избегавајте стварање претеране пене приликом обртања калибратора и контрола. Пена омета мерење нивоа у систему Panther.

2. Када се садржај епрувете одмрзне, осушите спољашњу страну епрувете чистом, сувом марамicom за једнократну употребу.
3. Да бисте спречили контаминацију, не отварајте епрувете у овом тренутку.

С. Реконституција реагенса/припрема новог комплета

Напомена: Реконституцију реагенса треба извршити пре почетка било каквог рада на систему Panther.

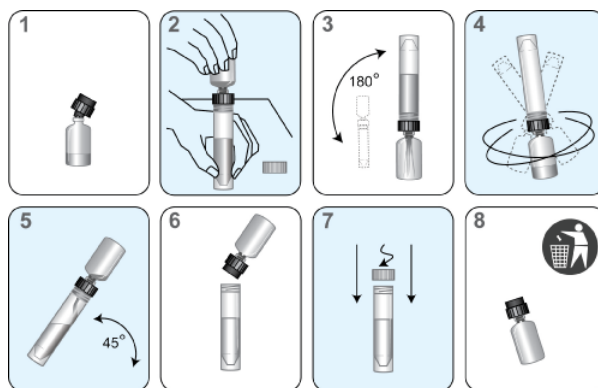
1. Да бисте припремили реагенс за хватање циља (TCR), урадите следеће:
 - a. Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C). Проверите број серије на TCR боци да бисте се уверили да се поклапа са бројем серије на листу бар кодова главне серије.
 - b. Одмах снажно протресите TCR боцу 10 пута. Дозволите да TCR боце остану на температури од 15 °C до 30 °C да би се угрејале бар 45 минута. Током овог периода, завртите и окрените TCR боцу на сваких 10 минута.

Опција. TCR боца се може припремити на клацкалици за епрувету пратећи ова упутства: Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C) и одмах снажно протресите 10 пута. Поставите TCR боцу на клацкалицу и оставите TCR на 15 °C до 30 °C да се загреје најмање 45 минута.

- c. Уверите се да је сав талог у раствору и да су магнетне честице суспендоване пре употребе.
2. Да бисте реконституисали реагенсе за амплификацију, ензим и промотер, урадите следеће:
 - a. Уклоните лиофилизоване реагенсе и одговарајуће растворе за реконституцију из складишта (2 °C до 8 °C). Упарите сваки раствор за реконституцију са његовим лиофилованим реагенсом.
 - b. Уверите се да раствор за реконституцију и лиофиловани реагенс имају одговарајуће боје на етикети. Проверите бројеве серија на листу бар кодова главне серије да бисте били сигурни да су упарени одговарајући реагенси.
 - i. Отворите бочицу са лиофилованим реагенсом уклањањем металне заптивке и гуменог чепа.
 - ii. Чврсто уметните урезани крај обујмице за реконституцију (црни) на бочицу (Слика 5, корак 1).

- iii. Отворите одговарајућу боцу раствора за реконституцију и поставите поклопац на чисту, покривену радну површину.
- iv. Поставите боцу са раствором за реконституцију на стабилну површину (нпр. клупу). Затим окрените бочицу са лиофилизованом реагенсом преко бочице са раствором за реконституцију и чврсто причврстите обујмицу на бочицу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 2).
- v. Полако преокрените састављене бочице (бочица причвршћена за бочицу са раствором) да бисте омогућили да раствор исцури у стаклену бочицу (Слика 5, корак 3).
- vi. Подигните састављене бочице и вртите их најмање 10 секунди (Слика 5, корак 4).
- vii. Сачекајте најмање 30 минута да лиофилизовани реагенс пређе у раствор.
- viii. Након што је лиофилизовани реагенс отишао у раствор, мешајте састављене боце најмање 10 секунди, а затим лагано протресите раствор у стакленој бочици напред-назад да се добро промеша.
- c. Полако поново нагните састављене бочице да бисте омогућили да се сав раствор исцеди назад у бочицу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 5).
- d. Пажљиво уклоните обујмицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 5, корак 6).
- e. Поново затворите боцу. Забележите иницијале оператера и датум реконституције на етикети (Слика 5, корак 7).
- f. Одбаците обујмицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 5, корак 8).

Упозорење: Избегавајте стварање превелике пене приликом реконституисања реагенса. Пена омета мерење нивоа у систему Panther.



Слика 5. Процес реконституције реагенса

D. Припрема реагенса за претходно припремљене реагенсе

1. Уклоните претходно припремљене реагенсе из складишта (2 °C до 8 °C).
2. Претходно припремљени реагенси за амплификацију, ензим, промотор и TCR морају достићи 15 °C до 30 °C пре почетка теста.
3. За претходно припремљен TCR, извршите корак C.1 наведен изнад пре убацивања на систем.

4. Завртите и окрените реагенсе за појачавање, ензим и промотор да се добро измешају пре убацивања у систем. Избегавајте стварање превелике пене приликом инвертовања реагенса.

Опција: Претходно припремљени реагенси се могу припремити на клацкалицу за епрувету у складу са овим упутствима: Уклоните реагенсе из складишта (од 2 °C до 8 °C). Поставите реагенсе на клацкалицу за епрувету и оставите да се загрева на температури од 15 °C до 30 °C најмање 30 минута.

5. Не препуњавајте боце за реагенсе. Систем Panther препознаје и одбацује препуњене боце.

Е. Руковање узорком

1. Уверите се да су обрађени узорци у примарним епруветама или неразређени узорци у секундарним епруветама правилно ускладиштени по *Прикупљање и складиштење узорака*.
2. Уверите се да су смрзнути узорци добро одмрзнути. Одмрзнуте узорке мешајте у мешалици Vortex 3 до 5 секунди да се добро измешају.
3. Дозволите узорцима да достигну температуру од 15 °C до 30 °C пре обраде. Погледајте *Узорци на систему Panther* за додатне информације о раду на инструменту.
4. Уверите се да свака примарна епрувета за прикупљање садржи до 1 200 µL узорка или да сваки SAT садржи најмање 700 µL узорка. Погледајте приложену табелу у *Прикупљање и складиштење узорака* да бисте идентификовали захтеве мртве запремине за сваку врсту примарне и секундарне епрувете. Ако је неопходно разређивање узорка, погледајте корак Е.5 у наставку за додатне информације.
5. Разблажите узорак плазме у односу 1:3 у SAT епрувети или у односу 1:100 у секундарној епрувети.

Узорак плазме се може разблажити у секундарној епрувети за тестирање на систему Panther.



Напомена: Разблаживање узорака плазме може се користити само за квантитативне резултате. Не разблажујте узорке плазме за дијагностичке резултате.

Напомена: Ако је узорак разблажен, мора се тестирати одмах након разблаживања.

а. Разблаживање узорака мале запремине

Запремина узорака плазме може се повећати на минималну потребну запремину (700 µL) за коришћење Aptima средства за разблаживање узорка. Узорци са најмање 240 µL плазме могу се разблажити са два дела разблаживача узорка (1:3) на следећи начин:

- i. Ставите 240 µL узорка у SAT.
- ii. Додајте 480 µL Aptima средства за разблаживање узорка.
- iii. Затворите епрувету.
- iv. Лагано окрените 5 пута да се промеша.

Узорци разблажени на 1:3 могу се тестирати коришћењем опције 1:3 на систему Panther (погледајте *Приручник за корисника система Panther/Panther Fusion System* за више информација). Софтвер ће аутоматски извести уредан резултат применом фактора разблажења. Ови узорци ће бити означени као разблажени узорци.

b. Разблаживање узорка високог титра

Ако је резултат узорка изнад горње границе квантификације, може се разблажити са 99 делова Aptima разблаживача узорка (1:100) на следећи начин:

- i. Ставите 30 µL узорка у SAT или секундарну епрувету.
- ii. Додајте 2 970 µL Aptima средства за разблаживање узорка.
- iii. Затворите епрувету.
- iv. Лагано окрените 5 пута да се промеша.

Узорци разблажени на 1:100 могу се тестирати коришћењем опције 1:100 на систему Panther (погледајте *Приручник за корисника система Panther/Panther Fusion System* за више информација). Софтвер ће аутоматски извести уредан резултат применом фактора разблажења. Ови узорци ће бити означени као разблажени узорци.

Напомена: За разблажене узорке са чистим концентрацијама већим од ULoQ, резултати ће бити пријављени користећи научну нотацију.

6. Непосредно пре постављања узорка у сталак за узорке, центрифугирајте сваки узорак на од 1000 до 3000g 10 минута. Не скидајте поклопце. Мехурићи у епрувети могу да угрозе детекцију нивоа од стране система Panther.

Погледајте *Припрема система*, корак F.2 у наставку, за информације о пуњењу сталка и уклањању поклопаца.

F. Припрема система

1. Подесите систем у складу са упутствима у *Приручнику за корисника система Panther/Panther Fusion* и *Напомене у вези са поступком*. Уверите се да се користе сталци за реагенсе и TCR адаптери одговарајуће величине.

2. Убаците узорке у сталак за узорке. Извршите следеће кораке за сваку епрувету за узорке (узорак и, када је потребно, калибратор и контроле):

- a. Олабавите један поклопац епрувете за узорак, али га још увек немојте скидати.

Напомена: Будите посебно опрезни да избегнете контаминацију ширењем аеросола. Нежно олабавите поклопце на узорцима.

- b. Ставите епрувету за узорке у сталак за узорке.

- c. Поновите кораке а и б за сваки преостали узорак.

- d. Након што су узорци убачени у сталак за узорке, уклоните и баците сваки поклопац епрувете за узорке у једном сталку за узорке. Да бисте избегли контаминацију, не прелазите поклопцем преко других сталака за епрувете или епрувета за узорке.

- e. Ако је потребно, користите нову пипету за једнократну употребу да бисте уклонили мехуриће или пену.

- f. Када се уклони последњи поклопац, убаците сталак за узорке у одељак за узорке.

Напомена: Ако истовремено обрађујете друге тестове и врсте узорка, обезбедите држач узорка пре постављања сталка за узорке у одељак за узорке.

- g. Поновите кораке од а до ф за следећи сталак за узорке.

Напомене у вези са поступком

А. Калибратори и контроле

1. Епрувете са позитивним калибратором qHIV-1, ниском позитивном контролом qHIV-1, високом позитивном контролом qHIV-1 и негативном контролом qHIV-1 могу се поставити на било коју позицију у сталку за узорке и у било коју траку у одељку за узорке на систему Panther. Пипетирање узорка ће почети када се испуни један од следећа два услова:
 - a. Систем тренутно обрађује калибратор и контроле.
 - b. Важећи резултати за калибратор и контроле су регистровани у систему.
2. Након што се епрувете калибратора и контрола пипетирају и обраде за комплет реагенса за тест Aptima HIV-1 Quant Dx, узорци могу да се тестирају са повезаним, реконституционим комплетом за до 24 сата **осим ако**:
 - a. Резултати калибратора или контроле су неважећи.
 - b. Повезани комплет реагенса за тест се уклања из система.
 - c. одговарајући комплет реагенса комплета премаши граничне вредности стабилности.
3. калибратор и свака контролна епрувета могу се користити једном. покушаји за употребу епрувете једном могу да доведу до грешака приликом обраде.

В. Пудер из рукавица

Као и у сваком систему реагенса, вишак пудера на неким рукавицама може изазвати контаминацију отворених епрувета. Препоручују се рукавице без пудера.

Контрола квалитета

Оператер може поништити резултате теста или узорка ако се уоче техничке потешкоће, потешкоће оператора или инструмента током извођења теста и ако су оне документоване. У овом случају, узорци морају да се тестирају поново.

Калибрација теста

Да би се добили валидни резултати, калибрација теста мора бити завршена. Један позитивни калибратор се изводи у три примерка сваки пут када се комплет реагенса убаци у систем Panther. Када се успостави, калибрација важи до 24 сата. Софтвер на систему Panther упозорава оператора када је потребна калибрација. Оператер скенира коефицијент калибрације који се налази на листу бар кодова главне серије која се испоручује са сваким комплетом реагенса.

Током обраде, критеријуми за прихватање калибратора се аутоматски верификују софтвером на систему Panther. Ако је мање од две репликације калибратора важеће, софтвер аутоматски поништава рад. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем свеже припремљеног калибратора и свеже припремљених контрола.

Негативне и позитивне контроле

Да би се генерисали валидни резултати, скуп контрола теста мора бити тестиран. Једна реплика негативне контроле, ниске позитивне контроле и високе позитивне контроле мора се тестирати сваки пут када се комплет реагенса убаци у систем Panther. Једном успостављене контроле важе 24 сата. Софтвер на систему Panther упозорава оператора када су потребне контроле.

Током обраде, критеријуми за прихватање контрола су аутоматски верификовани софтвером на систему Panther. Да би резултати били валидни, негативна контрола мора дати резултат „Није детектовано“, а позитивне контроле морају дати резултате унутар унапред дефинисаних параметара (циљна вредност LPC: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ копије/mL, циљна вредност НРС: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ копије/mL). Ако било која од контрола има неважећи резултат, софтвер аутоматски поништава покретање. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем свеже припремљеног калибратора и свеже припремљених контрола.

Интерни калибратор/интерна контрола

Сваки узорак садржи интерни калибратор/интерну контролу (Internal Calibrator/Internal Control, IC). Током обраде, критеријуми прихватања IC-а су аутоматски верификовани од стране софтвера система Panther. Ако је IC резултат неважећи, резултат узорка је неважећи. Сваки узорак са неважећим IC резултатом мора бити поново тестиран да би се добио валидан резултат. Софтвер система Panther је осмишљен тако да прецизно верификује процесе када се процедуре изводе у складу са упутствима која се налазе у овом упутству у паковању и *Приручнику за корисника система Panther/Panther Fusion*.

Тумачење резултата

Напомена: Квантитативни резултати теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay су оцењивани помоћу плазме. Серум се не може користити за добијање квантитативних резултата. Квалитативни резултати су процењени и са плазмом и са серумом.

Систем Panther аутоматски одређује концентрацију HIV-1 RNK за узорке и контроле упоређивањем резултата са калибрационом кривом. HIV-1 RNK концентрације су пријављене у копијама/mL и $\log_{10}$ копије/mL. Интерпретација резултата је обезбеђена у Табела 1. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay има системе за појачање и детекцију са два циљна региона, који независно циљају pol и LTR регионе. Резултат који систем пријављује засниваће се на примарном систему, pol, осим у случају да pol није амплификован. У тим случајевима, систем ће пријавити резултат из секундарног система, LTR.

Ако се за разблажене узорке користи разблаживање 1:3 или 1:100, систем Panther аутоматски израчунава концентрацију HIV-1 за чист узорак множењем разређене концентрације фактором разблажења и разблажени узорци се означавају као разблажени.

Напомена: За разблажене узорке, резултати наведени као „Није откривено“ или „< 30 откривено“ могу се добити разблаживањем узорка са концентрацијом изнад, али близу LoD (граница детекције) или LLoQ (доња граница квантитације). Препоручује се узимање и тестирање још једног неразблаженог узорка ако се не добије квантитативни резултат.

Систем Panther не даје квалитативни резултат (тј. „Реактиван“ или „Нереактиван“) за дијагностичку употребу. Оператер мора да протумачи пријављену концентрацију HIV-1 RNK у квалитативни резултат (Табела 1). Узорци са резултатима наведеним као „Није откривено“ нису реактивни за HIV-1 RNK. Узорци са резултатима наведеним као „< 30 детектовано“ или са резултатима унутар или изнад линеарног опсега указују на то да је HIV-1 RNK детектована и да су ти узорци реактивни на HIV-1 RNK.

Табела 1: Тумачење резултата

Пријављено Aptima HIV-1 Quant Резултат теста Dx Assay		HIV-1 RNK концентрација Тумачење	Квалитативна интерпретација дијагностике корисника ^c
Примерци/mL ^a	Log ₁₀ вредност ^b		
Није откривено	Није откривено	HIV-1 RNK није откривен.	Није реактивно за HIV-1 RNK
< 30 детектовано	< 1,47	HIV-1 RNK је откривен али на нивоу испод LLoQ.	Реактивно на HIV-1 RNK
од 30 до 10000000	од 1,47 до 7,00	HIV-1 RNK концентрација је у линеарном опсегу од 30 до 10000000 копија/mL.	Реактивно на HIV-1 RNK
> 10000000	> 7,00	HIV-1 RNK концентрација је изнад горњег ограничења за квантификацију (ULoQ).	Реактивно на HIV-1 RNK
Неважеће ^d	Неважеће ^d	Дошло је до грешке у генерацији резултата. Узорак треба да се тестира поново.	Неважеће ^d

^a Фактори за конверзију копија у међународне јединице (IU) за 3. међународни стандард за HIV-1 RNK (10/152) је 0,35 копија/IU.

^b Вредност је скраћена на два децимална места.

^c Дијагностичко тумачење не би требало да буде направљено из „не-реактивног“ резултата за узорке који су разблажени. Набавите нови неразблажени узорак и поновите тест.

^d Неважећи резултати су приказани фонтом плаве боје.

Након што су резултати доступни на екрану Резултати, можете приступити вредности квантификације за сваку мету помоћу функције Извештај о кривуљи узорка у системском софтверу Panther. Да бисте видели вредности и криве појачања, изаберите ID узорка за узорак на екрану Резултати системског софтвера Panther. Затим изаберите дугме „Подаци кривуље“. Отвара се прозор који садржи Извештај о кривуљи узорка, који укључује профиле флуоресценције и вредности квантификације за узорак.

Напомена: Подаци добијени из Извештаја о кривуљи узорка су обезбеђени само за информације (нпр. решавање проблема и верификација кривуље). Потврђени резултат који се пријављује за узорак обезбеђује системски софтвер Panther на екрану Резултати и Извештај о резултатима.

Напомена: Додатна упутства у вези са радом система Panther потражите у Приручнику за кориснике система Panther / Panther Fusion.

Критеријуми за прихватање за сваку контролу теста Aptima HIV-1 Quant Dx истакнути су у Табела 2.

Напомена: Опсег опоравка који је наведен у наставку се помера на основу додељене вредности сваке одређене серије. Погледајте додељену концентрацију наведену на листи бар-кодова контроле која је испоручена уз сваку кутију контроле.

Табела 2: Критеријум за прихватање за опсег опоравка за тест Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Компонента	Опсег опоравка за валидна тестирања
Негативна контрола	Н/П
Ниска позитивна контрола	+/- 0,5 log ₁₀ копија/mL
Висока позитивна контрола	+/- 0,5 log ₁₀ копија/mL

Ограничења

- A. Употреба овог теста је ограничена на особље које је обучено за ову процедуру. Непоштовање упутстава наведених у овом паковању може довести до погрешних резултата.
- B. Поуздани резултати зависе од адекватног прикупљања, транспорта, складиштења и обраде узорка.
- C. Овај тест је валидиран за употребу као квантитативни тест само са људском EDTA и ACD плазмом.
- D. Овај тест је валидиран за употребу као квалитативни тест са људском EDTA и ACD плазмом и серумом.
- E. Иако ретке, мутације унутар високо очуваних региона вирусног генома покривених прајмерима и/или сондама у тесту Aptima HIV-1 Quant Dx assay могу довести до подквантификације или неуспеха у откривању вируса.
- F. Овај тест није потврђен за употребу код пацијената који су подвргнути терапијама заснованим на лентивирусним векторима, као што је терапија CAR- T-ћелијама. Потенцијално преклапајуће регије вирусног генома покривене прајмерима и / или сондама у тесту Aptima HIV-1 Quant Dx assay могу довести до појачања лентивирусних вектора који се користе у терапијама заснованим на лентивирусним векторима.

Аналитичке перформансе

Ограничење за детекцију (LoD) коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1

Ограничење за детекцију (Limit of Detection, LoD) дефинисано је као концентрација HIV-1 RNK која је откривена на 95% или већој вероватноћи у складу са CLSI EP17-A2 (37). LoD је одређен помоћу панела за тестирање који се састоје од разблаживача 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1 (подтип В, NIBSC шифра: 10/152) у HIV-1 негативној EDTA плазми и серуму. Тридесет понављања сваког разблажења изведено је на три система Panther коришћењем три серије реагенса за укупно 90 понављања за свако разблаживање. Према CLSI EP17-A2, LoD-ови

су дефинисани коришћењем резултата из серије реагенса са највећом концентрацијом за предвиђену границу детекције LoD и приказани су у Табела 3. Кроз Probit анализу, 95% предвиђена граница детекције за LoD за тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay је 12 копија/mL (35 IU/mL) у плазми и 8,9 копија/mL (25 IU/mL) у серуму (0,35 копија = 1 IU).

Табела 3: Граница детекције за тест Aptima HIV-1 Quant Dx Assay коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1

Предвиђена граница детекције	Плазма		Серум	
	Концентрација (копије/mL)	Концентрација (IU/mL)	Концентрација (копије/mL)	Концентрација (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

Граница детекције међу подтиповима и групама HIV-1

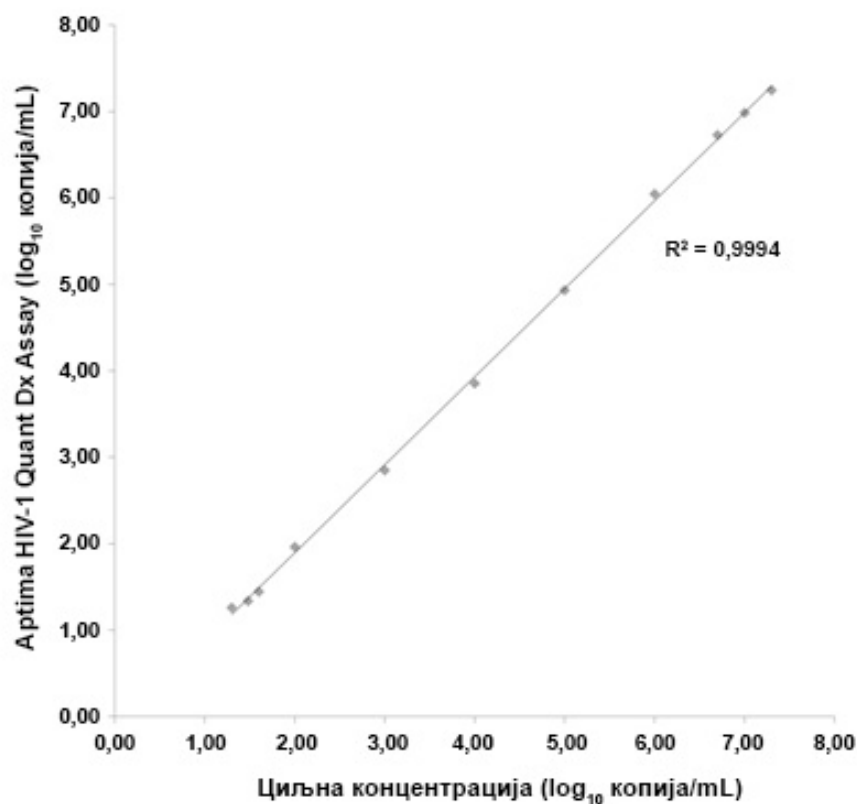
За HIV-1 групу М (подтипови А, С, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) и групе N и O, шест позитивних панела и један негативан панел су створени додавањем култивисаног HIV-1 вируса или позитивних клиничких узорака у HIV-1 негативне људске EDTA плазме (0 до 40 копија/mL). Сваки члан панела је тестиран у 30 понављања са две серије реагенса за укупно 60 понављања по члану панела. Додељивање концентрације за клиничке узорке или култивисане залихе вируса је одређено коришћењем компараторног теста. Probit анализа је извршена да би се генерисале 50% и 95% предвиђених граница детекције. Према CLSI EP17-A2 (37), LoD-ови су дефинисани коришћењем резултата из серије реагенса са највећом концентрацијом за предвиђену границу детекције LoD и приказани су у Табела 4.

Табела 4: Граница детекције међу подтиповима и групама HIV-1

Подтип/група	Предвиђена граница детекције	Плазма	Серум
		Концентрација (копије/mL)	Концентрација (копије/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

Линеарни опсег

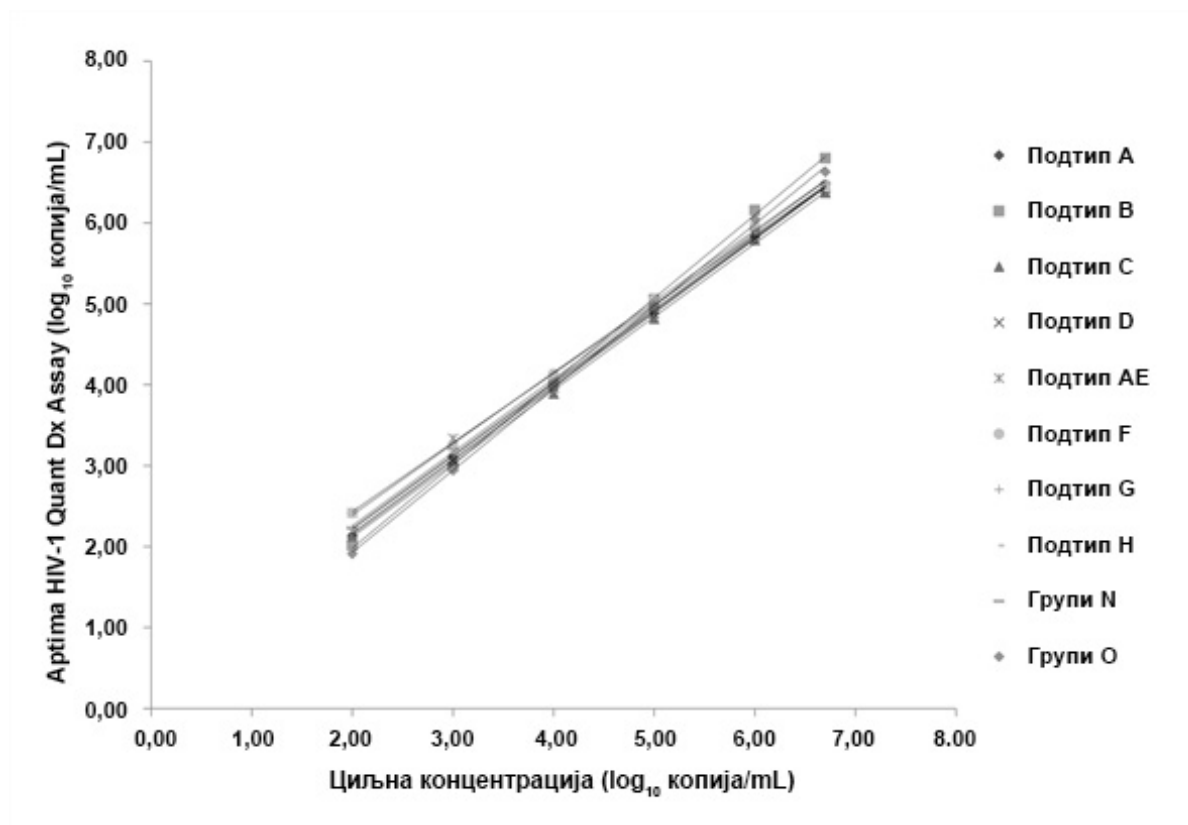
Линеарни опсег теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay је успостављен тестирањем панела који се састоје од култивисаног HIV-1 вируса подтипа В разблаженог у HIV-1 негативној људској EDTA плазми у складу са CLSI EP06-A (38). Панели су се кретали у концентрацији од 1,30 до 7,30 $\log_{10}$ копија/mL. Тестирање је обављено на седам система Panther са две серије. Као што приказује у Слика 6, тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay је демонстрирао линеарност у опсегу тестирања.



Слика 6. Линеарност теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Линеарност HIV-1 подтипова и група

Линеарна реакција за тест Aptima HIV-1 Quant assay кроз групу М (подтипови А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE) и групе N и O потврђена је путем панела за тестирање који се састоје од HIV-1 транскрипта разблаженог у пуферу на концентрацијама у опсегу од 2,00 до 6,70 $\log_{10}$ копија/mL. Тестирање је обављено на четири система Panther и током шест циклуса. Линеарност је демонстрирана у целом тестираном опсегу (Слика 7).



Слика 7. Линеарност у групи М (подтипови А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE) и групе N и O

Одређивање доње границе квантификације коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1

Доња граница квантификације (Lower Limit of Quantitation, LLoQ) је дефинисана као најнижа концентрација при којој се HIV-1 RNK поуздано квантификује у оквиру укупне грешке (TE), према CLSI EP17-A2 (37). TE је израчунат коришћењем Вестгардовог модела ($TE = |bias| + 2SD$). Да би се осигурала тачност и прецизност мерења, TE за тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay је постављен на $1 \log_{10}$ копију/mL (тј., на LLoQ, разлика између два мерења од више од $1 \log_{10}$ копије/mL је статистички значајна).

LLoQ је одређен помоћу панела за тестирање који се састоје од разблаживача 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1 (подтип В, NIBSC шифра: 10/152) у HIV-1 негативној EDTA плазми. Према CLSI EP17-A2, панели су тестирани са три серије реагенса у понављањима од по 30 за сваку серију из 23 циклуса. Резултати су приказани у Табела 5. Највиши LLoQ за три серије тестиране на тесту Aptima HIV-1 Quant Dx assay коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1 је 15 копија/mL ($1,17 \log_{10}$ копија/mL) (Табела 6).

Табела 5: Одређивање LLoQ за тест Aptima HIV-1 Quant Dx Assay коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1

Серија реагенса	Циљна концентрација ($\log_{10}$ копије/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx ($\log_{10}$ копије/mL)	SD ($\log_{10}$ копије/mL)	Пристрасност ($\log_{10}$ копије/mL)	Израчунат TE ($\log_{10}$ копије/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 = стандардна девијација TE = укупна грешка.

Табела 6: Резиме за LLoQ коришћењем 3. међународног стандарда СЗО за HIV-1 (3 серије реагенаса)

Серија реагенаса	LLoQ (log ₁₀ копије/mL)	LLoQ (копије/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Верификација LLoQ кроз HIV-1 подтипове и групе

LLoQ кроз HIV-1 подтипове и групе је потврђен у складу са CLSI EP17-A2 (37). Панели су направљени за сваку HIV-1 групу М (подтипови А, В, С, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) и групе N и O додавањем обједињене HIV-1 негативне људске EDTA плазме са природно инфицираним клиничким узорцима или клиничким изолатима. Тестирање се састојало од укупно 30 понављања по члану панела. Подаци у Табела 7 показују најнижу концентрацију за сваки подтип или групу при којој је ТЕ био мањи од 1 log₁₀ копија/mL. Највиши LLoQ за све подтипове и групе које су тестиране је био 30 копија/mL; ова виша вредност је због тога изабрана је као LLoQ за тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay (Табела 7).

Табела 7: Верификација LLoQ по HIV-1 подтипу или групи

Панел	LLoQ (копије/mL)
Подтип А	30
Подтип CRF01_AE	10
Подтип CRF02_AG	30
Подтип В	10
Подтип С	30
Подтип D	15
Подтип F	15
Подтип G	30
Група N	10
Група O	15

Прецизност

Да би се проценила прецизност теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay, панел који је направљен додавањем култивисаног вируса HIV-1 подтипа В у HIV-1 негативну EDTA плазму тестирала су три оператера користећи три серије реагенса на три система Panther током 20 дана (Табела 8). Панел се састојао од једног HIV-1 негативног члана панела и осам HIV-1 позитивних чланова панела. Додељивање концентрације за клиничке узорке или култивисане залихе вируса је одређено коришћењем компараторног теста.

Табела 8: Прецизност теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Број важећих репликата	Средња концентрација (log ₁₀ копије/mL)	Између инструмената		Између оператера		Између серија		Између циклуса		Унутар циклуса		Укупно	
		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 = коефицијент варијације, SD = стандардна девијација.

^a Овај члан панела је разблажен 1:3 са разблаживачем за узорак и тестиран да би се проценила прецизност разблаженог узорка.

Напомена: Варијабилност неких фактора може бити нумерички негативна, што се може десити ако је варијабилност узрокована тим факторима веома мала. Када се ово догоди, SD = 0 и CV = 0%. Укупан број тестираних репликата био је 162 за сваки панел; анализирани су само репликати са нумеричком вредношћу.

Потенцијално ометајуће ендogene и екзогенe супстанце

Процењена је осетљивост теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay на сметње повишених нивоа ендогених супстанци и лекова који се обично преписују особама зараженим HIV-1. Тестирани су HIV-1 негативни узорци EDTA људске плазме и узорци додати са HIV-1 до концентрације од $3 \log_{10}$ копија/mL HIV-1 RNK.

Није примећена сметња у перформансама Aptima HIV-1 Quant Dx теста у присуству албумина (90 mg/mL), хемоглобина (5 mg/mL), триглицерида (30 mg/mL) или некоњугованог билирубина (0,2 mg/mL).

Није уочена никаква интерференција у перформансама теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у присуству екзогених супстанци које наводи Табела 9 при концентрацијама које су најмање три пута веће од $C_{\max}$ (људска плазма).

Табела 9: Екзогенe супстанце

Група екзогених супстанци	Тестиране екзогенe супстанце
1	Лопинавир, индинавир, саквинавир, ритонавир, нелфинавир мезилат, дарунавир, ампренавир, атазанавир
2	Невирапин, ефавиренз, рилпивирин, кларитромицин, амфотерицин Б
3	Тенофовир дизопроксил фумарат, адефовирдипивоксил, рибавирин, енфувиртид, маравирук, ралтегравир, долутегравир
4	Абакавир сулфат, диданозин, зидовудин, ламивудин, ставудин, ентекавир, телбивудин, емтрицитабин
5	Пароксетин HCl, флуоксетин, сертралин
6	Ганцикловир, валацикловир, ацикловир, рифампин/рифампицин, етамбутол
7	Ципрофлоксацин, азитромицин, амоксицилин, цефалексин, ампицилин, триметоприм
8	Валганцикловир хидрохлорид, боцепревир, телапревир, симепревир, софосбувир
9	Пегиловани интерферон алфа-2б, интерферон алфа-2а, интерферон алфа-2б
10	Хепарин, EDTA, натријум цитрат
11	Типранавир
12	Исониазид

Клинички узорци EDTA плазме наведени у Табела 10 од пацијената са повишеним нивоима дефинисаних супстанци или пацијената са наведеним болестима тестирани су тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay са и без присуства 3 log₁₀ копија HIV-1 RNK. Није уочена никаква интерференција у перформансама.

Табела 10: Тестиране врсте клиничких узорака

Врсте клиничких узорака	
1	Реуматоидни фактор (RF)
2	Антинуклеарно антитело (ANA)
3	Anti-Jo-1 антитело (JO-1)
4	Системски еритематозни лупус (SLE)
5	Реуматоидни артритис (RA)
6	Мултипла склероза (MS)
7	Хиперглобулинемија
8	Повишена аланин аминотрансфераза (ALT)
9	Алкохолна цироза (AC)
10	Вишеструки мијелом (MM)
11	Липемик (повишени липид)
12	Иктерични (повишен билирубин)
13	Хемолизован (повишен хемоглобин)
14	Повишен протеин албумин
15	HCV антитела
16	HBV антитела
17	HIV-2 антитела

Перформансе са HIV-1 негативним узорцима

Специфичност теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay одређена је коришћењем 120 свежих и 510 замрзнутих HIV-1 негативних узорак EDTA плазме. HIV-1 RNK није откривена у свих 630 узорак (специфичност од 100%; 95% CI: 99,4–100%) (Табела 11).

Табела 11: Специфичност у узорцима плазме

	Свежа плазма	Замрзнута плазма	Све ставке
Валидни репликати (n)	120	510	630
Нереактивно	120	510	630
Специфичност (95% CI)	100% (97,0–100)	100% (99,3–100)	100% (99,4–100)

CI = интервал поузданости

Потенцијално ометајући микробни загађивачи

Потенцијална унакрсна реактивност на патогене (Табела 12) процењена је у тесту Aptima HIV-1 Quant Dx assay у присуству или одсуству $3 \log_{10}$ копија/mL HIV-1 RNK у HIV-1 негативној људској EDTA плазми. Није уочена никаква интерференција у перформансама теста у присуству патогена.

Табела 12: Патогени тестирани на унакрсну реактивност

Патоген	Концентрација
Вирус хепатитиса А	100000 PFU/mL ^a
Вирус хепатитиса Б	100000 IU/mL ^b
Вирус хепатитиса Ц	100000 IU/mL
Вирус хепатитиса Г	100000 копије/mL
Херпес симплекс вирус 1 (HSV-1)	100000 PFU/mL
Херпес симплекс вирус 2 (HSV-2)	75000 PFU/mL
Хумани херпес вирус 6	100000 копије/mL
Хумани херпес вирус 8	42000 PFU/mL
HIV-2	5500 PFU/mL
Хумани лимфотропни вирус Т-ћелија (HTLV)	100000 vp/mL ^c
Вирус Западног Нила	100000 копије/mL
Парвовирус Б19	100000 IU/mL
Цитомегаловирус	100000 копије/mL
Епштајн-Баров вирус	100000 копије/mL
Аденовирус тип 5	100000 PFU/mL
Денга вирус	100000 копије/mL
Вирус грипа А	100000 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1000000 CFU/mL ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1000000 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1000000 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1000000 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300000 IFU/mL ^e
<i>Candida albicans</i>	1000000 CFU/mL

^a PFU/mL = јединице за формирање плака по mL.^b IU/mL = међународне јединице по mL.^c vp/mL = вирусне честице по mL.^d CFU/mL = јединице које формирају колонију по mL.^e IFU/mL = јединице које формирају инклузију по mL.

Могућност понављања за клиничке узорке

Десет клиничких узорака EDTA плазме и десет узорака серума тестирани су у три репликата коришћењем теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Просечну концентрацију и стандардну девијацију (Standard Deviation, SD) приказују Табела 13 и Табела 14.

Табела 13: Поновљивост за клиничке узорке плазме

Узорак	Плазма	
	Просечна концентрација (log ₁₀ копије/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 = стандардна девијација

Табела 14: Поновљивост за клиничке узорке серума

Узорак	Серум	
	Просечна концентрација (log ₁₀ копије/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 = стандардна девијација

Разблаживање узорка коришћењем разблаживача узорка

За процену разблаживања узорка, панел који се састоји од 11 узорака са концентрацијама које се протежу у линеарном опсегу за тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay и који се састоји од два узорка изнад горње границе теста који је тестиран уредно и разблажен (1:3 или 1:100 у раствору узорка) у трипликату (Табела 15).

Табела 15: Разблаживање узорка

Разблаживање	Просечна изворна концентрација (log ₁₀ копије/mL)	Просечна пријављена концентрација ^a (log ₁₀ копије/mL)	Разлика
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 Пријављена концентрација је вредност пријављена од стране система Panther након примене фактора разблаживања.

^b Појачани узорак.

^c Сви резултати > 7,00 log₁₀ копија/mL процењени су помоћу додатне анализе.

Преношење

Да би се утврдило да систем Panther минимизира ризик од лажно позитивних резултата који произилазе из контаминације, спроведена је аналитичка студија са више циклуса коришћењем панела са горњим вредностима на два Panther система. Пренос је процењен коришћењем виших титрираних HIV-1 појачаних узорака (7 log₁₀ копија/mL) испресецаних између HIV-1 негативних узорака у шаблону шаховске табле. Тестирање је обављено у пет циклуса. Укупна стопа преноса била је 0% (n = 469).

Панел сероконверзије

Деветнаест сетова панела за сероконверзију HIV-1, који се састоје од 204 узорка, тестирано је коришћењем теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Детекција HIV-1 RNK је упоређена са детекцијом тестовима на p24 антиген и тестовима на HIV-1/2 антитела. Број дана до првог реактивног резултата помоћу тестова на антиген p24, тестова на анти-HIV 1/2 антитела и теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay је наведен у Табела 16. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay детектовао је HIV-1 RNK у просеку 5,58 и 11,16 дана пре тестова за p24 антиген и антитела на HIV 1/2.

Табела 16: Резиме података панела сероконверзије

ID панела	Број тестираних чланова панела	Број реактивних чланова панела			Дани до првог реактивног резултата			Разлика у данима до првог реактивног резултата (на основу датума узимања крви)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 антиген	Анти-HIV 1/2 антитело	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 антиген	Анти-HIV 1/2 антитело	Број дана раније детекције у односу на HIV p24 антиген	Број дана раније детекције у односу на антитела на HIV 1/2
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 ^a	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 ^a	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Укупно	204	82	51	20			Средња вредност Медијана	5,58 7	11,16 12

^a Сви узорци крви у овом панелу били су нереактивни на антитела на HIV 1/2. Последњи дан испуштања је коришћен као „Days to First Reactive Result“ (Број дана за први реактивни резултат).

Тестирање Anti-HIV-1/2 антитела је обављено са тестом Abbott Anti-HIV 1/2, са следећим изузецима:

^b Панели PRB974, PRB975 и PRB978 тестирани су тестом Siemens Anti-HIV 1/2.

HIV-1 p24 антигенско тестирање обављено је помоћу теста Coulter HIV-1 p24 Ag, уз следеће изузетке:

^b Панели PRB974, PRB975 и PRB978 били су тестирани помоћу теста BioMerieux p24 Ag.

Студија еквиваленције серума и плазме

За процену еквиваленције, упарени комплети серума и плазме (25 HIV-1 позитивно и 25 HIV-1 негативно), и 40 узорака који су додати са култивисаним HIV-1 (50–1000000 копија/mL са HIV-1 негативном плазмом и серумом) тестирани су тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Негативна сагласност била је 100,0% (95% CI: 97,0%–100,0%). Позитивна сагласност је била 98,4% (95% CI: 95,4%–99,5%).

Студије поновљивости

Поновљивост у узорцима плазме

Поновљивост теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у узорцима плазме процењена је на 3 спољне локације. Два оператера су извршила тестирање на свакој локацији. Сваки оператер обавља 2 циклуса дневно током 3 дана користећи 3 серије реагенса током тестирања. Сваки циклус је имао 3 репликата сваког члана панела.

Поновљивост је тестирана коришћењем чланова панела који су се састојали од HIV-1 негативне EDTA плазме. Позитивни чланови панела створени су додавањем негативне плазме са култивисаним вирусом (HIV-1 подтип В) у концентрацијама које су обухватале линеарни опсег теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay.

Табела 17 показује поновљивост и прецизност резултата теста за сваки позитиван члан панела између локација, између оператера, између серија, између дана, између циклуса, унутар циклуса и укупно. Када су укључени само узорци са резултатима изнад доње границе квантификације (LLOQ) (узорци са резултатима испод LLOQ су искључени) укупан SD је био $\leq 0,2 \log_{10}$ копија/mL за све чланове панела. Када су укључени сви узорци са детектабилном HIV-1 RNK, укупне вредности SD остале су непромењене, осим члана панела 1, који је имао укупан SD од $0,3 \log_{10}$ копија/mL.

За све HIV-1 позитивне чланове панела, вредности сагласности су биле 100%. За HIV-1 негативног члана панела, тестирано је 108 репликата и HIV-1 RNK није откривена у свих 108 репликата (негативна сагласност = 100%, 95% Резултат CI: од 96,6% до 100%).

Табела 17: Поновљивост и прецизност теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay на систему Panther у позитивним члановима плазма панела

Панел	N ^a	Средња вредност Log ₁₀ копије/mL	Између локација		Између оператора		Између серија		Између дана		Између циклуса		Унутар циклуса		Укупно	
			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 = коефицијент варијације, SD = стандардна девијација

^a Број важећих резултата теста са детектабилном HIV-1 RNK.

^b Укључује 22 репликата пријављена као < 1,47 log₁₀ копија/mL. Овај узорак је имао додељену вредност од 1,176 log₁₀ копија/mL.

^c Број важећих резултата у линеарном опсегу теста.

^d Укључује једну реплику пријављену као > 7 log₁₀ копија/mL. Овај узорак је имао додељену вредност од 7,18 log₁₀ копија/mL.

Напомена: Варијабилност од неких фактора може бити нумерички негативна. То може настати ако је варијабилност услед тих фактора веома мала (мање од 0,01). У овим случајевима, SD и CV се приказују као 0.

Поновљивост у узорцима серума

Поновљивост теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у узорцима серума процењена је на 3 спољне локације. Два оператера су извршила тестирање на свакој локацији. Сваки оператер обавио је 1 циклус дневно током 5 дана користећи 1 серију реагенса током тестирања. Сваки циклус је имао 3 репликата сваког члана панела.

Поновљивост је тестирана коришћењем чланова панела припремљених са HIV-1 негативним серумом. Два позитивна члана панела створена су додавањем негативне серумске матрице са концентрацијама 3X-5X LoD и 10X LoD култивисаног вируса (HIV-1 подтип В).

Табела 18 показује поновљивост и прецизност резултата теста за сваки позитиван члан панела између локација, између оператера, између дана, између циклуса, унутар циклуса и укупно.

За све HIV-1 позитивне чланове панела, вредности сагласности су биле 100%. За HIV-1 негативног члана панела, тестирано је 90 репликата и HIV-1 RNK није откривена у 89/90 репликата (негативна сагласност = 98,9%, 95% Резултат CI: од 94,0% до 99,8%).

Табела 18: Поновљивост и прецизност теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay на систему Panther код чланова панела позитивног серума

Панел	N	Средња вредност	Између локација		Између оператера		Између дана		Између циклуса		Унутар циклуса		Укупно	
		Log ₁₀ копија/mL	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-нормални коефицијент варијације, SD = стандардна девијација (log₁₀ копије/mL).

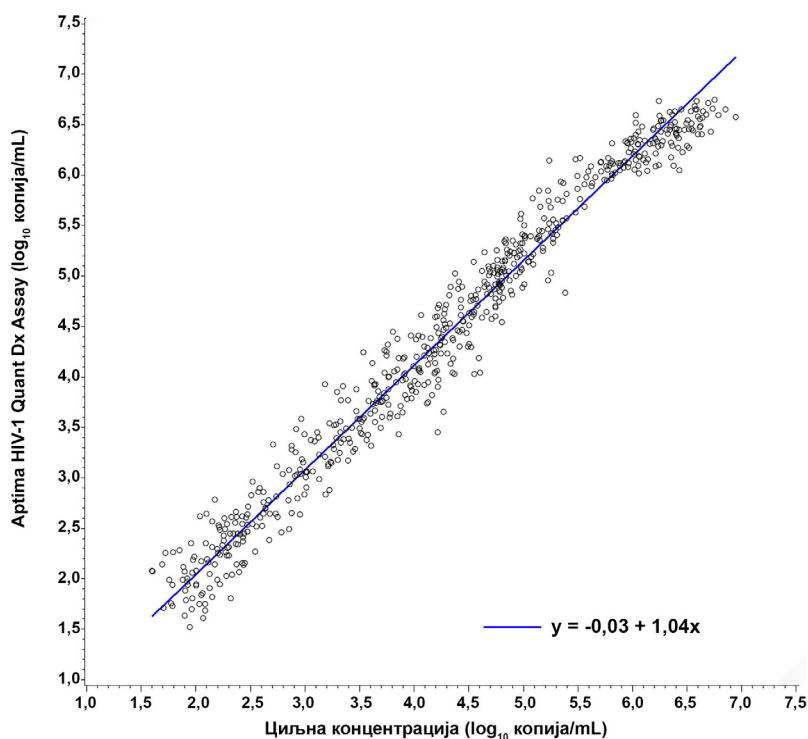
Напомена: Варијабилност неких фактора може бити нумерички негативна. Ово се може десити ако је варијабилност због тих фактора веома мала. У овим случајевима, SD и CV се приказују као 0,00.

Клиничке перформансе

Валидација квантификације вирусног оптерећења

Квантификација HIV-1 RNK је упоређена између теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay и компараторног теста. Студија је обухватила тестирање клиничких узорак EDTA плазме (ускладиштених свежих или замрзнутих) и специјално припремљених узорак (култивисаних вируса који су додати у негативне клиничке узорке плазме). Сваки узорак је тестиран у дупликату са тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay и компараторним тестом. Тест Aptima HIV-1 Quant Dx assay је извршен на 3 спољне локације, при чему је свака локација користила 3 серије комплета реагенса; компараторни тест је изведен у 1 спољној лабораторији.

628 подударних сетова узорак (у линеарном опсегу оба теста) креираних од 484 уписаних субјеката и 144 специјално припремљених узорак тестирано је тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay и компараторним тестом. Слика 8. приказује резултате Демингове регресијске анализе ($y = -0,03 + 1,04x$).



Слика 8. Корелација између теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay и компараторног теста

Студије клиничке специфичности

Клиничка специфичност у HIV-1 негативним узорцима

Претходно замрзнути HIV-1 негативни EDTA узорци плазме добијени од добровољних донатора пуне крви тестирани су тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Тестирање је извршено са 3 серије комплета реагенса на 3 спољне локације. Специфичност је израчуната као проценат HIV-1 негативних узорка са резултатима „Није откривено“. Тестирано је шест стотина (600) HIV-1 негативних узорка плазме, а HIV-1 RNK није откривена у свих 600 узорка. Специфичност у негативним узорцима плазме била је 100% (600/600, 95% Резултат CI: од 99,4% до 100%)

Клиничка специфичност у популацији ниског ризика

Претходно замрзнути узорци добијени од првократних давалаца крви и не-давалаца крви са ниским ризиком за HIV-1 инфекцију тестирани су тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Тестирање је извршено са 1 серијом комплета реагенса на 1 спољној локацији. Клиничка специфичност је израчуната упоређивањем резултата теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay са резултатима NAT теста.

Табела 19 показује специфичност теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у популацији ниског ризика према врсти узорка.

Табела 19: Клиничка специфичност теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay у популацији ниског ризика према врсти узорка

Врста узорка	n	TP	FP	TN	FN	Специфичност (%) (95% CI) ^a
Све ставке	911	4	3	902	2	99,7 (99,0; 99,9)
Серум	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6; 99,9)
Плазма	607	3	1	602	1	99,8 (99,1; 100)

CI = интервал поузданости, FN = лажно негативно, FP = лажно позитивно, TN = исправно негативно, TP = исправно позитивно.

^a Clopper-Pearson CI.

^b 1 од 2 узорка серума са лажно позитивним резултатима били су позитивни када су тестирани помоћу комбинованог имунотеста на HIV-1/HIV-2 антиген/антитела 4. генерације.

Студије клиничке осетљивости

Клиничка осетљивост у HIV-1 позитивним узорцима

Претходно замрзнути HIV-1 позитивни узорци тестирани су тестом Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Тестирање је извршено са 2 серије комплета реагенса на 3 локације, укључујући 2 спољне локације.

Табела 20 показује осетљивост теста Aptima HIV 1 Quant Dx assay у позитивним узорцима према врсти узорка.

Табела 20: Клиничка осетљивост теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у HIV-1 позитивним узорцима према врсти узорка

Врста узорка	n	TP	FN	Осетљивост (%) (95% CI) ^a
Све ставке	1572	1565	7	99,6 (99,1; 99,8)
Серум	524	520	4	99,2 (98,1; 99,8)
Плазма	1048	1045	3	99,7 (99,2; 99,9)

Табела 20: Клиничка осетљивост теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у HIV-1 позитивним узорцима према врсти узорка (наставак)

CI = интервал поузданости, FN = лажно негативно, TP = исправно позитивно.

^a Clopper-Pearson CI.

Клиничка осетљивост у високоризичним популацијама

Проспективно прикупљени узорци од појединаца са високим ризиком за HIV-1 инфекцију тестирани су тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Тестирање је извршено са 1 серијом комплета реагенса на 3 локације, укључујући 2 спољне локације. Клиничка осетљивост је израчуната упоређивањем резултата теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay са резултатима NAT теста.

Од 498 узорка који се могу проценити, 332 су били узорци плазме и 166 су били узорци серума. Клиничка осетљивост је била 100% (1/1, 95% CI: од 20,7% до 100%) у узорцима серума. Осетљивост се није могла проценити у узорцима плазме, јер нису примећени узорци са истинским позитивним или лажно негативним резултатима теста.

Позитивност у серодисхармонијским узорцима

Претходно замрзнути серодисхармонијски узорци (тј. вишеструко реактивни на почетном HIV имунотесту и неодређени или негативни на додатном имунотесту) добијени су од давалаца крви и особа које нису даваоци крви су тестирани тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Од 473 узорка који се могу проценити, 76 је изабрано из панела за сероконверзију. Тестирање је извршено са 2 серије комплета реагенса на 1 интерној локацији. Позитивност је израчуната за серодисхармонијске узорке тестиране тестом Aptima HIV-1 Quant Dx assay.

Табела 21 показује позитивност теста Aptima HIV-1 Quant Dx assay у серодисхармонијским узорцима по групи узорка, додатној врсти теста на HIV и додатном резултату теста на HIV.

Табела 21: Позитивност теста Aptima HIV-1 Quant Dx Assay код серодисхармонијских узорка

Врста додатног теста	Резултат додатног теста	% позитивности (n/N) 95% CI ^a		
		Панел група без сероконверзије		Панел група са сероконверзијом
		3. генерација	4. генерација	4. генерација
HIV-1/2 имунохроматографија	Негативан	Н/П	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (6/6) 61,0–100
HIV-1/2 имунохроматографија	Неодређен	Н/П	100 (1/1) 20,7–100	100 (1/1) 20,7–100
HIV-1/2 брзи тест	Негативан	Н/П	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (24/24) 86,2–100
HIV-1/2 брзи тест	Неодређен	Н/П	0,0 (0/2) 0,0–65,8	Н/П
HIV-1 WB или IFA	Негативан	0,4 (1/239) 0,1–2,3	100 (4/4) 51,0–100	100 (35/35) 90,1–100
HIV-1 WB или IFA	Неодређен	0,0 (0/128) 0,0–2,9	100 (1/1) 20,7–100	100 (10/10) 72,2–100

3. генерација = имунотест треће генерације, 4. генерација = имунотест четврте генерације, CI = интервал поузданости, IFA = индиректни имунофлуоресцентни тест, Н/П = није применљиво, WB = Western blot.

^a CI резултата.

Библиографија

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.

Контакт информације и историја ревизија



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



Hologic BV
Da Vinci laan 5
1930 Zaventem
Belgium

Спонзор за Аустралију
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

За адресу е-поште и број телефона техничке и корисничке подршке за одређену земљу, посетите www.hologic.com/support.

Озбиљне инциденте повезане са уређајем у Европској Унији треба пријавити произвођачу и надлежном органу државе-чланице у којој се налази корисник и/или пацијент.

Hologic, Aptima, Panther и Panther Fusion и повезани логотипи су жигови или регистровани жигови компаније Hologic, Inc. и/или њених подређених компанија у Сједињеним Државама и/или другим земљама.

Armored RNA је трговачки знак компаније Asuragen, Inc.

Сви остали трговачки знаци који се могу појавити у овом упутству су власништво њихових власника.

Овај производ може бити предмет једног или више америчких патената наведених на www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Сва права задржана.

AW-28214-3901 Рев. 002

2025-10

Историја ревизија	Датум	Опис
AW-28214-3901 Рев. 001	Април 2025.	• Почетно издање у складу са захтевима IVDR регулативе.
AW-28214-3901 Рев. 002	Октобар 2025.	• Ова верзија је усклађена са AW-28214-001 Рев. 002 & Рев. 003 (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003).