

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Tikai eksportēšanai no ASV.

Vispārīga informācija	2
Paredzētais lietojums	2
Testa kopsavilkums un skaidrojums	2
Procedūras principi	3
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	4
Reaģentu uzglabāšanas un apstrādes prasības	7
Paraugu ņemšana un uzglabāšana	8
Paraugi sistēmā Panther	12
Paraugu transportēšana	12
Sistēma Panther®	13
Komplektācijā iekļautie reaģenti un materiāli	13
Nepieciešamie materiāli, kas pieejami atsevišķi	15
Papildu materiāli	16
Sistēmas Panther testa procedūra	16
Piezīmes par procedūru	20
Kvalitātes kontrole	22
Testa kalibrēšana	22
Negatīvi un pozitīvi kontrolšķīdumi	22
Iekšējais kalibrēšanas šķīdums/iekšējie kontrolšķīdumi	22
Rezultātu interpretēšana	23
Ierobežojumi	25
Veiktspēja	26
Kvalitatīvās noteikšanas robeža, noteikšanā izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1	26
Kvalitatīvās noteikšanas robeža dažādiem HIV-1 apakštipiem un grupām	27
Lineārais diapazons	28
Linearitāte dažādos HIV-1 apakštipos un grupās	29
Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža, noteikšanā izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1	30
Kvantitatīvās noteikšanas zemākās robežas (LLOQ) pārbaude dažādiem HIV-1 apakštipiem un grupām	31
Precizitāte	32
Iespējami traucējošas vielas	33
Specifiskums	35
Analītiskais specifiskums	36
Klīnisko paraugu atkārtotamība	37
Paraugu atšķaidīšana, izmantojot paraugu šķīdinātāju	38
Metodes korelācija	39
Diagnostiskā sakritība	40
Pārnese	40
Seropārveidošanas panelis	41
Seruma un plazmas ekvivalences pētījums	42
Bibliogrāfija	43

Vispārīga informācija

Paredzētais lietojums

Aptima® HIV-1 Quant Dx tests ir *in vitro* nukleīnskābes amplifikācijas tests 1. tipa cilvēka imūndeficīta vīrusa (HIV-1) RNS grupu M, N un O noteikšanai un kvantitatīvai noteikšanai, izmantojot pilnībā automatizētu sistēmu Panther®. To ir paredzēts izmantot kā palīglīdzekli HIV-1 infekcijas diagnostikā, HIV-1 infekcijas apstiprināšanā un kā palīglīdzekli ar HIV-1 inficēto pacientu klīniskajā terapijā.

Aptima HIV-1 Quant Dx testu var izmantot kā palīglīdzekli HIV-1 infekcijas diagnostikā, tostarp akūtas vai primāras infekcijas diagnostikā. HIV-1 RNS klātbūtne plazmā vai serumā pacientiem bez antivielām pret HIV-1 norāda uz akūtu vai primāru HIV-1 infekciju. Aptima HIV-1 Quant Dx testu var izmantot kā papildu testu paraugiem, kuriem konstatēti atkārtoti reaktīvi rezultāti, izmantojot apstiprinātus HIV imūntestus. Ja paraugs Aptima HIV-1 Quant Dx testā ir reaktīvs, HIV-1 infekcija ir apstiprināta.

Aptima HIV-1 Quant Dx testu arī var izmantot kopā ar klīnisko ainu un citiem laboratoriskiem marķieriem ar HIV-1 vīrusu inficētu pacientu slimības norises prognozēšanai. Aptima HIV-1 Quant Dx testu var izmantot kā palīglīdzekli antiretrovirālas terapijas iedarbīguma pārraudzībā, mērot HIV-1 RNS koncentrācijas izmaiņas plazmā.

Ja Aptima HIV-1 Quant Dx tests tiek izmantots kā palīglīdzeklis HIV-1 infekcijas diagnostikā, kvalitatīviem rezultātiem nepieciešamā veikspēja tiek nodrošināta, izmantojot plazmas un seruma paraugus.* Izmantojot šo testu kā palīglīdzekli antiretrovirālas terapijas iedarbīguma pārraudzībā, kvantitatīviem rezultātiem nepieciešamā veikspēja tiek nodrošināta, izmantojot tikai plazmas paraugus. Kvantitatīvu rezultātu iegūšanai nedrīkst izmantot seruma paraugus.

Šo testu nav paredzēts izmantot asins vai plazmas donoru atbilstības izvērtēšanā.

Testa kopsavilkums un skaidrojums

Epidemioloģiskos pētījumos cilvēka imūndeficīta vīrusa 1. tips (HIV-1) tika identificēts kā iegūta imūndeficīta sindroma (AIDS) cēlonisks aģents (1-7). Cilvēka imūndeficīta vīrusu var pārnest dzimumsakaru ceļā vai saskarē ar inficētām asinīm vai asiņu produktiem, kā arī no mātes uz bērnu grūtniecības, dzemdību vai zīdīšanas laikā (8). Inficētajām personām 3–6 nedēļu laikā pēc inficēšanās ar cilvēka imūndeficīta vīrusu parasti attīstās īslaicīgs, akūts sindroms ar raksturīgiem gripai līdzīgiem simptomiem, kas saistīts ar augsta līmeņa virēmiju perifērajās asinīs (9–12). Lielākajai daļai inficēto personu pēc šīs agrīnās fāzes seko cilvēka imūndeficīta vīrusam raksturīga imūnreakcija un virēmijas līmeņa pazemināšanās plazmā, parasti 4–6 nedēļu laikā pēc simptomu parādīšanās (13–14). Inficētajām personām pēc seropārveidošanas parasti iestājas klīniski stabila asimptomātiska fāze, kas var ilgt vairākus gadus (15–17). Asimptomātiskajam periodam ir raksturīga pastāvīga zema līmeņa virēmija plazmā (18) un pakāpenisks CD4+ T limfocītu izsīkums. Šāds izsīkums izraisa smagu imūndeficītu, vairākas oportūnistiskas infekcijas, ļaundabīgus jaunveidojumus un nāves iestāšanos (19). Kaut arī infekcijas asimptomātiskās fāzes laikā vīrusu līmeņi perifērajās asinīs ir samērā zemi, vīrusu replikācija un izņemšana ir dinamiski procesi, kuros lielu vīrusu rašanās un CD4+ šūnu inficēšanas ātrumu kompensē tikpat liels vīrusu izņemšanas, inficēto šūnu nāves un CD4+ šūnu papildināšanās ātrums, tādējādi virēmijas un CD4+ šūnu līmeņi plazmā ir samērā stabili (20–22).

Kvantitatīvu cilvēka imūndeficīta vīrusa mērījumu perifērajās asinīs rezultāti norāda, ka augstāki vīrusu līmeņi var būt saistīti ar palielinātu risku attiecībā uz saslimšanas, kas saistīta ar cilvēka imūndeficīta vīrusu, klīnisko attīstību, kā arī norāda, ka vīrusu līmeņa samazināšanās plazmā var būt saistīta ar klīniskās attīstības riska samazināšanos (23–25). Vīrusu līmeni perifērajās asinīs var kvantitatīvi noteikt, veicot cilvēka imūndeficīta vīrusa p24 antigēna mērījumus serumā, izmantojot kvantitatīvu cilvēka imūndeficīta vīrusa kultūru, kas iegūta no plazmas, vai arī veicot tiešus vīrusu RNS mērījumus plazmā un šo mērījumu veikšanai izmantojot nukleīnskābes amplifikācijas vai signāla amplifikācijas tehnoloģijas (26–30).

Pašlaik cilvēka imūndeficīta vīrusa 1. tipa infekcijas noteikšanā galvenokārt izmanto antivielu un/vai p24 antigēna klātbūtnes seroloģisku testēšanu, izmantojot imūntestu. ASV slimību kontroles centri akūtu cilvēka imūndeficīta vīrusa infekciju diagnostikai iesaka izmantot antivielu un RNS testu (31). Kaut arī antivielu pret cilvēka imūndeficīta vīrusa 1. tipu un p24 antigēna noteikšanas jutība ir uzlabota, joprojām pastāv laika periods starp inficēšanās brīdi un brīdi, kad noteikšanu var veikt atbilstoši seroloģiskajiem marķieriem. Šis laika periods ir atkarīgs no izmantojamā seroloģiskā testa jutības. Tiek prognozēts (32), ka 4. paaudzes p24 antigēnu/antivielu testi varēs noteikt infekciju, ja HIV-1 RNS koncentrācija sasnies 14 000 kopijas/ml. Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvalitatīvās noteikšanas robeža ir būtiski zemāka par 14 000 kopijām/ml, un šis tests var noteikt HIV-1 klātbūtni agrāk nekā cilvēka imūndeficīta vīrusa imūntesti.

Molekulārās metodes, piemēram, transkripcijas mediēta amplifikācija (TMA® tehnoloģija), tiek plaši lietotas nukleīnskābju amplifikācijā (31). Transkripcijas mediētā amplifikācijā (TMA), lai noteiktu nukleīnskābes vairākos infekciozos patogēnos, tiek izmantota īpaša mērķa tveršana un izotermiska amplifikācija (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx tests, izmantojot transkripcijas mediētu amplifikāciju (TMA), izmanto vairākus garus praimerus, kas iedarbojas uz vairākiem HIV-1 genoma apgabaliem, lai kompensētu lielo mutāciju ātrumu un vairākas iespējamās mutācijas mērķa apgabalā.

Procedūras principi

Aptima HIV-1 Quant Dx testā ietilpst trīs galvenie posmi, kas tiek veikti vienā sistēmas Panther mēģenē: mērķa tveršana, mērķa amplifikācija, izmantojot transkripcijas mediētu amplifikāciju (TMA), un amplifikācijas produktu noteikšana (amplikons), izmantojot zondes (lāpas) ar fluorescences marķējumu.

Mērķa tveršanas laikā paraugos tiek izolētas vīrusu nukleīnskābes. Paraugs tiek apstrādāts ar detergentu, lai vīrusa apvalku pārvērstu šķīstošā stāvoklī, denaturētu olbaltumvielas un atbrīvotu vīrusa genomisko RNS. Tveršanas oligonukleotīdi testa paraugā hibridizējas ar ļoti aizsargātiem HIV-1 genoma apgabaliem (ja tādi pastāv). Hibridizētais mērķis pēc tam tiek tverts uz magnetizētām mikrodaļiņām, kas tiek atdalītas no parauga magnētiskajā laukā. Mazgāšanas posmā no reakcijas mēģenes tiek izvadīti svešie komponenti.

Mērķa amplifikācija tiek veikta, izmantojot TMA jeb transkripcijas mediētu nukleīnskābes amplifikācijas metodi, kurā tiek izmantoti divi fermenti — Moloneja peļu leukēmijas vīrusa (MMLV) apgrieztā transkriptāze un T7 RNS polimerāze. Reversā transkriptāze tiek lietota, lai ģenerētu mērķa sekvenču DNS kopiju (kurā ietilpst T7 RNS polimerāzes promotera sekvenču). T7 RNS polimerāze no DNS kopijas šablona izveido vairākas RNS amplikona kopijas. Aptima HIV-1 Quant Dx testā tiek izmantota transkripcijas mediētas amplifikācijas (TMA) metode divu HIV-1 RNS apgabalu (polimerāzes un garo terminālo atkārtojumu) amplifikācijai. Šo specifisko apgabalu amplifikācija tiek panākta, izmantojot īpašus praimerus, kas paredzēti HIV-1 grupu M, N un O amplifikācijai. Praimera konstrukcija un duālā mērķa pieeja nodrošina precīzu HIV-1 kvalitatīvo un kvantitatīvo noteikšanu.

Noteikšana tiek panākta, izmantojot vienspirāles nukleīnskābes lāpas, kuras ir klātesošas mērķa amplifikācijas laikā un reāllaikā specifiski hibridizējas ar amplikonu. Katrai lāpai ir fluorofors un dzēsējs. Ja lāpa nav hibridizēta ar amplikonu, dzēsējs atrodas fluorofora tuvumā un slāpē fluorescenci. Tiklīdz lāpa saistās ar amplikonu, dzēsējs tiek pārvietots tālāk no fluorofora un raida signālu ar noteiktu viļņa garumu, ja signālu ierosina gaismas avots. Jo vairāk lāpu hibridizējas ar amplikonu, jo spēcīgāks fluorescences signāls tiek ģenerēts. Laiks, kas nepieciešams, lai fluorescences signāls sasniegtu noteiktu sliekšni, ir proporcionāls sākuma HIV-1 koncentrācijai. Katrai reakcijai ir iekšējais kalibrēšanas šķīdums/iekšējais kontrolšķīdums (IC), kas nosaka variācijas paraugu apstrādē, amplifikācijā un noteikšanā. Parauga koncentrāciju nosaka sistēmas Panther programmatūra, katrai reakcijai izmantojot HIV-1 un iekšējā kalibrēšanas šķīduma/iekšējā kontrolšķīduma signālus un salīdzinot tos ar kalibrēšanas informāciju.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

- A. Lietošanai *in vitro* diagnostikā.
- B. Tikai profesionālai lietošanai.
- C. Lai samazinātu nederīgu rezultātu risku, pirms šī testa veikšanas rūpīgi izlasiet visu lietošanas instrukciju un *sistēmas Panther®/Panther Fusion® operatora rokasgrāmatu*.

Saistībā ar laboratoriju



- D. UZMANĪBU! Šī testa kontrolšķīdumi satur cilvēka plazmu. Šī plazma ir negatīva attiecībā uz B hepatīta virsmas antigēnu (HBsAg), antivielām pret C hepatīta vīrusu, antivielām pret HIV-1 un HIV-2, kā arī HIV antigēnu, testējot atbilstoši ASV Pārtikas un zāļu pārvaldes licencētajām procedūrām. Turklāt plazma ir nereaktīva attiecībā uz C hepatīta vīrusa RNS un HIV-1 RNS, testējot atbilstoši licencētiem nukleīnskābes testiem un izmantojot kopparaugus. Visi no cilvēka asinīm iegūtie materiāli ir uzskatāmi par iespējami infekcioziem, un darbā ar tiem ir jāievēro vispārējie piesardzības pasākumi (35–37).
- E. Šo procedūru drīkst veikt tikai darbinieki, kas ir atbilstoši apmācīti Aptima HIV-1 Quant Dx testa lietošanā un darbā ar iespējami infekcioziem materiāliem. Ja materiāli izšļakstās, nekavējoties veiciet dezinfekciju atbilstoši iestādes procedūrām.
- F. Izmantojiet tikai komplektācijā iekļautos vai norādītos vienreiz lietojamās laboratorijas izstrādājumus.
- G. Ievērojiet laboratorijai atbilstošos standarta piesardzības pasākumus. Pipetēšanu neveiciet ar muti. Darba vietā neēdiet, nedzeriet un nesmēķējiet. Darbā ar paraugiem un komplekta reaģentiem lietojiet vienreizējās lietošanas cimdus bez talka, aizsargbrilles un laboratorijas halātu. Pēc darba ar paraugiem un komplekta reaģentiem rūpīgi nomazgājiet rokas.
- H. Darba virsmas, pipetes un cits aprīkojums ir regulāri jāatsārņo ar 2,5–3,5% (no 0,35 M līdz 0,5 M) nātrija hipohlorīta šķīdumu.
- I. Atbrīvojieties no visiem materiāliem, kas ir saskārušies ar paraugiem un reaģentiem, atbilstoši vietējo, valsts un federālo likumdošanas aktu prasībām (35–38). Rūpīgi notīriet un dezinficējiet visas darba virsmas.

- J. Kontrolšķīdumi kā konservantu satur nātrija azīdu. Reaģentu pārvešanai neizmantojiet metāla caurulītes. Ja šķīdumi, kas satur nātrija azīda savienojumus, tiek novadīti kanalizācijā, tie ir jāatšķaida un jānoskalo ar lielu daudzumu tekoša ūdens. Šie piesardzības pasākumi ir ieteicami, lai izvairītos no nogulšņu veidošanās metāla cauruļvados, kur var izveidoties sprādzienbīstami apstākļi.
- K. Saskaņā ar labu molekulāro laboratoriju standarta praksi tiek veikta vides uzraudzība. Lai nodrošinātu laboratorijas vides uzraudzību, ieteicams izmantot tālāk norādīto procedūru.
1. Paņemiet uztriepes vates tamponu un salieciet kopā ar Aptima paraugu alikvotās daļas mēģeni (SAT).
 2. Atbilstoši marķējiet katru paraugu alikvotās daļas mēģeni (SAT).
 3. Katrā paraugu alikvotās daļas mēģenē (SAT) iepildiet 1 ml Aptima paraugu šķīdinātāja.
 4. Lai ņemtu virsmas paraugus, nedaudz samitriniet uztriepes tamponu dejonizētā ūdenī bez nukleāzes.
 5. Ņemiet uztriepi no izpētes virsmas, veicot vertikālu kustību no augšas uz apakšu. Ņemot uztriepi, pagrieziet tamponu aptuveni par pusapgriezieni.
 6. Nekavējoties ievietojiet uztriepes paraugu mēģenē un viegli maisiet uztriepes tamponu šķīdinātājā, lai izvilktu iespējamās uztriepes materiālus. Piespiediet uztriepes tamponu pie transportēšanas mēģenes sāna, lai izspiestu pēc iespējas vairāk šķidruma. Atbrīvojieties no uztriepes tampona un uzlieciet mēģenei vāciņu.
 7. Atkārtojiet šīs darbības ar pārējiem uztriepes paraugiem.
 8. Pārbaudiet uztriepi, izmantojot molekulāru testu.

Saistībā ar paraugiem

- L. Paraugi var būt infekciozi. Veicot šo testu, ievērojiet vispārējos piesardzības pasākumus (35–37). Pareizas lietošanas un iznīcināšanas metodes ir jānosaka atbilstoši vietējo likumdošanas aktu prasībām (38). Šo procedūru drīkst veikt tikai darbinieki, kas ir atbilstoši apmācīti Aptima HIV-1 Quant Dx testa lietošanā un darbā ar iespējami infekcioziem materiāliem.
- M. *Ir novērtēta tikai plazma ar antikoagulantiem EDTA un ACD.*
- N. Lai nodrošinātu parauga rezultātu uzticamību, paraugu pārvadāšanas laikā ievērojiet atbilstošus uzglabāšanas nosacījumus. Nav pētīta paraugu stabilitāte apstākļos, kuros netiek ievēroti ieteiktie pārvadāšanas nosacījumi.
- O. Darbā ar paraugiem nepieļaujiet savstarpēju piesārņošanu. Ievērojiet īpašu piesardzību, lai izvairītos no piesārņojuma aerosolu izplūdes paraugu vāciņu atvēršanas laikā. Paraugi var saturēt ļoti augstu mikroorganismu koncentrāciju. Pārliedzinieties, vai paraugu tvertnes savstarpēji nesaskaras, un izmetiet izlietotos materiālus, nepārviļojot pāri atvērtām tvertnēm. Ja cimdi nonāk saskarē ar paraugu, tie ir jāmaina.

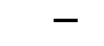
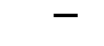
Saistībā ar testu

- P. Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvantitatīvo rezultātu novērtēšanā tika izmantota EDTA and ACD plazma. **Kvantitatīvo rezultātu iegūšanai nedrīkst izmantot serumu.** Kvalitatīvo rezultātu novērtēšanai tika izmantota gan plazma, gan serums.

- Q. Nelietojiet reaģentu komplektu, kalibrēšanas šķīdumu vai kontrolšķīdumus pēc derīguma termiņa beigām.
- R. Nemainiet vietām, nemaisiet un neapvienojiet testa reaģentus no komplektiem, kuriem ir dažādi galvenās partijas numuri. Testa šķīdumu partijas numuri var atšķirties. Kontrolšķīdumu un kalibrēšanas šķīdumu partijas numuri var atšķirties.
- S. Nepieļaujiet reaģentu mikrobioloģisku un nukleāzes piesārņojumu.
- T. Visus testa reaģentus noslēdziet ar vāciņu un uzglabājiet norādītajā temperatūrā. Izmantojot nepareizi uzglabātus testa reaģentus, var tikt ietekmēta testa veiktspēja. Papildinformāciju skatiet sadaļā *Reaģentu uzglabāšanas un apstrādes prasības un Sistēmas Panther testa procedūra*.
- U. Neapvienojiet nekādus testa reaģentus vai šķīdumus, ja nav sniegti īpaši norādījumi. Nepiepildiet reaģentu vai šķīdumu tvertnes līdz malām. Sistēma Panther pārbauda reaģentu līmeņus.
- V. Daži šajā komplektā iekļautie reaģenti ir marķēti ar informāciju par bīstamību.

Piezīme. Informācija par bīstamību atbilst ES drošības datu lapu (SDS) klasifikācijai. Lai iegūtu jūsu reģionam atbilstošu informāciju par bīstamību, skatiet jūsu reģionam atbilstošu drošības datu lapu, kas ir pieejama drošības datu lapu bibliotēkas vietnē www.hologicsds.com. Papildinformāciju par simboliem skatiet simbolu apzīmējumos vietnē www.hologic.com/package-inserts.

Informācija par bīstamību atbilstoši ES klasifikācijai	
—	Amplification Reagent Magnija hlorīds 60–65 % H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.
—	Enzyme Reagent HEPES 1–5 % Triton X-100 1- 5 % H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.
—	Enzyme Reconstitution Solution Glicerīns 20–25 % Triton X-100 5–10 % HEPES 1–5 % H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.
—	Promoter Reagent Magnija hlorīds 60–65 % H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.

	Target Capture Reagent HEPES 15–20 % Laurilsulfāta litija sāls 5–10 % Litija hidroksīds, monohidrāts 1–5 % Dzintarskābe 1–5 % H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.
	HIV VL Kit Controls Cilvēka serums/cilvēka plazma 95–100 % Nātrija azīds <1% H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.
	HIV VL Kit Calibrators Laurilsulfāta litija sāls 0–10 % Dzintarskābe 0–10 % H412 - Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. P273 - Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē. P501 - Atbrīvoties no satura/tvertnes sertificētās atkritumu iznīcināšanas iekārtās.

Reaģentu uzglabāšanas un apstrādes prasības

- A. Šajā tabulā ir norādīti reaģentu, kontrolšķīdumu un kalibrēšanas šķīdumu uzglabāšanas nosacījumi un stabilitāte.

Reaģents	Neatvērta iepakoju uzglabāšana	Atvērts komplekts (sagatavots)	
		Uzglabāšana	Stabilitāte
qHIV-1 amplifikācijas reaģents	2°C līdz 8°C		
qHIV-1 amplifikācijas šķīdinātājs	2°C līdz 8°C	no 2 °C līdz 8 °C	30 dienas ^a
qHIV-1 fermentu reaģents	2°C līdz 8°C		
qHIV-1 fermentu šķīdinātājs	2°C līdz 8°C	no 2 °C līdz 8 °C	30 dienas ^a
qHIV-1 promotera reaģents	2°C līdz 8°C		
qHIV-1 promotera šķīdinātājs	2°C līdz 8°C	no 2 °C līdz 8 °C	30 dienas ^a
qHIV-1 mērķa tveršanas reaģents	2°C līdz 8°C	no 2 °C līdz 8 °C	30 dienas ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (negatīvs kontrolšķīdums)	-15 °C līdz -35 °C	15°C līdz 30°C	Vienreiz lietojams flakons Izlietot 20 stundu laikā
qHIV-1 LPC CONTROL + (zemi pozitīvs kontrolšķīdums)	-15 °C līdz -35 °C	15°C līdz 30°C	Vienreiz lietojams flakons Izlietot 20 stundu laikā
qHIV-1 HPC CONTROL + (augsti pozitīvs kontrolšķīdums)	-15 °C līdz -35 °C	15°C līdz 30°C	Vienreiz lietojams flakons Izlietot 20 stundu laikā
qHIV-1 PCAL (pozitīvs kalibrēšanas šķīdums)	-15 °C līdz -35 °C	15°C līdz 30°C	Vienreiz lietojams flakons Izlietot 20 stundu laikā

^a Kad reaģenti tiek izņemti no sistēmas Panther, tie ir nekavējoties jānovieto atpakaļ atbilstošajā uzglabāšanas temperatūrā.

- B. Neizmantotie lietošanai sagatavotie reaģenti un mērķa tveršanas reaģenti (TCR) ir jālikvidē pēc 30 dienām vai pēc galvenās partijas derīguma termiņa beigām atkarībā no tā, kurš datums iestājas pirmais.
- C. Reaģenti, kas tiek uzglabāti sistēmā Panther, tajā ir stabili 72 stundas. Reaģentus var ievietot sistēmā Panther līdz pat 5 reizēm. Sistēma Panther reģistrē katru reaģentu ievietošanas reizi.
- D. Kalibrēšanas šķīdumam pēc atkausēšanas ir jābūt dzidram, t.i., bez saduļļojuma un nogulsņiem.
- ⚠ E. Promotera reaģents un lietošanai sagatavotais promotera reaģents ir gaismjutīgs. Uzglabāšanas un sagatavošanas lietošanai laikā nodrošiniet šo reaģentu aizsardzību no gaismas.

Paraugu ņemšana un uzglabāšana

Piezīme. Rīkojieties ar visiem paraugiem, it kā tie saturētu iespējamus infekcijas ierosinātājus. Ievērojiet vispārējos piesardzības pasākumus.

Piezīme. Nodrošiniet, lai darbā ar paraugiem nenotiktu savstarpēja piesārņošanās. Piemēram, izmetiet izlietotos materiālus, nepārvietojot pāri atvērtām mēģenēm.

Piezīme. Uzglabāšanai ieteicams izmantot tikai plastmasas sekundārās mēģenes.

Var izmantot tikai pilnasiņu paraugus, kas ir ņemti tālāk norādītajās stikla vai plastmasas mēģenēs.

Kvantitatīvajiem mērījumiem:

- mēģenes, kurās ir etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA) vai dekstrozi saturoša skābā citrāta (ACD) antikoagulantu; vai
- plazmas sagatavošanas mēģenes.

Kvalitatīvai noteikšanai:

- mēģenes, kurās ir etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA) vai dekstrozi saturoša skābā citrāta (ACD) antikoagulantu; vai
- plazmas sagatavošanas mēģenes; vai
- seruma mēģenes; vai
- seruma separatora mēģenes.

Izmantojot serumu, pirms tālākas apstrādes ļaujiet izveidoties receklim.

A. Paraugu ņemšana

Pilnasinis var uzglabāt 2–30 °C temperatūrā, un 24 stundu laikā pēc paraugu ņemšanas ir jāveic to centrifugēšana. Atdaliet plazmu vai serumu no granulētajiem sarkanajiem asinsķermenīšiem atbilstoši izmantojamās mēģenes ražotāja norādījumiem. Plazmas vai seruma testēšanu sistēmā Panther var veikt primārajā mēģenē, vai arī to var pārnest uz sekundāro mēģeni, piemēram, Aptima paraugu alikvotās daļas mēģeni. Lai iegūtu reakcijas tilpumu 500 µl, minimālais plazmas vai seruma tilpums primārajām paraugu ņemšanas mēģenēm ir līdz 1200 µl, bet sekundārajām mēģenēm minimālais tilpums ir 700 µl. Nākamajā tabulā ir norādītas neizmantojamā tilpuma prasības attiecībā uz katru primārās un sekundārās mēģenes veidu.

Mēģene (lielums un veids)	Neizmantojamais tilpums sistēmā Panther
Aptima paraugu alikvotās daļas mēģene (SAT)	0,2 ml
12x75 mm	0,5 ml
13x100 mm	0,5 ml
13x100 mm, ar gelu	0,3 ml
16x100 mm, ar gelu	0,7 ml

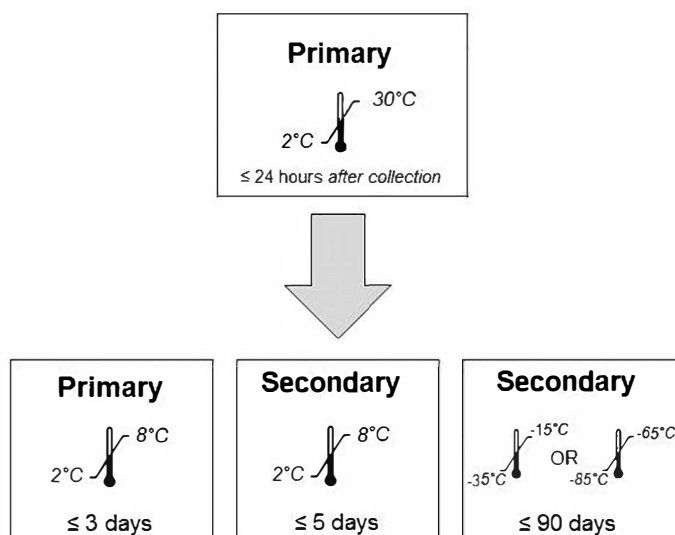
Ja testēšana tūlīt netiek veikta, plazmu un serumu var uzglabāt atbilstoši tālāk norādītajām tehniskajām prasībām. Ja plazma tiek pārnesta uz sekundāro mēģeni, plazmu var sasaldēt -20 °C vai -70 °C temperatūrā, bet serumu var sasaldēt -20 °C temperatūrā. Lai netiktu ietekmēts testa rezultāts, neveiciet vairāk par trim sasaldēšanas/atkausēšanas cikliem. Paraugus nedrīkst sasaldēt etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA), dekstrozi saturoša skābā citrāta (ACD) vai seruma primārajās paraugu ņemšanas mēģenēs.

B. Paraugu uzglabāšanas nosacījumi

1. Plazmas paraugi, kuriem pievienots etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA) vai dekstrozi saturoša skābā citrāta (ACD) antikoagulants

Primārās mēģenes, kurās ir centrifugēta plazma, 24 stundas pēc paraugu ņemšanas var uzglabāt 2–30 °C temperatūrā (1.att., augšējais lodziņš). Kad ir pagājušas 24 stundas, plazmu drīkst uzglabāt vēl ilgāk, ja tiek nodrošināta atbilstība kādam no tālāk minētajiem nosacījumiem (1.att., apakšējie lodziņi):

- primārajā paraugu ņemšanas mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 3 dienām;
- sekundārajā mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 5 dienām; vai
- sekundārajā mēģenē -20 °C vai -70 °C temperatūrā līdz 90 dienām.

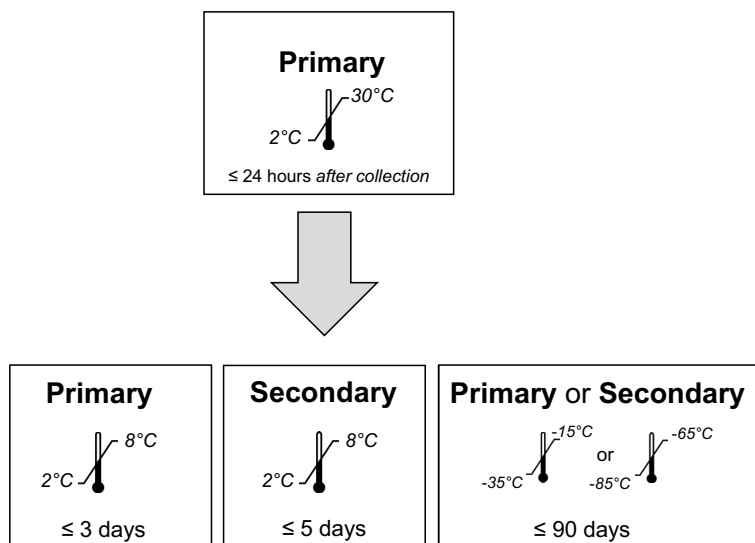


1.attēls Etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA)/dekstrozi saturoša skābā citrāta (ACD) mēģeņu uzglabāšanas nosacījumi

2. Plazmas sagatavošanas mēģenēs esošie paraugi

Plazmas sagatavošanas mēģenes, kurās ir centrifugēta plazma, 24 stundas pēc paraugu ņemšanas var uzglabāt 2–30 °C temperatūrā (2.att., augšējais lodziņš). Kad ir pagājušas 24 stundas, plazmu drīkst uzglabāt vēl ilgāk, ja tiek nodrošināta atbilstība kādam no tālāk minētajiem nosacījumiem (2.att., apakšējie lodziņi):

- plazmas sagatavošanas mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 3 dienām;
- sekundārajā mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 5 dienām; vai
- plazmas sagatavošanas mēģenē vai sekundārajā mēģenē -20 °C vai -70 °C temperatūrā līdz 90 dienām.

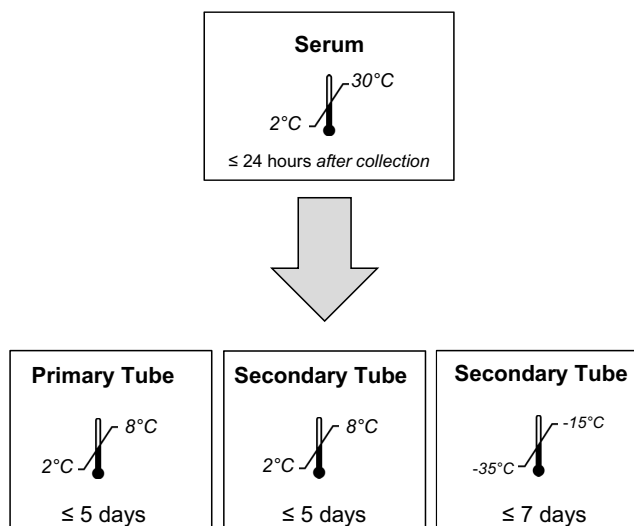


2.attēls Plazmas sagatavošanas mēģeņu uzglabāšanas nosacījumi

3. Seruma mēģenēs esošie paraugi

Seruma mēģenes, kurās ir centrifugēts serums, 24 stundas pēc paraugu ņemšanas var uzglabāt 2–30 °C temperatūrā (3.att., augšējais lodziņš). Kad ir pagājušas 24 stundas, serumu drīkst uzglabāt vēl ilgāk, ja tiek nodrošināta atbilstība kādam no tālāk minētajiem nosacījumiem (3.att., apakšējie lodziņi):

- seruma mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 5 dienām;
- sekundārajā mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 5 dienām; vai
- sekundārajā mēģenē -20 °C temperatūrā līdz 7 dienām.

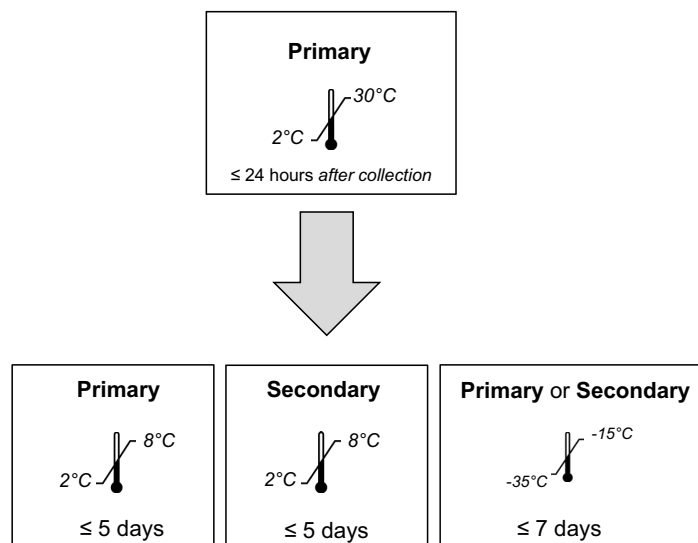


3.attēls Seruma mēģeņu uzglabāšanas nosacījumi

4. Seruma separatora mēģenēs esošie paraugi

Seruma separatora mēģenes, kurās ir centrifugēts serums, 24 stundas pēc paraugu ņemšanas var uzglabāt 2–30 °C temperatūrā (4.att., augšējais lodziņš). Kad ir pagājušas 24 stundas, serumu drīkst uzglabāt vēl ilgāk, ja tiek nodrošināta atbilstība kādam no tālāk minētajiem nosacījumiem (4.att., apakšējie lodziņi):

- seruma separatora mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 5 dienām;
- sekundārajā mēģenē 2–8 °C temperatūrā līdz 5 dienām; vai
- sekundārajā mēģenē vai seruma separatora mēģenē -20 °C temperatūrā līdz 7 dienām.



4.attēls Seruma separatora mēģeņu uzglabāšanas nosacījumi

C. Plazmas paraugu atšķaidīšana

Lai veiktu testēšanu sistēmā Panther, plazmas paraugu var atšķaidīt paraugu alikvotās daļas mēģenē (SAT) vai sekundārajā mēģenē. Papildinformāciju skatiet sadaļas *Sistēmas Panther testa procedūra* E.5. punktā tālāk.

Piezīme. Ja paraugs tiek atšķaidīts, tā testēšana ir jāveic tūlīt pēc atšķaidīšanas. Atšķaidītu paraugu nedrīkst sasaldēt.

⚠ *Plazmas paraugu atšķaidīšanu drīkst izmantot tikai kvantitatīvu rezultātu iegūšanai. Plazmas paraugus nedrīkst atšķaidīt diagnostisku rezultātu iegūšanai.*

Paraugi sistēmā Panther

Paraugus var atstāt sistēmā Panther bez vāciņiem ne ilgāk par 8 stundām. Paraugus var izņemt no sistēmas Panther un testēt, ja to kopējais atrašanās laiks sistēmā nepārsniedz 8 stundas, līdz sistēma Panther veic parauga pipetēšanu.

Paraugu transportēšana

Nodrošiniet paraugu uzglabāšanas apstākļus, kas norādīti sadaļā *Paraugu ņemšana un uzglabāšana*.

Piezīme. Paraugi ir jāpiegādā saskaņā ar spēkā esošajiem valsts, starptautiskajiem un reģionālajiem transportēšanas noteikumiem.

Sistēma Panther®

Tālāk ir norādīti Aptima HIV-1 Quant Dx testa reaģenti, kas ir piemēroti sistēmai Panther. Blakus reaģenta nosaukumam ir norādīti arī reaģentu identifikācijas simboli.

Komplektācijā iekļautie reaģenti un materiāli

Aptima HIV-1 Quant Dx testa komplekts, 100 testi, kataloga numurs PRD-03000 (1 testu kārba, 1 kalibrēšanas šķīdumu komplekts un 1 kontrolšķīdumu komplekts)
Papildu kalibrēšanas šķīdumus un kontrolšķīdumus var pasūtīt atsevišķi. Attiecīgie kataloga numuri ir norādīti tālāk.

Aptima HIV-1 Quant Dx testa kārba

(pēc saņemšanas uzglabāt 2°C līdz 8°C temperatūrā)

Simbols	Sastāvdaļa	Daudzums
A	qHIV-1 amplifikācijas reaģents <i>Neinfekciozas izžāvētas nukleīnskābes buferšķīdumā</i>	1 flakons
E	qHIV-1 fermentu reaģents <i>Izžāvēta reversā transkriptāze un RNS polimerāze HEPES buferšķīdumā</i>	1 flakons
PRO	qHIV-1 promotera reaģents <i>Neinfekciozas izžāvētas nukleīnskābes buferšķīdumā</i>	1 flakons
AR	qHIV-1 amplifikācijas šķīdinātājs <i>Glicerīnu un konservantus saturošs ūdens šķīdums</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHIV-1 fermentu šķīdinātājs <i>HEPES buferšķīdums, kas satur virsmaktīvo vielu un glicerīnu.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHIV-1 promotera šķīdinātājs <i>Glicerīnu un konservantus saturošs ūdens šķīdums</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHIV-1 mērķa tveršanas reaģents <i>Nukleīnskābes buferētā sāls šķīdumā, kas satur cieto fāzi, neinfekciozas nukleīnskābes un kalibrēšanas šķīdumu.</i>	1 x 72,0 ml
	Atšķaidīšanas manšetes	3
	Galvenās partijas svītrkodu lapa	1 lapa

Aptima HIV-1 Quant Dx kalibrēšanas šķīdumu komplekts (kataloga numurs PRD-03001)
(pēc saņemšanas uzglabāt -15 °C līdz -35 °C temperatūrā)

Simbols	Sastāvdaļa	Daudzums
PCAL	qHIV-1 pozitīvs kalibrēšanas šķīdums <i>Transkripts buferētā šķīdumā.</i>	5 x 2,5 ml
	Kalibrēšanas šķīduma svītrkoda etiķete	—

Aptima HIV-1 Quant Dx kontrolšķīdumu komplekts (kataloga numurs PRD-03002)
(pēc saņemšanas uzglabāt -15 °C līdz -35 °C temperatūrā)

Simbols	Sastāvdaļa	Daudzums
NC	qHIV-1 negatīvs kontrolšķīdums <i>Defibrinēta cilvēka plazma, kas ir HIV-1 negatīva un kā konservantus satur gentamicīnu un 0,2% nātrija azīda.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	qHIV-1 zemi pozitīvs kontrolšķīdums <i>Neinfekcioza HIV-1 Armored RNA defibrinētā cilvēka plazmā, kas kā konservantus satur gentamicīnu un 0,2% nātrija azīda.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	qHIV-1 augsti pozitīvs kontrolšķīdums <i>Neinfekcioza HIV-1 Armored RNA defibrinētā cilvēka plazmā, kas kā konservantus satur gentamicīnu un 0,2% nātrija azīda.</i>	5 x 1,5 ml
	Kontrolšķīdumu svītrkoda etiķete	—

Nepieciešamie materiāli, kas pieejami atsevišķi

Piezīme. Hologic piedāvātajiem materiāliem ir norādīti kataloga numuri, ja vien nav norādīts citādi.

Materiāls	Kataloga numurs
Sistēma Panther®	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Sistēma Panther® System, nepārtraukta šķidrumu un atkritumu aizvadīšana (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx kontrolmateriālu komplekts	PRD-03002
Aptima® HIV-1 Quant Dx kalibratora komplekts	PRD-03001
Panther Run Kit (izpildes cikla komplekts) reāllaika testiem (tikai reāllaika testiem)	PRD-03455 (5000 testi)
<i>Aptima® testa šķidrumu komplektā (dēvēts arī par universālo šķidrumu komplektu) ietilpst Aptima® Wash Solution (mazgāšanas šķidrums), Aptima® Buffer for Deactivation Fluid (deaktivēšanas buferšķidrums) un Aptima® Oil Reagent (eļļas reaģents)</i>	303014 (1000 testi)
<i>Vairāku mēģeņu bloki (MTU)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit (atkritumu maisu komplekts)</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover (atkritumu tvertnes pārsegs)</i>	504405
Vai Panther System Run Kit (izpildes cikla komplekts) <i>(veicot transkripcijas mediētas amplifikācijas (TMA) testus, kas nav reāllaika testi, paralēli reāllaika transkripcijas mediētas amplifikācijas (TMA) testiem) satur vairāku mēģeņu blokus (MTU), atkritumu maisus, atkritumu tvertņu pārsegi, automātiskās noteikšanas šķidrumu un testa šķidrumu</i>	303096 (5000 testi)
Vienreizlietojamie uzgaļi, 1000 µl, filtrēti, vadītspējīgi, šķidrumu uztveroši. <i>Ne visi izstrādājumi ir pieejami visos reģionos. Lai iegūtu informāciju par attiecīgo reģionu, sazinieties ar pārstāvi.</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Balinātājs, no 5% līdz 8,25% (0,7 M–1,16 M) nātrija hipohlorīta šķidrums	—
Vienreiz lietojami cimdi bez talka	—
Necaurdurami rezerves vāciņi	103036A
Reaģenta rezerves vāciņi <i>Amplifikācijas, fermentu un promotera reaģentu atšķaidīšanas pudeles</i> CL0041 (100 vāciņi) <i>Mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudele</i> CL0040 (100 vāciņi)	
Laboratorijas galda pārsegi ar plastmasas apakšslāni	—
Bezplūksnu salvetes	—
Dozēšanas pipete	—
Uzgaļi	—
Primārās paraugu ņemšanas mēģenes (dekstrozi saturoša skābā citrāta (ACD), etilēndiamīntetraetiķskābes (EDTA), plazmas sagatavošanas, seruma separatora, seruma) varianti:	— — —
13 mm x 100 mm	
13 mm x 75 mm	
16 mm x 100 mm	
Centrifūga	—
Virpuļmaisītājs	—

Papildu materiāli

Materiāls	Kataloga numurs
Sekundārās mēģenes varianti:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima® paraugu alikvotās daļas mēģenes (SAT) (iepakojumā 100 gab.)	FAB-18184
Transportēšanas mēģenes vāciņi (iepakojumā 100 gab.) paraugu alikvotās daļas mēģenēm (SAT) paredzēti vāciņi	504415
Aptima® paraugu šķīdinātājs	PRD-03003
Aptima® paraugu šķīdinātāja komplekts ietilpst paraugu šķīdinātājs, 100 paraugu alikvotās daļas mēģenes (SAT) un 100 vāciņi	PRD-03478
Pārnesšanas pipetes	—
Tirdzniecībā pieejamie paneļi, piemēram: organizācijas Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) HIV-1 panelis vai Amerikas patologu koledžas (College of American Pathologists — CAP) cilvēka imūndeficīta vīrusa slodzes pārbaudes panelis vai SeraCare ACCURUN HIV paneļi	—
Uztriepes vates tamponi	
Galda pārsegi ar plastmasas apakšslāni	—
Mēģeņu kratītājs	—

Sistēmas Panther testa procedūra

Piezīme. Papildinformāciju par procedūrām skatiet sistēmas Panther/Panther Fusion operatora rokasgrāmatā.

A. Darba vietas sagatavošana

1. Notīriet darba virsmas, uz kurām tiks sagatavoti reaģenti. Noslaukiet darba virsmas ar 2,5–3,5% (0,35–0,5 M) nātrija hipohlorīta šķīdumu. Atstādiet nātrija hipohlorīta šķīdumu uz virsmām vismaz vienu minūti un pēc tam noskalojiet ar dejonizētu ūdeni. Neļaujiet nātrija hipohlorīta šķīdumam izžūt. Pārklājiet galda virsmu, uz kuras tiks sagatavoti reaģenti un paraugi, ar tīriem absorbējošiem laboratorijas galda pārsegumiem, kuriem ir plastmasas apakšslānis.
2. Notīriet atsevišķu darba virsmu, uz kuras tiks sagatavoti paraugi. Izmantojiet iepriekš minēto procedūru (A.1. punkts).
3. Notīriet dozēšanas pipetes. Izmantojiet iepriekš minēto procedūru (A.1. punkts).

B. Kalibrēšanas šķīdumu un kontrolšķīdumu sagatavošana

Pirms apstrādes uzgaidiet, līdz kalibrēšanas šķīdums un kontrolšķīdums sasniedz 15–30 °C temperatūru, kā norādīts tālāk.

1. Izņemiet kalibrēšanas šķīdumu un kontrolšķīdumu no glabātavas (temperatūrā no -15 °C līdz -35 °C) un novietojiet vietā, kur temperatūra ir 15 °C–30 °C. Atkausēšanas procesa laikā uzmanīgi apvēršiet katru mēģeni, lai rūpīgi samaisītu tās saturu. Pirms lietošanas pārliicinieties, vai mēģeņu saturs ir pilnībā atkusis.

Izvēles iespēja. Kalibrēšanas šķīduma un kontrolšķīduma mēģenes var novietot uz mēģeņu kratītāja, lai rūpīgi samaisītu to saturu. Pirms lietošanas pārliicinieties, vai mēģeņu saturs ir pilnībā atkusis.

Piezīme. Apgriežot kalibrēšanas šķīduma un kontrolšķīdumu mēģenes otrādi, centieties neradīt pārmērīgi daudz putu. Putas negatīvi ietekmē līmeņa noteikšanu sistēmā Panther.

2. Kad mēģeņu saturs ir atkusis, nosusiniet mēģenes ārpusi ar tīru un sausu vienreizlietojamo salveti.
3. Lai nepieļautu piesārņošanu, šajā brīdī neatveriet mēģenes.

C. Reaģentu sagatavošana/jauna komplekta sagatavošana

Piezīme. Reaģenti pirms darba sākšanas ar sistēmu Panther ir jāsgatavo lietošanai.

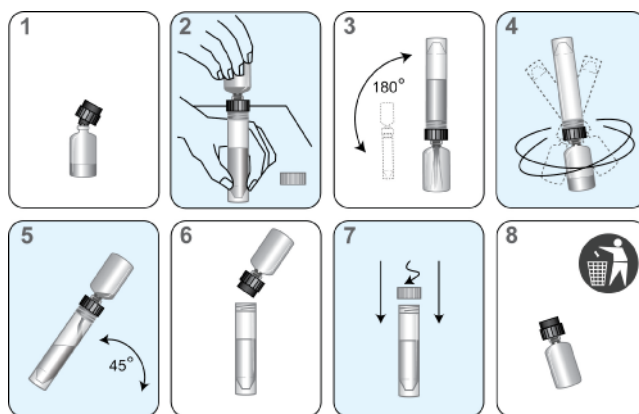
1. Lai sagatavotu mērķa tveršanas reaģentu (TCR), veiciet tālāk norādītās darbības.
 - a. Izņemiet mērķa tveršanas reaģentu (TCR) no glabātavas (2–8 °C). Pārbaudiet, vai partijas numurs uz mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudeles atbilst partijas numuram, kas norādīts galvenās partijas svītrkodu lapā.
 - b. Tūlīt spēcīgi sakratiet mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudeli 10 reizes. Uzgaidiet, līdz mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudele uzsilst 15–30 °C temperatūrā vismaz 45 minūtes. Šajā laikā virpuļveidā grieziet mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudeli un apvērsiet to vismaz vienreiz ik pa desmit minūtēm.

Izvēles iespēja. Mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudeli var sagatavot uz mēģeņu kratītāja, izpildot tālāk sniegtos norādījumus. Izņemiet mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudeli no glabātavas (2–8 °C) un tūlīt spēcīgi sakratiet 10 reizes. Novietojiet mērķa tveršanas reaģenta (TCR) pudeli uz mēģeņu kratītāja un uzgaidiet, līdz tā uzsilst 15–30 °C temperatūrā vismaz 45 minūtes.

- c. Pirms lietošanas pārlicinieties, vai visas nogulsnes ir izšķīdušas un magnētiskās daļiņas ir suspendētas.
2. Lai atšķaidītu amplifikācijas, fermentu un promotera reaģentus, veiciet tālāk norādītās darbības.
 - a. Izņemiet liofilizētos reaģentus un atbilstošos šķīdinātājus no glabātavas (2–8 °C). Nodrošiniet, lai katram šķīdinātājam būtu atbilstošs liofilizētais reaģents.
 - b. Nodrošiniet, lai šķīdinātāja un liofilizētā reaģenta etiķetes būtu vienā krāsā. Pārbaudiet partiju numurus galvenās partijas svītrkodu lapā, lai kopā tiktu izmantoti atbilstošie reaģenti.
 - i. Atveriet liofilizētā reaģenta flakonu, noņemot metāla noslēgu un gumijas aizbāzni.
 - ii. Cieši ievietojiet atšķaidīšanas manšetes roboto galu (melns) flakona atverē (5.att., 1. darbība).
 - iii. Atveriet atbilstošo šķīdinātāja pudeli un novietojiet tās vāciņu uz tīras un pārklātas darba virsmas.
 - iv. Novietojiet šķīdinātāja pudeli uz stabilas virsmas (t.i., uz galda). Pēc tam apvērsiet liofilizētā reaģenta flakonu virs šķīdinātāja pudeles un cieši piestipriniet manšeti šķīdinātāja pudelei (5.att., 2. darbība).
 - v. Lēni apvērsiet savienotās pudeles (flakonu, kas piestiprināts šķīduma pudelei), lai šķīdums varētu ieplūst stikla flakonā (5.att., 3. darbība).
 - vi. Paņemiet savienotās pudeles un ar virpuļveida kustību grieziet vismaz 10 sekundes (5.att., 4. darbība).
 - vii. Uzgaidiet vismaz 30 minūtes, līdz liofilizētais reaģents sajaucas ar šķīdumu.

- viii. Pēc liofilizētā reaģenta sajaukšanās ar virpuļveida kustību grieziet savienotās pudeles vismaz 10 sekundes un pēc tam viegli sakratiet šķīdumu stikla flakonā, lai to rūpīgi samaisītu.
- Vēlreiz lēnām sagāziet savienotās pudeles, lai viss šķīdums ieplūstu atpakaļ šķīdinātāja pudelē (5.att., 5. darbība).
 - Uzmanīgi noņemiet atšķaidīšanas manšeti un stikla flakonu (5.att., 6. darbība).
 - Uzlieciet atpakaļ pudeles vāciņu. Uz etiķetes uzrakstiet operatora iniciāļus un atšķaidīšanas datumu (5.att., 7. darbība).
 - Izmetiet atšķaidīšanas manšeti un stikla flakonu (5. attēls, 8. darbība).

Brīdinājums. Reaģentu atšķaidīšanas laikā uzmanieties, lai neveidotos pārmērīgi daudz putu. Putas negatīvi ietekmē līmeņa noteikšanu sistēmā Panther.



5.attēls Reaģenta sagatavošanas process

D. Iepriekš sagatavotu reaģentu sagatavošana

- Izņemiet iepriekš sagatavotos reaģentus no glabātavas (2–8 °C).
- Pirms testa sākšanas iepriekš sagatavotajiem amplifikācijas, fermentu un promotera reaģentiem, kā arī mērķa tveršanas reaģentam (TCR), ir jāuzsilst līdz 15–30 °C temperatūrai.
- Pirms iepriekš sagatavota mērķa tveršanas reaģenta (TCR) ielādēšanas sistēmā veiciet darbību, kas norādīta C.1. punktā, kā norādīts iepriekš.
- Pirms ielādes sistēmā virpuļveidā grieziet un apvēršiet amplifikācijas, fermentu un promotera reaģentu pudeles, lai rūpīgi samaisītu to saturu. Apvēršot reaģentu pudeles, uzmanieties, lai neveidotos pārmērīgi daudz putu.
- Nepiepildiet reaģentu pudeles līdz malām. Sistēma Panther atpazīst un noraida pudeles, kas ir piepildītas līdz malām.

E. Darbs ar paraugiem

- Pārliecinieties, vai apstrādātie paraugi primārajās mēģenēs un neatšķaidītie paraugi sekundārajās mēģenēs ir pareizi uzglabāti, kā norādīts sadaļā “Paugaņu ņemšana un uzglabāšana” 8.lpp.
- Sasaldētajiem paraugiem jābūt pilnībā atkusušiem. 3–5 sekundes virpuļveidā maisiet atkausētos paraugus, lai tos rūpīgi samaisītu.
- Pirms apstrādes paraugiem ir jāuzsilst līdz 15–30 °C temperatūrai, kā norādīts tālāk. Papildinformāciju par paraugu atrašanos sistēmā skatiet sadaļā *Paraugi sistēmā Panther*.

4. Katrā primārajā paraugu ņemšanas mēģenē ir jābūt līdz 1200 µl parauga vai katrā parauga alikvotās daļas mēģenē (SAT) ir jābūt vismaz 700 µl parauga. Lai noteiktu neizmantojamā tilpuma prasības katram primārās un sekundārās mēģenes veidam, skatiet tabulu, kas iekļauta sadaļā *Paraugu ņemšana* 8.lpp. Ja paraugs ir jāatšķaida, papildinformāciju skatiet tālāk E.5. punktā.
5. Atšķaidiet plazmas paraugu parauga alikvotās daļas mēģenē (SAT) attiecībā 1:3 vai sekundārajā mēģenē attiecībā 1:100.

Lai veiktu testēšanu sistēmā Panther, plazmas paraugu var atšķaidīt sekundārajā mēģenē.

- ⚠ Plazmas paraugu atšķaidīšanu drīkst izmantot tikai kvantitatīvu rezultātu iegūšanai. Plazmas paraugus nedrīkst atšķaidīt diagnostisku rezultātu iegūšanai.

Piezīme. Ja paraugs tiek atšķaidīts, tā testēšana ir jāveic tūlīt pēc atšķaidīšanas.

a. Maza tilpuma paraugu atšķaidīšana

Plazmas paraugu tilpumu var palielināt līdz minimāli nepieciešamajam tilpumam (700 µl), izmantojot Aptima paraugu šķīdinātāju. Plazmas paraugus, kuru tilpums ir vismaz 240 µl, var atšķaidīt ar divām daļām paraugu šķīdinātāja (attiecībā 1:3), kā norādīts tālāk.

- i. Ievietojiet 240 µl parauga mēģenē parauga alikvotās daļas mēģenē (SAT).
- ii. Pievienojiet 480 µl Aptima paraugu šķīdinātāja.
- iii. Uzlieciet mēģenei vāciņu.
- iv. Lai samaisītu, uzmanīgi apvērsiet 5 reizes.

Paraugus, kas atšķaidīti attiecībā 1:3, var testēt, izmantojot sistēmā Panther pieejamo opciju 1:3 (papildinformāciju skatiet *sistēmas Panther/Panther Fusion operatora rokasgrāmatā*). Programmatūra automātiski norāda tīro rezultātu, lietojot atšķaidījuma pakāpi. Šie paraugi tiek atzīmēti kā atšķaidīti paraugi.

b. Augsta titra paraugu atšķaidīšana

Ja parauga rezultāts ir virs kvantitatīvās noteikšanas augstākās robežas, to var atšķaidīt ar 99 daļām Aptima paraugu šķīdinātāja (attiecībā 1:100), kā norādīts tālāk.

- i. Parauga alikvotās daļas mēģenē (SAT) vai sekundārajā mēģenē ievietojiet 30 µl parauga.
- ii. Pievienojiet 2970 µl Aptima paraugu šķīdinātāja.
- iii. Uzlieciet mēģenei vāciņu.
- iv. Lai samaisītu, uzmanīgi apvērsiet 5 reizes.

Paraugus, kas atšķaidīti attiecībā 1:100, var testēt, izmantojot sistēmā Panther pieejamo opciju 1:100 (papildinformāciju skatiet *sistēmas Panther/Panther Fusion operatora rokasgrāmatā*). Programmatūra automātiski norāda tīro rezultātu, lietojot atšķaidījuma pakāpi. Šie paraugi tiek atzīmēti kā atšķaidīti paraugi.

Piezīme. Atšķaidītiem paraugiem, kuru tīrā koncentrācija pārsniedz kvantitatīvās noteikšanas augstāko robežu (ULOQ), rezultāti tiek norādīti eksponenciālā pierakstā.

6. Tieši pirms paraugu ielādes paraugu statīvā centrifugējiet katru paraugu 10 minūtes, izmantojot 1000–3000 g. Nenoņemiet vāciņus. Mēģenē esoši burbuļi var apgrūtināt līmeņa noteikšanu sistēmā Panther.

Informāciju par ievietošanu statīvā un vāciņu noņemšanu skatiet tālāk sadaļas *Sistēmas sagatavošana* F.2. punktā.

F. Sistēmas sagatavošana

1. Iestatiet sistēmu atbilstoši norādījumiem, kas sniegti sistēmas *Panther/Panther Fusion operatora rokasgrāmatā* un sadaļā *Piezīmes par procedūru*. Pārliecinieties, vai tiek lietoti piemērota lieluma reaģentu statīvi un mērķa tveršanas reaģenta (TCR) adapteri.
2. Ievietojiet paraugus paraugu statīvā. Veiciet tālāk norādītās darbības katrai parauga mēģenei (parauga un, ja nepieciešams, arī kalibrēšanas šķīduma un kontrolšķīdumu mēģenēm).

- a. Atskrūvējiet vienas paraugu mēģenes vāciņu, bet vēl to nenoņemiet.

Piezīme. Ievērojiet īpašu piesardzību, lai izvairītos no piesārņojuma, ko var izraisīt aerosolu izplūde. Uzmanīgi atskrūvējiet paraugu vāciņus.

- b. Parauga mēģeni ievietojiet paraugu statīvā.
- c. Katram atlikušajam paraugam atkārtojiet darbības, kas minētas 2.a. un 2.b. punktā.
- d. Pēc paraugu ievietošanas paraugu statīvā noņemiet un izmetiet visus paraugu mēģeņu vāciņus no viena paraugu statīva. Lai izvairītos no piesārņojuma, nepārvietojiet vāciņus pāri citiem paraugu statīviem vai paraugu mēģenēm.
- e. Ja nepieciešams atbrīvoties no burbuļiem vai putām, izmantojiet jaunu vienreizlietojamu pārnesšanas pipeti.
- f. Kad ir noņemti visi vāciņi, ievietojiet paraugu statīvu paraugu nodalījumā.

Piezīme. Ja vienlaicīgi tiek izpildīti citi testi un apstrādāti citu veidu paraugi, pirms paraugu statīva ievietošanas paraugu nodalījumā nostipriniet paraugu fiksatoru.

- g. Nākamajam paraugu statīvam atkārtojiet darbības, kas minētas no 2.a. līdz 2.f. punktam.

Piezīmes par procedūru

A. Kalibrēšanas šķīdums un kontrolšķīdumi

1. qHIV-1 pozitīva kalibrēšanas šķīduma, qHIV-1 zemi pozitīva kontrolšķīduma, qHIV-1 augsti pozitīva kontrolšķīduma un qHIV-1 negatīva kontrolšķīduma mēģenes var ievietot jebkādā pozīcijā sistēmas Panther paraugu statīvā un jebkurā paraugu nodalījuma joslā. Kad tiek izpildīts kāds no diviem tālāk norādītajiem nosacījumiem, tiek sākta parauga pipetēšana.
 - a. Sistēma pašlaik apstrādā kalibrēšanas šķīdumu un kontrolšķīdumus.
 - b. Sistēmā tiek reģistrēti derīgi kalibrēšanas šķīduma un kontrolšķīdumu rezultāti.
2. Kad kalibrēšanas šķīduma un kontrolšķīduma mēģenes ir ar pipeti piepildītas un tiek veikta apstrāde Aptima HIV-1 Quant Dx testa reaģentu komplekta izmantošanai, attiecīgo sagatavoto komplektu var izmantot paraugu testēšanai ne ilgāk kā 24 stundas, ja vien nenotiek nekas no tālāk **norādītā**.
 - a. Kalibrēšanas šķīduma vai kontrolšķīdumu rezultāti nav derīgi.
 - b. Saistītais testa reaģentu komplekts ir izņemts no sistēmas.
 - c. Ir pārsniegta saistītā testa reaģentu komplekta stabilitātes robeža.

3. Kalibrēšanas šķīduma un katru kontrolšķīduma mēģeni var izmantot vienreiz. Mēģinot izmantot mēģeni vairākas reizes, var izraisīt apstrādes kļūdas.

B. Cimdu talka

Tāpat kā darbā ar jebkuru reaģentu sistēmu pārāk liels talka daudzums uz noteiktu veidu cimdiem var izraisīt atvērtu mēģeņu piesārņošanu. Ieteicams lietot cimdus bez talka.

Kvalitātes kontrole

Izpildes ciklu vai parauga rezultātu operators var atzīt kā nederīgu, ja testa izpildes laikā tiek novēroti un dokumentēti tehniski, ar operatoru saistīti vai ar instrumentiem saistīti sarežģījumi. Tādā gadījumā paraugi ir atkārtoti jātestē.

Testa kalibrēšana

Lai ģenerētu derīgus rezultātus, ir nepieciešama testa kalibrēšana. Viens pozitīvs kalibrēšanas šķīdums tiek izmantots trijos eksemplāros ikreiz, kad sistēmā Panther tiek ielādēts reaģentu komplekts. Pēc tam kalibrēšana ir derīga ne ilgāk kā 24 stundas. Sistēmas Panther programmatūra ziņo operatoram, ja ir nepieciešama kalibrēšana. Operators pārbauda kalibrēšanas koeficientu, kas norādīts katrā reaģentu komplektā iekļautajā galvenās partijas svītrkodu lapā.

Apstrādes laikā sistēmas Panther programmatūra automātiski pārbauda kalibrēšanas šķīduma akceptēšanas kritērijus. Ja ir derīgi mazāk par diviem kalibrēšanas šķīduma replikātiem, programmatūra automātiski reģistrē izpildes ciklu kā nederīgu. Nederīgā izpildes cikla paraugi ir vēlreiz jātestē, izmantojot no jauna sagatavotu kalibrēšanas šķīdumu un no jauna sagatavotus kontrolšķīdumus.

Negatīvi un pozitīvi kontrolšķīdumi

Lai ģenerētu derīgus rezultātus, ir nepieciešama testa kontrolšķīdumu komplekta testēšana. Ikreiz, kad reaģentu komplekts tiek ielādēts sistēmā Panther, ir jāveic viena negatīvā kontrolšķīduma, viena zemi pozitīvā kontrolšķīduma un viena augsti pozitīvā kontrolšķīduma replikāta testēšana. Pēc tam kontrolšķīdumi ir derīgi 24 stundas. Sistēmas Panther programmatūra ziņo operatoram, tiklīdz ir nepieciešami kontrolšķīdumi.

Apstrādes laikā sistēmas Panther programmatūra automātiski pārbauda kontrolšķīdumu akceptēšanas kritērijus. Lai ģenerētu derīgus rezultātus, negatīvā kontrolšķīduma rezultātam ir jābūt "Not Detected" (Nav konstatēts) un pozitīvo kontrolšķīdumu rezultātiem ir jābūt iepriekšdefinēto parametru diapazonā. Ja kāda kontrolšķīduma rezultāts nav derīgs, programmatūra automātiski reģistrē izpildes ciklu kā nederīgu. Nederīgā izpildes cikla paraugi ir vēlreiz jātestē, izmantojot no jauna sagatavotu kalibrēšanas šķīdumu un no jauna sagatavotus kontrolšķīdumus.

Iekšējais kalibrēšanas šķīdums/iekšējie kontrolšķīdumi

Katrs paraugs satur iekšējo kalibrēšanas šķīdumu/iekšējo kontrolšķīdumu (IC). Apstrādes laikā sistēmas Panther programmatūra automātiski pārbauda iekšējā kalibrēšanas šķīduma/iekšējā kontrolšķīduma (IC) akceptēšanas kritērijus. Ja iekšējā kalibrēšanas šķīduma/iekšējā kontrolšķīduma (IC) rezultāts nav derīgs, parauga rezultāts tiek atzīts kā nederīgs. Katrs paraugs, kuram ir nederīgs iekšējā kalibrēšanas šķīduma/iekšējā kontrolšķīduma (IC) rezultāts, ir atkārtoti jātestē, lai iegūtu derīgu rezultātu.

Sistēmas Panther programmatūra ir projektēta tā, lai procedūru izpildes laikā precīzi pārbaudītu procesus atbilstoši norādījumiem, kas sniegti šajā lietošanas instrukcijā un *sistēmas Panther/Panther Fusion operatora rokasgrāmatā*.

Rezultātu interpretēšana

Piezīme. Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvantitatīvo rezultātu novērtēšanā tika izmantota plazma. Kvantitatīvo rezultātu iegūšanai nedrīkst izmantot serumu. Kvalitatīvo rezultātu novērtēšanai tika izmantota gan plazma, gan serums.

Sistēma Panther automātiski nosaka HIV-1 RNS koncentrāciju paraugos un kontrolšķīdumos, salīdzinot šos rezultātus ar kalibrēšanas līkni. HIV-1 RNS koncentrācijas tiek norādītas kā kopijas/ml un $\log_{10}$ kopijas/ml. Rezultātu interpretācija ir norādīta 1.tab. Ja atšķaidītiem paraugiem tiek lietota atšķaidīšanas attiecība 1:3 vai 1:100, sistēma Panther automātiski aprēķina HIV-1 koncentrāciju neatšķaidītā paraugā, atšķaidīto koncentrāciju reizinot ar atšķaidījuma pakāpi, un atšķaidītie paraugi tiek atzīmēti kā atšķaidīti.

Piezīme. Atšķaidītiem paraugiem rezultātus, kas norādīti kā "Not Detected" (Nav konstatēts) vai "<30 detected" (Konstatēts <30), var tikt ģenerēti, atšķaidot paraugu ar koncentrāciju, kas pārsniedz, bet ir tuvu kvalitatīvās noteikšanas robežai (LoD) vai kvantitatīvās noteikšanas zemākajai robežai (LLOQ). Ja netiek iegūts kvantitatīvs rezultāts, ir ieteicams iegūt un testēt citu neatšķaidītu paraugu.

Sistēma Panther nenodrošina kvalitatīvu rezultātu (piemēram, "Reactive" (Reaktīvs) vai "Non-reactive" (Nereaktīvs)), ko paredzēts izmantot diagnostikā. Operatoram ir jāinterpretē uzrādītā HIV-1 RNS koncentrācija kā kvalitatīvs rezultāts (1.tab.). Paraugi, kuru rezultāti ir norādīti kā "Not Detected" (Nav konstatēts), ir nereaktīvi attiecībā uz HIV-1 RNS. Paraugi, kuru rezultāti ir norādīti kā "<30 detected" (Konstatēts <30) vai iekļauti lineārajā diapazonā, norāda, ka tika konstatēta HIV-1 RNS un šie paraugi ir reaktīvi attiecībā uz HIV-1 RNS.

1.tabula Rezultātu interpretēšana

Uzrādītais Aptima HIV-1 Quant Dx rezultāts		HIV-1 RNS koncentrācijas interpretācija	Lietotāja diagnostikas kvalitatīvā interpretācija ^c
Kopijas/ml ^a	Log ₁₀ vērtība ^b		
Not Detected (Nav konstatēts)	Not Detected (Nav konstatēts)	HIV-1 RNS nav konstatēta.	Nereaktīvs attiecībā uz HIV-1 RNS
<30 detected (Konstatēts <30) ^e	<1,47	HIV-1 RNS ir konstatēta, bet tās līmenis ir zem kvantitatīvās noteikšanas zemākās robežas (LLOQ).	Reaktīvs attiecībā uz HIV-1 RNS
No 30 līdz 10 000 000	No 1,47 līdz 7,00	HIV-1 RNS koncentrācija ir lineārajā diapazonā no 30 līdz 10 000 000 kopijām/ml.	Reaktīvs attiecībā uz HIV-1 RNS
>10 000 000	>7,00	HIV-1 RNS koncentrācija ir virs kvantitatīvās noteikšanas augstākās robežas (ULoQ).	Reaktīvs attiecībā uz HIV-1 RNS
Invalid (Nederīgs) ^d	Invalid (Nederīgs) ^d	Ģenerējot rezultātu, radās kļūda. Paraugs ir vēlreiz jātestē.	Nederīgs

^a Kopiju pārvēršanas uz starptautiskajām vienībām (SV) koeficients atbilstoši 3. starptautiskajam standartam attiecībā uz HIV-1 RNS (10/152) ir 0,35 kopijas/SV.

^b Vērtība tiek saīsināta līdz diviem cipariem aiz komata.

^c Diagnostiskai interpretācijai var izmantot neatšķaidītus serumu vai plazmas paraugus.

^d Nederīgie rezultāti tiek parādīti ar zilu fontu.

^e Programmatūras mazākā uzrādāmā vērtība ir 30 kopijas/ml. Testa augstākā kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) ir 17,5 kopijas/ml attiecībā uz G apakštipu. Kvalitatīvās noteikšanas robežas (LoD) vērtības visiem apakštipiem skatiet 3. tabulā. Kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) atbilstoši Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautiskajam standartam (B apakštips) attiecībā uz HIV-1 RNS ir 12,1 kopija/ml (skatiet 2. tabulu).

Katra Aptima HIV-1 Quant Dx testa kontroles pieņemamības kritēriji ir aprakstīti šeit: 2.tab..

Piezīme. Tālāk norādītais atkopšanas diapazons var mainīties, pamatojoties uz katrai konkrētajai partijai piešķirto vērtību. Skatiet piešķirto koncentrāciju kontrolmateriālu svītrkoda lapas ieliktnī, kas tiek piegādāts katrā kontrolmateriālu kastītē.

2.tabula Pieņemšanas kritēriji atkopšanas diapazonam Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kontrolmateriāliem

Komponents	Atkopšanas diapazons derīgām pārbaudēm
Negatīva kontrole	Nav piemērojams
Zema pozitīva kontrole	+/- 0.5 log ₁₀ kopijas/ml
Augsta pozitīva kontrole	+/- 0.5 log ₁₀ kopijas/ml

Ierobežojumi

- A. Šo testu drīkst veikt tikai darbinieki, kuri ir apmācīti šīs procedūras veikšanā. Šajā lietošanas instrukcijā sniegto norādījumu neievērošana var izraisīt kļūdainus rezultātus.
- B. Rezultātu uzticamība ir atkarīga no piemērotu paraugu ņemšanas, transportēšanas, uzglabāšanas un apstrādes.
- C. Šis tests ir apstiprināts izmantošanai kā kvantitatīvs tests tikai ar cilvēka EDTA and ACD plazmu.
- D. Šis tests ir apstiprināts izmantošanai kā kvalitatīvs tests ar cilvēka EDTA and ACD plazmu un serumu.
- E. Kaut arī mutācijas ļoti aizsargātajos vīrusa genoma apgabalos, kas Aptima HIV-1 Quant Dx testā ir pārklāti ar praimeriem un/vai zondēm, notiek reti, tās var izraisīt nepietiekamu kvantitatīvu noteikšanu vai neizdošanos noteikt vīrusu.

Veiktspēja

Kvalitatīvās noteikšanas robeža, noteikšanā izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1

Kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) tiek definēta kā HIV-1 RNS koncentrācija, kas tiek noteikta ar 95% vai lielāku varbūtību, atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP17-A2 (39). Kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) tika noteikta, testējot paneļus, kas saturēja Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautiskajā standartā attiecībā uz HIV-1 (B apakštips, NIBSC kods: 10/152) norādītos atšķaidījumus HIV-1 negatīvā plazmā. Trīsdesmit katra atšķaidījuma replikāti tika testēti trīs sistēmās Panther, izmantojot trīs reaģentu partijas kopumā 90 replikātiem ar katru atšķaidījumu. Atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP17-A2 rezultāti, kas iegūti no reaģentu partijas ar lielāko koncentrāciju attiecībā uz prognozēto noteikšanas robežu, tiek definēti kā kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) un norādīti 3.tab. Veicot Probit analīzi, Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) ir noteikta kā 12 kopijas/ml (35 SV/ml; 0,35 kopijas = 1 SV).

3.tabula Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvalitatīvās noteikšanas robeža, noteikšanā izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1

Prognozētā noteikšanas robeža	Koncentrācija (kopijas/ml)
10%	1,2
20%	1,6
30%	2,0
40%	2,5
50%	3,1
60%	3,8
70%	4,8
80%	6,2
90%	9,0
95%	12,1

Kvalitatīvās noteikšanas robeža dažādiem HIV-1 apakštipiem un grupām

Attiecībā uz HIV-1 M grupu (A, C, D, F, G apakštips, CRF01_AE, CRF02_AG) un N un O grupu tika izveidoti septiņi paneļi, inficējot HIV-1 negatīvu cilvēka plazmu (0–40 kopijas/ml) ar HIV-1 vīrusa kultūru vai pozitīviem klīniskiem paraugiem. Katram paneļa elementam tika testēti 30 replikāti ar divām reaģentu partijām, kopumā izmantojot 60 replikātus uz katru paneļa elementu. Klīniskajiem paraugiem vai vīrusu kultūru materiālam piešķirtās koncentrācijas tika noteiktas, izmantojot salīdzināšanas testu. Lai izveidotu 50% un 95% prognozētās noteikšanas robežas, tikai veikta Probit analīze. Atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP17-A2 (39) rezultāti, kas iegūti no reaģentu partijas ar lielāko koncentrāciju attiecībā uz prognozēto noteikšanas robežu, tiek definēti kā kvalitatīvās noteikšanas robeža (LoD) un norādīti 4.tab..

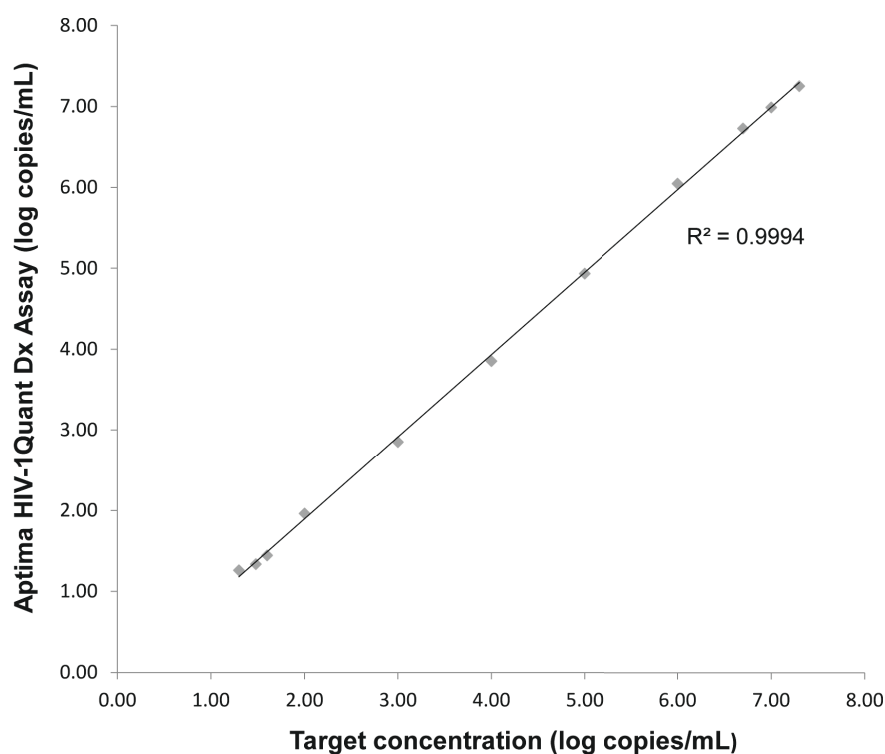
4.tabula Kvalitatīvās noteikšanas robeža dažādiem HIV-1 apakštipiem un grupām

Apakštips/grupa	Prognozētā noteikšanas robeža	Koncentrācija (kopijas/ml)
A	50%	3,0
	95%	12,3
CRF01_AE	50%	1,8
	95%	6,2
CRF02_AG	50%	3,4
	95%	15,4
C	50%	2,0
	95%	10,7
D	50%	3,7
	95%	14,0
F	50%	2,1
	95%	8,3
G	50%	3,1
	95%	17,5
N	50%	1,2
	95%	7,8
O	50%	1,8
	95%	8,0

Lineārais diapazons

Aptima HIV-1 Quant Dx testa lineārais diapazons tika noteikts, testējot paneļus, kuros ietilpa HIV-1 B apakštipa vīrusa kultūra, atšķaidīta HIV-1 negatīvā cilvēka plazmā atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP06-A (40). Paneļu koncentrācija bija no 1,30 līdz 7,30 log

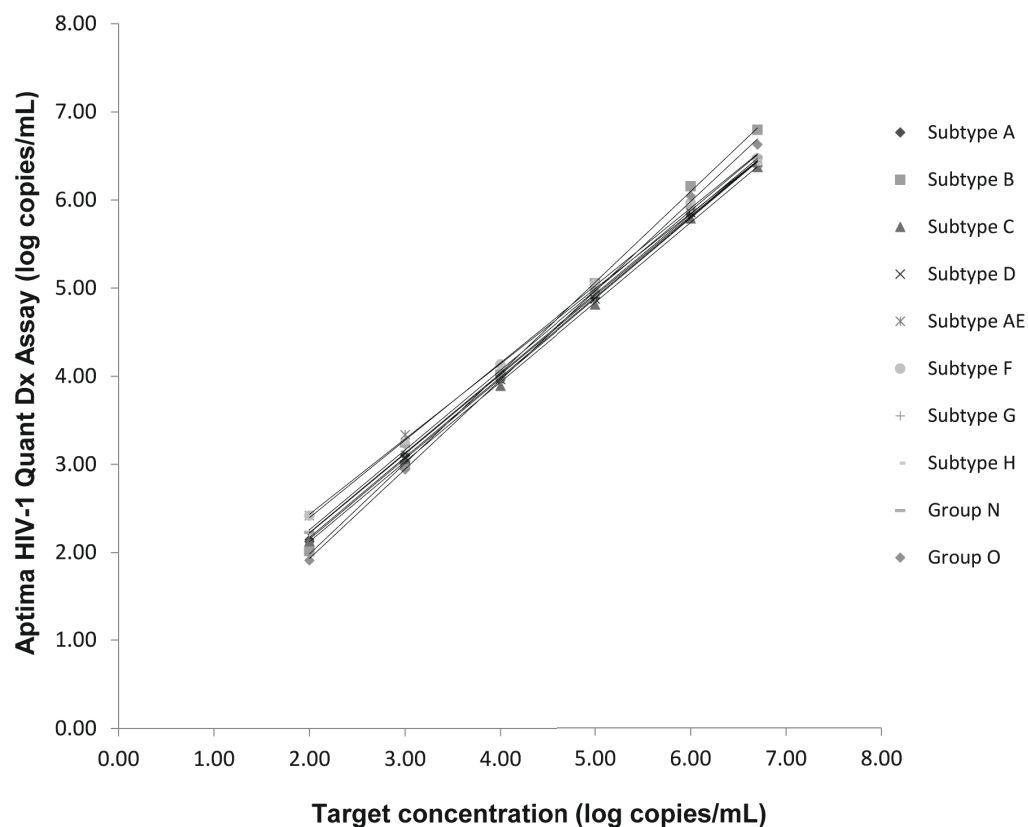
kopijām/ml. Testēšana tika veikta septiņās sistēmās Panther, izmantojot divas Aptima HIV-1 Quant Dx testa reaģentu partijas. Kā norādīts 6.att., Aptima Quant Dx tests uzrādīja linearitāti visā testētajā diapazonā.



6.attēls Aptima HIV-1 Quant Dx testa linearitāte

Linearitāte dažādos HIV-1 apakštipos un grupās

Aptima HIV-1 Quant Dx testa lineārā reakcija M grupā (A, B, C, D, F, G, H apakštips, CRF01_AE) un N un O grupā tika apstiprināta, testējot paneļus, kuros ietilpa HIV-1 transkripts, kas atšķaidīts buferšķīdumā ar koncentrāciju no 2,00 līdz 6,70 log kopijām/ml. Testēšana tika veikta četrās sistēmās Panther un sešos izpildes ciklos. Linearitāte bija novērojama visā testētajā diapazonā (7.att.).



7.attēls Linearitāte M grupā (A, B, C, D, F, G, H apakštips, CRF01_AE) un N un O grupā

Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža, noteikšanā izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1

Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLOQ) tiek definēta kā zemākā koncentrācija, ar kādu var veikt uzticamu HIV-1 RNS kvantitatīvo noteikšanu, nepārsniedzot summāro kļūdu (TE), atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP17-A2 (39). Summārās kļūdas (TE) aprēķināšanā tika izmantots Vestgārda modelis ($TE = |\text{novirze}| + 2SN$). Lai nodrošinātu mērījumu pareizumu un precizitāti, tika iestatīta Aptima HIV-1 Quant Dx testa summārā kļūda (TE) 1 log kopija/ml (t.i., izmantojot kvantitatīvās noteikšanas zemāko robežu (LLOQ), atšķirība starp diviem mērījumiem, kas pārsniedz 1 log kopiju/ml, ir statistiski nozīmīga).

Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLOQ) tika noteikta, testējot paneļus, kas saturēja Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautiskajā standartā attiecībā uz HIV-1 (B apakštips, NIBSC kods: 10/152) norādītos atšķaidījumus HIV-1 negatīvā plazmā. Atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP17-A2 paneļu testēšanai tika izmantotas trīs reaģentu partijas ar 30 replikātiem katrai partijai, veicot 23 izpildes ciklus. Rezultāti ir parādīti 5.tab. Augstākā kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLOQ) trim partijām, kas tika testētas ar Aptima HIV-1 Quant Dx testu, izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1, ir 15 kopijas/ml (1,17 log kopijas/ml; 42,9 IU/ml) (6.tab.).

5.tabula Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvantitatīvās noteikšanas zemākās robežas (LLOQ) noteikšana, izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1

Reaģentu partija	Mērķa koncentrācija (log kopijas/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log kopijas/ml)	SN (log kopijas/ml)	Novirze (log kopijas/ml)	Aprēķinātā summārā kļūda (TE) (log kopijas/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

SN = standartnovirze

6.tabula Pārskats par kvantitatīvās noteikšanas zemāko robežu (LLoQ), izmantojot Pasaules Veselības organizācijas 3. starptautisko standartu attiecībā uz HIV-1 (3 reaģentu partijas)

Reaģentu partija	Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLoQ) (log kopijas/ml)	Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLoQ) (kopijas/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Kvantitatīvās noteikšanas zemākās robežas (LLoQ) pārbaude dažādiem IV-1 apakštipiem un grupām

Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLoQ) dažādiem HIV-1 apakštipiem un grupām tika pārbaudīta atbilstoši Klīnisko un laboratorijas standartu institūta (CLSI) dokumentam EP17-A2 (39). Paneļi tika izveidoti katrai HIV-1 M grupai (A, B, C, D, F, G apakštips, CRF01_AE, CRF02_AG) un N un O grupai, HIV-1 negatīvus cilvēka plazmas kopparaugus inficējot ar dabīgi inficētiem klīniskajiem paraugiem vai klīniskiem izolātiem. Testēšanā kopumā tika izmantoti 30 replikāti uz katru paneļa elementu. Dati, kas redzami 7.tab., norāda zemāko koncentrāciju katram apakštipam vai grupai, kurā summārā kļūda (TE) bija mazāka nekā 1 log kopija/ml. Augstākā kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLoQ) visiem testētajiem apakštipiem un grupām bija 30 kopijas/ml; tāpēc šī augstākā vērtība tika izvēlēta kā Aptima HIV-1 Quant Dx testa kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLoQ).

7.tabula Kvantitatīvās noteikšanas zemākās robežas (LLoQ) pārbaude pēc HIV-1 apakštipa vai grupas

Panelis	Kvantitatīvās noteikšanas zemākā robeža (LLoQ) (kopijas/ml)
A apakštips	30
Apakštips CRF01_AE	10
Apakštips CRF02_AG	30
B apakštips	10
C apakštips	30
D apakštips	15
F apakštips	15
G apakštips	30
N grupa	10
O grupa	15

Precizitāte

Lai novērtētu Aptima HIV-1 Quant Dx testa precizitāti, paneli, kas izveidots, HIV-1 negatīvu plazmu inficējot ar HIV-1 B apakštipa vīrusa kultūru, testēja trīs operatori, izmantojot trīs reaģentu partijas trīs sistēmās Panther 20 dienas (8.tab.). Panelī bija iekļauts viens HIV-1 negatīvs paneļa elements un astoņi HIV-1 pozitīvi paneļa elementi. Klīniskajiem paraugiem vai vīrusu kultūru materiālam piešķirtās koncentrācijas tika noteiktas, izmantojot salīdzināšanas testu.

8.tabula Aptima HIV-1 Quant Dx testa precizitāte

Derīgo replikātu skaits	Vidējā koncentrācija (log kopijas/ml)	Starp instrumentiem		Starp operatoriem		Starp partijām		Starp izpildes cikliem		Izpildes ciklā		Kopā	
		SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)	SN	VK (%)
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

VK = variācijas koeficients, SN = standartnovirze

^aŠim paneļa elementam atšķaidīšanai attiecībā 1:3 tika izmantots paraugu šķīdinātājs un tika veikta testēšana, lai novērtētu atšķaidītā parauga precizitāti.

Piezīme. Dažu faktoru izraisītās variabilitātes vērtība var būt negatīva, ja šo faktoru izraisītā variabilitāte ir ļoti maza. Ja tā notiek, SN = 0 un VK = 0%. Testēto replikātu kopskaits bija 162 katram panelim; tika analizēti tikai replikāti ar skaitlisku vērtību.

Iespējami traucējošas vielas

Tika novērtēta Aptima HIV-1 Quant Dx testa uzņēmība pret traucējumiem, kurus izraisa paaugstināti endogēno vielu līmeņi un zāles, kas parasti tiek izrakstītas ar HIV-1 vīrusu inficētām personām. Tika testēti HIV-1 negatīvi cilvēka plazmas paraugi un paraugi, kas inficēti ar HIV-1 RNS līdz koncentrācijai 3 log kopijas/ml.

Netika novēroti Aptima HIV-1 Quant Dx testa veiktspējas traucējumi albumīna (90 mg/ml), hemoglobīna (5 mg/ml), triglicerīdu (30 mg/ml) vai nekonjugēta bilirubīna (0,2 mg/ml) klātbūtnē.

Aptima HIV-1 Quant Dx testa veiktspējas traucējumi netika novēroti 9.tab. norādīto eksogēno vielu klātbūtnē, koncentrācijām vismaz trīskārt pārsniedzot $C_{maks.}$ (cilvēka plazma).

9.tabula Eksogēnās vielas

Eksogēno vielu kopparaugs	Testētās eksogēnās vielas
1	Lopinavirs, indinavirs, sakvinavirs, ritonavirs, nelfinavirs mezilāts, darunavirs, amprenavirs, atazanavirs
2	Nevirapīns, efavirenzs, rilpivirīns, klaritromicīns, amfotericīns B
3	Tenofovira disoproksila fumarāts, adefovira dipivoksils, ribavirīns, enfuvirtīds, maraviroks, raltegravīrs, dolutegravīrs
4	Abakavira sulfāts, didanozīns, zidovudīns, lamivudīns, stavudīns, entekavirs, telbivudīns, emtricitabīns
5	Paroksetīns HCl, fluoksetīns, sertralīns
6	Ganciklovirs, valaciklovirs, aciklovirs, rifampīns/rifampicīns, etambutols
7	Ciprofloksacīns, azitromicīns, amoksicilīns, cefaleksīns, ampicilīns, trimetoprimis
8	Valganciklovira hidrohlorīds, boceprevirs, telaprevirs, simeprevirs, sofosbuvirs
9	Pegilēts interferons alfa-2b, interferons alfa-2a, interferons alfa-2b
10	Heparīns, etilēndiamīntetraetiķskābe (EDTA), nātrija citrāts
11	Tipranavirs
12	Izoniazīds

10.tab. norādītie klīniskie plazmas paraugi, kas iegūti no pacientiem ar paaugstinātiem norādīto vielu līmeņiem vai pacientiem, kuriem bija norādītās slimības, tika testēti, izmantojot Aptima HIV-1 Quant Dx testu HIV-1 RNS 3 log kopiju klātbūtnē un bez tām. Netika novēroti veiktspējas traucējumi.

10.tabula Testēto klīnisko paraugu veidi

Klīnisko paraugu veidi	
1	Reimatoīdais faktors (RF)
2	Antinukleārā antivielā (ANA)
3	Antivielā pret Anti-Jo-1 (JO-1)
4	Sistēmisks <i>lupus erythematosus</i> (SLE)
5	Reimatoīdais artrīts (RA)
6	Multiplā skleroze (MS)
7	Hiperglobulinēmija
8	Paaugstināta alanīna aminotransferāze (ALT)
9	Alkohola aknu ciroze (AC)
10	Multiplā mieloma (MM)
11	Lipēmija (paaugstināts lipīdu līmenis)
12	Dzelte (paaugstināts bilirubīna līmenis)
13	Hemolīze (paaugstināts hemoglobīna līmenis)
14	Paaugstināts albumīna līmenis
15	Antivielas pret C hepatīta vīrusu
16	Antivielas pret B hepatīta vīrusu
17	Antivielas pret HIV-2

Specifiskums

Aptima HIV-1 Quant Dx testa specifiskums tika noteikts, izmantojot 120 svaigus un 510 saldētus HIV-1 negatīvas plazmas paraugus, kā arī 120 svaigus un 510 saldētus HIV-1 negatīvus seruma paraugus. Visi rezultāti bija nereaktīvi (specifiskums 100%; 95% ticamības intervāls: 99,4–100%).

11.tabula Specifiskums plazmas un seruma paraugos

	Svaiga plazma	Saldēta plazma	Plazma kopā	Svaigs serums	Saldēts serums	Serums kopā
Derīgi replikāti (n)	120	510	630	120	510	630
Nereaktīvs	120	510	630	120	510	630
Specifiskums (95% TI)	100% (97,0–100)	100% (99,3–100)	100% (99,4–100)	100% (97,0–100)	100% (99,3–100)	100% (99,4–100)

TI = ticamības intervāls

Analītiskais specifiskums

Iespējamā šķērsreaktivitāte ar patogēniem (12.tab.) tika novērtēta Aptima HIV-1 Quant Dx testā HIV-1 negatīvā plazmā 3 log kopiju/ml HIV-1 RNS klātbūtnē vai bez tās. Patogēnu klātbūtnē netika novēroti testa izpildes traucējumi.

12.tabula Patogēni, kas testēti attiecībā uz analītisko specifiskumu

Patogēns	Koncentrācija
A hepatīta vīruss	100 000 PVV/ml ^a
B hepatīta vīruss	100 000 SV/ml ^b
C hepatīta vīruss	100 000 SV/ml
G hepatīta vīruss	100 000 kopijas/ml
Herpesvīruss [herpes simplex], 1. tips (HSV-1)	100 000 PVV/ml
Herpesvīruss [herpes simplex], 2. tips (HSV-2)	75 000 PVV/ml
Cilvēka herpesvīruss, 6. tips	100 000 kopijas/ml
Cilvēka herpesvīruss, 8. tips	42 000 PVV/ml
HIV-2	5 500 PVV/ml
Cilvēka T-šūnu limfotrofais vīruss (HTLV)	100 000 v.d./ml ^c
Rietumnīlas vīruss	100 000 kopijas/ml
Parvovīruss B19	100 000 SV/ml
Citomegalovīruss	100 000 kopijas/ml
Epšteina-Barra vīruss	100 000 kopijas/ml
Adenovīruss, 5. tips	100 000 PVV/ml
Denges drudža vīruss	100 000 kopijas/ml
A tipa gripas vīruss	100 000 PVV/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 KVV/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 KVV/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 KVV/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 KVV/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 IFU/ml ^e
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 KVV/ml

^aPVV/ml = plakus veidojošās vienības mililitrā

^bSV/ml = starptautiskās vienības mililitrā

^cv.d./ml = vīrusa daļiņas mililitrā

^dKVV/ml = koloniju veidojošās vienības mililitrā

^eIFU/ml = ieslēgumu veidojošās vienības mililitrā

Klīnisko paraugu atkārtotamība

Desmit klīniskie plazmas paraugi tika testēti trīs replikātos, izmantojot Aptima HIV-1 Quant Dx testu. Vidējā koncentrācija un standartnovirze ir parādīta 13.tab..

13.tabula Klīnisko paraugu atkārtotamība

Paraugs	Vidējā koncentrācija (log kopijas/ml)	SN
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

Paraugu atšķaidīšana, izmantojot paraugu šķīdinātāju

Lai novērtētu parauga atšķaidījumu, panelis ar tajā ietilpstošajiem 11 paraugiem, kuru koncentrācijas atbilda Aptima HIV-1 Quant Dx testa lineārajam diapazonam, un diviem paraugiem, kuru rezultāti bija virs testa kvantitatīvās noteikšanas augstākās robežas, tika testēts neatšķaidītā un atšķaidītā (paraugu šķīdinātājā attiecībā 1:3 vai 1:100) veidā trīs eksemplāros (14.tab.).

14.tabula Paraugu atšķaidīšana

Atšķaidījums	Vidējā neatšķaidītā koncentrācija (log kopijas/ml)	Vidējā uzrādītā koncentrācija ^a (log kopijas/ml)	Starpība
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

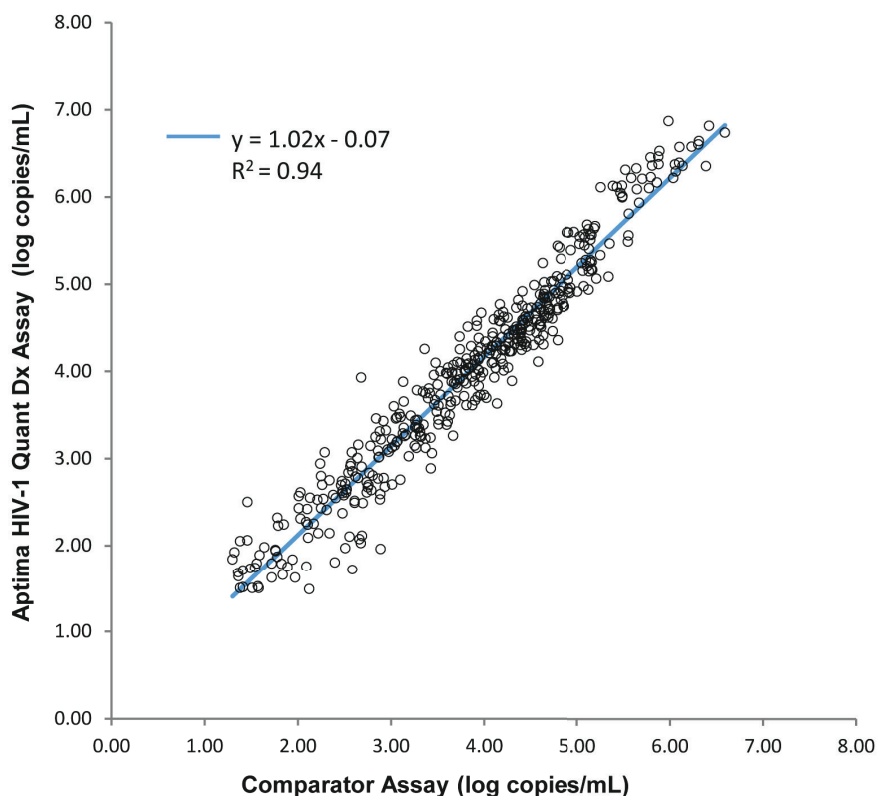
^aUzrādītā koncentrācija ir sistēmas Panther uzrādītā vērtība pēc atšķaidījuma pakāpes lietošanas

^bInficēts paraugs

^cVisi rezultāti >7,00 log kopijas/ml tika aprēķināti, izmantojot papildu analīzi

Metodes korelācija

Aptima HIV-1 Quant Dx testa veiktspēja tika novērtēta, izmantojot salīdzināšanas testu (ar CE marķējumu) un testējot neatšķaidītus klīniskos plazmas paraugus, kas iegūti no HIV-1 inficētiem pacientiem, četrās sistēmās Panther ar divām reaģentu partijām. Kopā lineārai regresijai tika izmantoti 342 saldēti un 108 svaigi plazmas paraugi ar kvantitatīvi nosakāmiem rezultātiem gan Aptima HIV-1 Quant Dx testā, gan salīdzināšanas testā (8.att.). Paraugos bija iekļauta HIV-1 M grupa (A, B, C, D, F, G, H apakštips, kā arī apakštips CRF01_AE un CRF02_AG).



8.attēls Aptima HIV-1 Quant Dx testa un salīdzināšanas testa korelācija

Diagnostiskā sakritība

Lai novērtētu diagnostisko sakritību, no HIV-1 pozitīviem pacientiem iegūtie paraugi tika testēti, izmantojot Aptima HIV-1 Quant Dx testu un kvalitatīvo HIV-1 salīdzināšanas testu ar CE marķējumu: 414 paraugiem rezultāti bija derīgi (15.tab.). Abu testu rezultāti tika kategorizēti, kā norādīts tālāk. Visi kvantitatīvi un kvalitatīvi nosakāmie rezultāti tika kategorizēti kā "Detected" (Konstatēts). Jebkāds rezultāts, kur mērķis nav konstatēts, tika kategorizēts kā "Target Not Detected" (Mērķis nav konstatēts).

15.tabula Aptima HIV-1 Quant Dx testa un salīdzināšanas testa diagnostiskā sakritība

		Aptima HIV-1 Quant Dx tests	
		Konstatēts	Mērķis nav konstatēts
Salīdzināšanas tests	Konstatēts	214	0
	Mērķis nav konstatēts	0	200

Pārnese

Lai noteiktu, vai sistēma Panther mazina pārneses piesārņojuma izraisītu kļūdaini pozitīvu rezultātu iegūšanas risku, tika veikts vairāku izpildes ciklu analītiskais pētījums, izmantojot inficētus paneļus divās sistēmās Panther. Pārnese tika novērtēta, izmantojot augsta titra paraugus, kas inficēti ar HIV-1 (7 log kopijas/ml) un izvietoti starp HIV-1 negatīviem paraugiem šaha lauciņu veidā. Testēšana tika veikta piecos izpildes ciklos. Kopējais pārneses rādītājs bija 0% (n=469).

Seropārveidošanas panelis

Deviņpadsmit HIV-1 seropārveidošanas paneļu komplekti, kuros ietilpa 204 paraugi, tika testēti, izmantojot Aptima HIV-1 Quant Dx testu. HIV-1 RNS noteikšana tika salīdzināta ar noteikšanu, izmantojot p24 antigēna testus un anti-HIV 1/2 testus. Dienu skaits līdz pirmajam reaktīvajam rezultātam, kas iegūts, izmantojot p24 antigēna testus, anti-HIV 1/2 testus un Aptima HIV-1 Quant Dx testu, ir norādīts 16.tab. Aptima HIV-1 Quant Dx testā tika konstatēta HIV-1 RNS vidēji 5,58 un 11,16 dienas pirms p24 antigēna un anti-HIV 1/2 testiem.

16.tabula Seropārveidošanas paneļa datu kopsavilkums

Paneļa ID	Testēto paneļa elementu skaits	Reaktīvo paneļa elementu skaits			Dienas līdz pirmajam reaktīvajam rezultātam			Starpība dienās līdz pirmajam reaktīvajam rezultātam (atkarībā no ņemšanas datuma)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigēna tests	Anti-HIV 1/2 tests	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigēna tests	Anti-HIV 1/2 tests	Noteikšana agrāk, nekā izmantojot HIV p24 antigēna testu (dienās)	Noteikšana agrāk, nekā izmantojot anti-HIV 1/2 testu (dienās)
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
Kopā	204	82	51	20	Vidējais			5,58	11,16
					Mediāna			7	12

^aVisi ņemtie paraugi šajā panelī bija nereaktīvi attiecībā uz anti-HIV 1/2. Pēdējā paraugu ņemšanas diena tika izmantota kā "Dienas līdz pirmajam reaktīvajam rezultātam".

Anti-HIV-1/2 testēšana tika veikta, izmantojot Abbott Anti-HIV 1/2, ar tālāk norādītajiem izņēmumiem.

^bPaneļi PRB974, PRB975 un PRB978 tika testēti, izmantojot Siemens Anti-HIV 1/2 testu.

HIV-1 p24 antigēna testēšana tika veikta, izmantojot Coulter HIV-1 p24 Ag, ar tālāk norādītajiem izņēmumiem.

^bPaneļi PRB974, PRB975 un PRB978 tika testēti, izmantojot BioMerieux p24 Ag testu.

Seruma un plazmas ekvivalences pētījums

Lai novērtētu ekvivalenci, atbilstoši seruma un plazmas komplekti (25 HIV-1 pozitīvi un 25 HIV-1 negatīvi), kā arī 40 paraugi, kuri bija inficēti ar HIV-1 kultūru (50–1 000 000 kopijas/ml HIV-1 negatīvā plazmā un serumā), tika testēti ar Aptima HIV-1 Quant Dx testu. Negatīvo rezultātu sakritība bija 100,0% (95% ticamības intervāls: 97,0–100,0%). Pozitīvo rezultātu sakritība bija 98,4% (95% ticamības intervāls: 95,4–99,5%).

Bibliogrāfija

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziuz, 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-Ferreira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
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. Schukink, 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. **31. Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
32. **32. Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner.** 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. J. Clin. Microbiol. **47**:2639-2642.
33. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. **27**(3):224-43.
34. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. Expert Rev. Mol. Diagn. **1**(4): 445-455.
35. **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.
36. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; pašreizējā versija.
37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); pašreizējā versija.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
39. **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.
40. **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.



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

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

Lai uzzinātu konkrētās valsts tehniskā atbalsta sniegšanas un klientu apkalpošanas e-pasta adresi un tālruņa numuru, apmeklējiet tīmekļa vietni www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther, Panther/Panther Fusion un saistītie logotipi ir uzņēmuma Hologic, Inc. un/vai tā meitasuzņēmumu preču zīmes un/vai Amerikas Savienotajās Valstīs un/vai citās valstīs reģistrētas preču zīmes.

Armored RNA ir uzņēmuma Asuragen, Inc. preču zīme.

Visas citas preču zīmes, kas var būt redzamas šajā lietošanas instrukcijā, pieder to attiecīgajiem īpašniekiem.

Uz šo izstrādājumu var attiekties viens vai vairāki ASV patenti, kas minēti vietnē www.hologic.com/patents.

© 2014-2024 Hologic, Inc. Visas tiesības paturētas.

AW-11853-2901 Rev. 011

2024-09