

Test Aptima® HIV-1 Quant Dx

Do diagnostyki *in vitro*.

Tylko na eksport poza USA.

Informacje ogólne	2
Przeznaczenie	2
Podsumowanie i objaśnienie testu	2
Zasady procedury	3
Ostrzeżenia i środki ostrożności	4
Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi	8
Pobieranie i przechowywanie próbek	9
Próbki w Panther System	13
Transport próbek	13
Panther® System	14
Dostarczone odczynniki i materiały	14
Materiały wymagane, ale dostępne osobno	16
Materiały opcjonalne	17
Procedura testu w Panther System	17
Uwagi dotyczące procedury	21
Kontrola jakości	23
Kalibracja testu	23
Kontrole ujemne i dodatnie	23
Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna	23
Interpretacja wyników	24
Ograniczenia	26
Skuteczność	27
Granica wykrywalności (LoD) przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa HIV-1	27
Granica wykrywalności dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1	28
Zakres liniowy	29
Liniowość dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1	30
Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa HIV-1	31
Weryfikacja LLoQ dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1	32
Precyzja	33
Potencjalne substancje zakłócające	34
Swoistość	36
Swoistość analityczna	37
Powtarzalność próbek klinicznych	38
Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika do próbek	39
Korelacja metod	40
Zgodność diagnostyczna	41
Przenoszenie	41
Panel serokonwersji	42
Badanie równoważności surowicy i osocza	43
Bibliografia	44

Informacje ogólne

Przeznaczenie

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

Test Aptima HIV-1 Quant Dx może być stosowany jako pomoc w diagnostyce infekcji HIV-1, w tym infekcji ostrej lub pierwotnej. Obecność HIV-1 RNA w osoczu lub surowicy pacjentów bez przeciwciał przeciwko HIV-1 wskazuje na ostre lub pierwotne zakażenie HIV-1. Test Aptima HIV-1 Quant Dx może być stosowany jako test uzupełniający dla próbek, w przypadku których powtarzają się reakcje z zatwierdzonymi testami immunologicznymi HIV. Jeśli próbka jest reaktywna w teście Aptima HIV-1 Quant Dx, oznacza to potwierdzenie zakażenia HIV-1.

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

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

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

Podsumowanie i objaśnienie testu

Badania epidemiologiczne wykazały, że ludzki wirus niedoboru odporności typu 1 (HIV-1) jest czynnikiem etiologicznym zespołu nabytego niedoboru odporności (AIDS) (1-7). Wirus HIV może być przenoszony poprzez kontakty seksualne, narażenie na kontakt z zakażoną krwią lub produktami krwiopochodnymi lub poprzez przenoszenie z matki na dziecko (8). W ciągu 3 do 6 tygodni od ekspozycji na HIV, u osób zakażonych zazwyczaj rozwija się krótki, ostry zespół charakteryzujący się objawami grypopodobnymi i związany z wysokim poziomem wirerii we krwi obwodowej (9-12). U większości zakażonych osób po tej wczesnej fazie następuje odpowiedź immunologiczna charakterystyczna dla HIV i spadek wirerii w osoczu, zwykle w ciągu 4 do 6 tygodni od wystąpienia objawów (13-14). Po serokonwersji zakażone osoby zazwyczaj wchodzi w stabilną klinicznie, bezobjawową fazę, która może trwać przez lata (15-17). Okres bezobjawowy charakteryzuje się utrzymującym się, niskim poziomem wirerii w osoczu (18) i stopniowym ubytkiem limfocytów T CD4+. Takie zubożenie prowadzi do ciężkiego niedoboru odporności, licznych infekcji oportunistycznych, nowotworów złośliwych i śmierci (19). Chociaż podczas bezobjawowej fazy zakażenia poziomy wirusa we krwi obwodowej są stosunkowo niskie, replikacja i usuwanie wirusa wydają się być dynamicznymi procesami, w których wysokie wskaźniki produkcji wirusa i zakażenia komórek CD4+ są równoważone przez równie wysokie wskaźniki usuwania wirusa, śmierci zakażonych komórek i uzupełniania komórek CD4+, co skutkuje względnie stabilnymi poziomami, zarówno wirerii w osoczu, jak i komórek CD4+ (20-22).

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

Obecnie wykrywanie zakażenia wirusem HIV-1 opiera się głównie na badaniu serologicznym na obecność przeciwciał i/lub antygenu p24 metodą immunologiczną. US Centers for Disease Control zaleca stosowanie testu na obecność przeciwciał i RNA w diagnostyce ostrych zakażeń HIV (31). Chociaż czułość wykrywania przeciwciał HIV-1 i antygenu p24 uległa poprawie, nadal istnieje okno czasowe pomiędzy momentem zakażenia a momentem wykrycia przez markery serologiczne. Okres ten zależy od czułości stosowanego testu serologicznego. Jedno z oszacowań (32) sugeruje, że testy na obecność antygenu/przeciwciał p24 czwartej generacji mogą wykryć zakażenie, gdy stężenie RNA wirusa HIV-1 osiągnie 14 000 kopii/mL. Granica wykrywalności testu Aptima HIV-1 Quant Dx jest znacznie niższa niż 14 000 kopii/mL i może wykryć obecność wirusa HIV-1 wcześniej niż testy immunologiczne HIV.

Techniki molekularne, takie jak amplifikacja z mediacją transkrypcji (TMA® technology), były szeroko stosowane do amplifikacji kwasów nukleinowych (31). TMA wykorzystuje wychwytywanie specyficznych cząstek szukanych i izotermiczną amplifikację do wykrywania kwasów nukleinowych w wielu zakaźnych patogenach (32).

Test Aptima HIV-1 Quant Dx, poprzez TMA, wykorzystuje wiele długich starterów, które celują w kilka regionów genomu wirusa HIV-1 w celu skompensowania wysokiego wskaźnika mutacji i wielu potencjalnych mutacji w regionie wyszukiwania.

Zasady procedury

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

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

Amplifikacja cząsteczek szukanych jest wykonywana metodą TMA. Jest to metoda amplifikacji kwasów nukleinowych z mediacją transkrypcji, w której wykorzystywane są dwa enzymy – odwrotna transkryptaza wirusa białaczki mysiej Moloneya (MMLV) oraz polimeraza RNA bakteriofaga T7. Odwrotna transkryptaza jest wykorzystywana do produkcji kopii DNA (zawierającej sekwencję promotora dla polimerazy RNA bakteriofaga T7) sekwencji szukanej. Polimeraza RNA bakteriofaga T7 produkuje liczne kopie amplikonu RNA na podstawie matrycy kopii DNA. Test Aptima HIV-1 Quant Dx wykorzystuje metodę TMA do amplifikacji dwóch regionów RNA wirusa HIV-1 (pol i LTR). Amplifikacja tych specyficznych regionów jest osiągana przy użyciu specyficznych starterów, które są zaprojektowane do amplifikacji grup M, N i O wirusa HIV-1. Konstrukcja starterów i podejście dwucelowe zapewniają dokładne wykrywanie i oznaczanie ilościowe wirusa HIV-1.

Detekcja następuje dzięki zastosowaniu sond jednoniciowego kwasu nukleinowego, które są obecne w czasie amplifikacji cząstki szukanej i ulegają swoistej hybrydyzacji z amplikonem w czasie rzeczywistym. Każda sonda typu torch składa się z fluoroforu i wygaszacza. Gdy sonda typu torch nie hybrydyzuje do amplikonu, wygaszacz znajduje się w pobliżu fluoroforu i tłumi fluorescencję. Gdy sonda wiąże się z amplikonem, wygaszacz jest odsuwany dalej od fluoroforu i po wzbudzeniu przez źródło światła emituje sygnał o swoistej długości fali. Gdy więcej sond typu torch hybrydyzuje do amplikonu, generowany jest wyższy sygnał fluorescencyjny. Czas potrzebny do osiągnięcia przez sygnał fluorescencyjny określonego progu jest proporcjonalny do wyjściowego stężenia wirusa HIV-1. Każda reakcja posiada wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC), która kontroluje zmiany w przetwarzaniu próbki, amplifikacji i wykrywaniu. Stężenie próbki jest określane przez oprogramowanie Panther System przy użyciu sygnałów wirusa HIV-1 i IC dla każdej reakcji i porównanie ich z informacjami o kalibracji.

Ostrzeżenia i środki ostrożności

- A. Do diagnostyki *in vitro*.
- B. Wyłącznie do użycia przez profesjonalistów.
- C. Aby zmniejszyć ryzyko uzyskania nieważnych wyników, przed wykonaniem tego testu należy uważnie przeczytać całą ulotkę załączoną do opakowania oraz *Instrukcję obsługi Panther®/Panther Fusion® System*.

Kwestie związane z laboratorium

-  D. PRZESTROGA: Kontrole dla tego testu zawierają ludzkie osocze. Osocze jest ujemne w kierunku antygenu powierzchniowego zapalenia wątroby typu B (HBsAg), przeciwciał HCV, przeciwciał HIV-1 i HIV-2 oraz antygenu HIV podczas testowania zgodnie z procedurami zatwierdzonymi przez US Food and Drug Administration. Ponadto, osocze jest niereaktywne dla RNA wirusa HCV i RNA wirusa HIV-1 podczas testowania licencjonowanymi testami kwasów nukleinowych z wykorzystaniem pul próbek. Wszystkie materiały pochodzące z krwi ludzkiej powinny być uważane za potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane z zastosowaniem uniwersalnych środków ostrożności (35-37).
- E. Procedurę tę powinien wykonywać wyłącznie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HIV-1 Quant Dx oraz postępowania z materiałami potencjalnie zakaźnymi. Jeśli dojdzie do rozlania, natychmiast zdezynfekować zgodnie z odpowiednimi procedurami w miejscu pracy.
- F. Stosować wyłącznie dostarczone lub określone jednorazowe wyposażenie laboratoryjne.
- G. Przestrzegać rutynowych środków ostrożności stosowanych w laboratorium. Nie pipetować ustami. Nie jeść, nie pić i nie palić w wyznaczonych obszarach pracy. W czasie pracy z próbkami i odczynnikami zestawu nosić jednorazowe rękawiczki bezpydrowe, osłonę oczu oraz odzież laboratoryjną. Dokładnie umyć ręce po pracy z próbkami i odczynnikami zestawu.
- H. Powierzchnie robocze, pipety i inne wyposażenie należy regularnie odkażać, stosując roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 2,5% do 3,5% (od 0,35 M do 0,5 M).

- I. Usunąć wszystkie materiały, które miały kontakt z próbkami i odczynnikami, zgodnie z lokalnymi, stanowymi i federalnymi przepisami (35-38). Dokładnie oczyścić i zdezynfekować wszystkie powierzchnie robocze.
- J. Kontrole zawierają azydek sodu jako środek konserwujący. Nie należy używać metalowych przewodów rurowych do przenoszenia odczynników. Jeżeli roztwory zawierające związki azydku sodu są usuwane do instalacji wodociągowej, należy je rozcieńczyć i spłukać dużą ilością bieżącej wody. Te środki ostrożności są zalecane w celu uniknięcia gromadzenia się osadów w metalowych przewodach rurowych, w których mogłyby powstać warunki wybuchowe.
- K. Dobre standardowe praktyki dla laboratoriów molekularnych obejmują monitorowanie środowiska. Aby monitorować środowisko laboratorium, sugeruje się następującą procedurę.
 - 1. Przygotować wymazówkę z końcówką bawełnianą i dołączyć do próbki do porcjowania próbek Aptima (SAT).
 - 2. Odpowiednio oznakować każdą SAT.
 - 3. Napełnić każdą SAT 1 mL rozcieńczalnika do próbek Aptima.
 - 4. Aby pobrać próbki powierzchniowe, należy lekko zwilżyć wymazówkę wolną od nukleaz dejonizowaną wodą.
 - 5. Wymazać powierzchnię zainteresowania, wykonując pionowe ruchy z góry na dół. Obrócić wymazówkę o około pół obrotu podczas wymazywania miejsca.
 - 6. Natychmiast umieścić próbkę wymazu w próbce i delikatnie odwirować wymazówkę w rozcieńczalniku w celu wyodrębnienia potencjalnych materiałów wymazowych. Przycisnąć wymazówkę do boku próbki transportowej, aby wydobyć jak najwięcej płynu. Wyrzucić wymazówkę i zakręcić próbkę.
 - 7. Powtórzyć czynności dla pozostałych próbek wymazu.
 - 8. Zbadać wymaz przy pomocy testu molekularnego.

Kwestie dotyczące próbek

- L. Próbki mogą być zakaźne. W czasie wykonywania tego testu przestrzegać ogólnych środków ostrożności (35-37). Właściwą pracę oraz metody usuwania należy określić na podstawie lokalnych przepisów (38). Test ten powinien wykonywać jedynie personel odpowiednio przeszkolony w zakresie stosowania testu Aptima HIV-1 Quant Dx oraz w zakresie pracy z materiałami zakaźnymi.
- M. *Oceniono tylko osocze z antykoagulantami EDTA i ACD.*
- N. W trakcie transportu próbek zapewnić prawidłowe warunki przechowywania, pozwoli to zachować ich prawidłowy stan. Nie oceniono stabilności próbek w warunkach transportu innych niż zalecane.
- O. W czasie etapów pracy z próbkami unikać zanieczyszczenia krzyżowego. Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu w czasie luzowania lub zdejmowania zakrętek z próbek. W próbkach może występować niezwykle wysokie stężenie mikroorganizmów. Należy dopilnować, aby pojemniki na próbki nie stykały się ze sobą, a zużyte materiały wyrzucić bez przesuwania ich nad jakimikolwiek otwartymi pojemnikami. Zmienić rękawiczki, jeżeli miały kontakt z próbką.

Kwestie dotyczące testu

- P. Wyniki ilościowe testu Aptima HIV-1 Quant Dx zostały ocenione dla osocza z EDTA i ACD. **Surowicy nie można używać do uzyskiwania wyników ilościowych.** Wyniki jakościowe zostały ocenione zarówno dla osocza, jak i dla surowicy.
- Q. Nie używać zestawu odczynników, kalibratora lub kontroli po upływie ich terminu ważności.
- R. Nie wymieniać, nie mieszać ani nie łączyć odczynników analitycznych pochodzących z zestawów o różnych numerach serii głównej. Płyny do testu mogą pochodzić z partii o różnych numerach. Kontrole i kalibrator mogą pochodzić z partii o różnych numerach.
- S. Unikać kontaminacji odczynników przez drobnoustroje i nukleazy.
- T. Wszystkie odczynniki analityczne należy przechowywać zamknięte i w określonych temperaturach. W przypadku użycia odczynników analitycznych przechowywanych w niewłaściwych warunkach skuteczność testu może ulec zmianie. Zobacz *Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi* oraz *Procedura testu w Panther System*, aby uzyskać więcej informacji.
- U. Nie łączyć odczynników analitycznych ani płynów bez konkretnej instrukcji. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami lub płynami. Aparat Panther System weryfikuje poziom odczynników.
- V. Niektóre odczynniki w tym zestawie są opatrzone informacjami o zagrożeniach.

Uwaga: Stosowane informacje dotyczące zagrożeń są określone przez klasyfikacje kart charakterystyki substancji (Safety Data Sheets, SDS) obowiązujące w UE. Informacje dotyczące zagrożeń występujących w konkretnym regionie opisano w kartach SDS właściwych dla regionów. Dokumenty te znajdują się w bibliotece kart charakterystyki pod adresem www.hologicsds.com. Więcej informacji na temat symboli zawiera legenda symboli dostępna pod adresem www.hologic.com/package-inserts.

Informacje o zagrożeniach zgodne z wymogami UE	
—	Amplification Reagent Chlorek magnezu 60–65%
	— H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Enzyme Reagent HEPES 1–5% Triton X-100 1 – 5%
	— H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

—	Enzyme Reconstitution Solution <i>Glycerol 20–25%</i> <i>Triton X-100 5 – 10%</i> <i>HEPES 1–5%</i> — H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Promoter Reagent <i>Chlorek magnezu 60–65%</i> — H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	Target Capture Reagent <i>HEPES 15–20%</i> <i>Sól litowa siarczany laurylowego 5–10%</i> <i>Wodorotlenek litu, monohydrat 1–5%</i> <i>Kwas bursztynowy 1 - 5%</i> — H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
	HIV VL Kit Controls <i>Surowica ludzka / ludzkie osocze 95–100%</i> <i>Azydek sodu < 1%</i> — H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.
—	HIV VL Kit Calibrators <i>Sól litowa siarczany laurylowego 0–10%</i> <i>Kwas bursztynowy 0 - 10%</i> — H412 - Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki. P273 - Unikać uwolnienia do środowiska. P501 - Zawartość/pojemnik usuwać do zatwierdzonego zakładu utylizacji odpadów.

Wymagania dotyczące przechowywania odczynników i postępowania z nimi

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

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

^a Po wyjęciu odczynników z aparatu Panther System należy je niezwłocznie przenieść do miejsca o odpowiedniej temperaturze przechowywania.

- B. Wyrzucić pozostałości odczynników po przygotowaniu, których nie wykorzystano, oraz odczynnik do wychwytywania cząstek szukanych (TCR) po 30 dniach lub po upływie daty ważności serii głównej, w zależności od tego, co nastąpi wcześniej.
- C. Odczynniki przechowywane w aparacie Panther System charakteryzują się stabilnością wewnętrzną wynoszącą 72 godzin. Odczynniki można ładować do Panther System do 5 razy. Panther System rejestruje każde załadowanie odczynników.
- D. Po rozmrożeniu kalibratora roztwór musi być klarowny, tzn. nie może być mętny ani nie mogą się w nim wytrącać osady.
- ⚠ E. Odczynnik promotora i przygotowany odczynnik promotora są wrażliwe na światło. Te odczynniki należy chronić przed światłem w trakcie przechowywania i przygotowania do stosowania.

Pobieranie i przechowywanie próbek

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

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

Uwaga: Do przechowywania zalecane są wyłącznie plastikowe probówki wtórne.

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

Dla pomiarów ilościowych:

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

Do oznaczeń jakościowych:

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

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

A. Pobieranie próbek

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

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

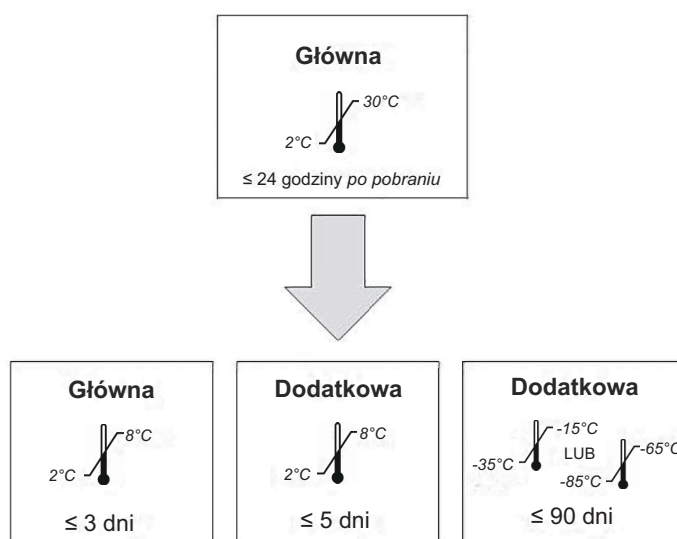
Jeżeli nie są testowane natychmiast, osocze i surowica mogą być przechowywane zgodnie z poniższymi specyfikacjami. Jeśli osocze zostanie przeniesione do dodatkowej probówki, można je zamrozić w temperaturze od -20°C do -70°C, a surowicę można zamrozić w temperaturze -20°C. Nie należy przekraczać trzech cykli zamrażania i rozmrażania, aby uniknąć wpływu na wynik. Nie zamrażać próbek w roztworach EDTA, ACD lub w pierwotnych probówkach do pobierania surowicy.

B. Warunki przechowywania próbek

1. Próbkę osocza w EDTA i ACD

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

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

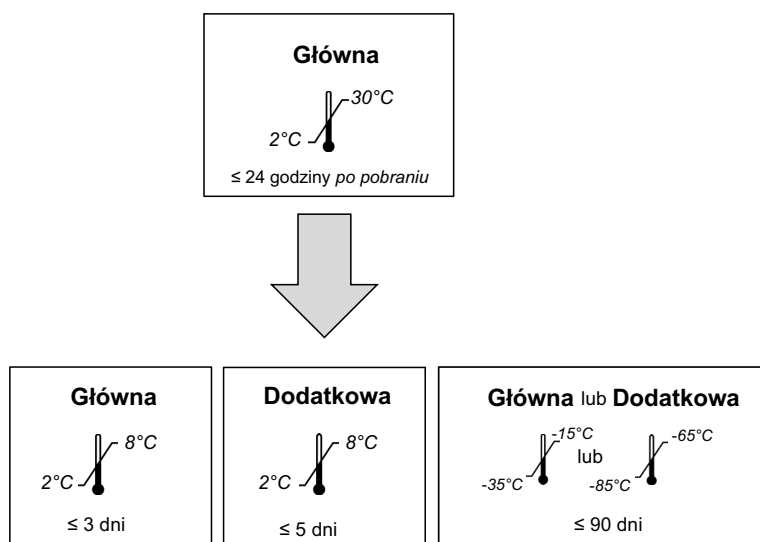


Rysunek 1. Warunki przechowywania próbek z EDTA/ACD

2. Próbkę w probówkach PPT

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

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

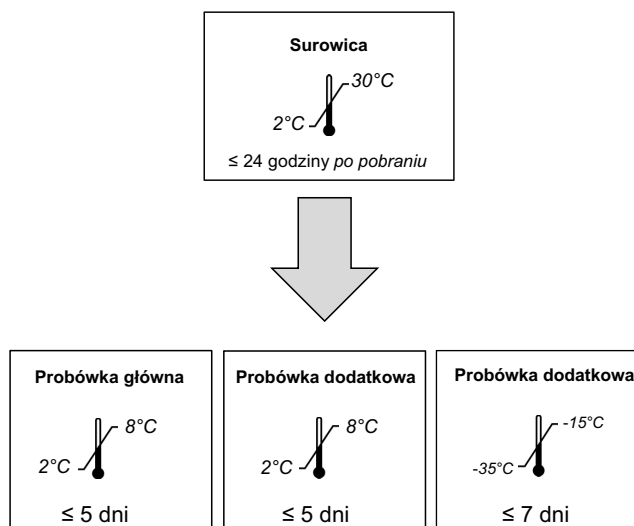


Rysunek 2. Warunki przechowywania dla probówek PPT

3. Próbkę w probówkach z surowicą

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

- W próbce do surowicy w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- W próbce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- W próbce dodatkowej w temperaturze -20°C do 7 dni.

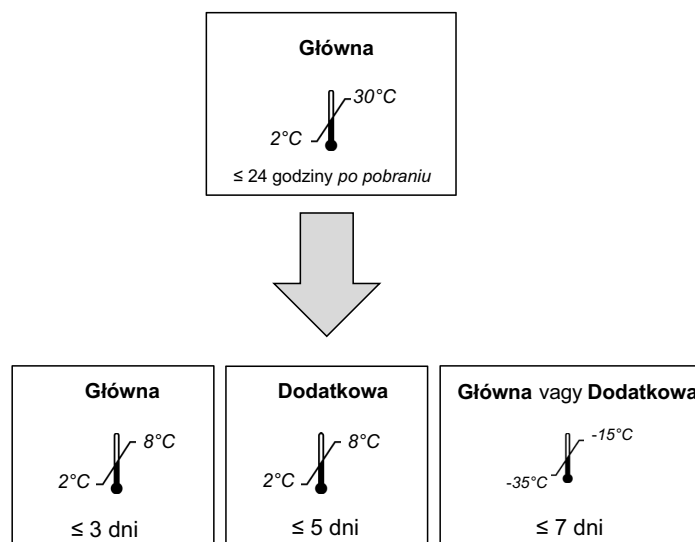


Rysunek 3. Warunki przechowywania probówek z surowicą

4. Próbkę w probówkach SST

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

- W próbce SST w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni,
- W próbce dodatkowej w temperaturze od 2°C do 8°C przez okres do 5 dni, lub
- W próbce dodatkowej lub SST w temperaturze -20°C do 7 dni.



Rysunek 4. Warunki przechowywania SST

C. Rozcieńczanie próbek osocza

Próbka osocza może zostać rozcieńczona w próbce SAT lub dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System. Patrz *Procedura testu w Panther System*, etap E.5 poniżej, aby uzyskać więcej informacji.

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

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

Próbki w Panther System

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

Transport próbek

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

Uwaga: Probki należy przysyłać zgodnie z odpowiednimi krajowymi, międzynarodowymi i regionalnymi przepisami transportowymi.

Panther® System

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

Dostarczone odczynniki i materiały

Zestaw testów Aptima HIV-1 Quant Dx, 100 testów, kat. nr PRD-03000 (1 pudełko testów, 1 zestaw kalibratorów i 1 zestaw kontroli)

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

Pudełko z testami Aptima HIV-1 Quant Dx

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
A	Odczynnik amplifikacji qHIV-1 <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
E	Odczynnik enzymatyczny qHIV-1 <i>Liofilizowana odwrotna transkryptaza i polimeraza RNA w roztworze buforowanym HEPES.</i>	1 fiolka
PRO	Odczynnik promotor qHIV-1 <i>Liofilizowane, niezakaźne kwasy nukleinowe w roztworze buforowanym.</i>	1 fiolka
AR	Roztwór do przygotowania odczynnika amplifikacji qHIV-1 <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 7,2 mL
ER	Roztwór do przygotowania odczynników enzymatycznych qHIV-1 <i>Roztwór buforowany HEPES zawierający środek powierzchniowo czynny i glicerol.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	Roztwór do przygotowania odczynnika promotora qHIV-1 <i>Wodny roztwór zawierający glicerol i środki konserwujące.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	Odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych qHIV-1 <i>Kwasy nukleinowe w buforowanym roztworze soli z fazą stałą, niezakaźne kwasy nukleinowe oraz kalibrator wewnętrzny.</i>	1 x 72,0 mL
	Kołnierze do przygotowania odczynników	3
	Karta z kodami kreskowymi partii głównych	1 karta

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

Symbol	Element	Liczba sztuk
PCAL	Kalibrator dodatni qHIV-1 <i>Transkrypt w roztworze buforowanym.</i>	5 x 2,5 mL
	Etykieta z kodem kreskowym kalibratora	—

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

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

Materiały wymagane, ale dostępne osobno

Uwaga: Materiały dostarczane przez Hologic są zaopatrzone w numery katalogowe, chyba że podano inaczej.

Materiał	Kat. Nr
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther® System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Zestaw kontroli Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03002
Zestaw kalibratorów Aptima® HIV-1 Quant Dx	PRD-03001
Zestaw wstępny Panther do testów w czasie rzeczywistym (tylko do testów w czasie rzeczywistym)	PRD-03455 (5000 testów)
Zestaw płynów do testu Aptima® (znany także jako zestaw uniwersalnych płynów) zawiera roztwór do płukania Aptima®, bufor do płynu dezaktywującego Aptima® oraz Odczynnik olejowy Aptima®	303014 (1000 testów)
Zestawy wieloprobówkowe (MTU)	104772-02
Zestaw torby na odpady Panther	902731
Ośłona pojemnika na odpady Panther	504405
Albo zestaw wstępny do aparatu Panther System (w przypadku wykonywania testów TMA nie w czasie rzeczywistym równoległe z testami TMA w czasie rzeczywistym) zawiera MTU, torby na odpady, osłony pojemników na odpady, płyny Auto Detect i płyny do testu	303096 (5000 testów)
Końcówki, 1000 µl, z filtrami, z detekcją cieczy, przewodzące, jednorazowego użytku	901121 (10612513 Tecan)
Nie wszystkie produkty są dostępne we wszystkich regionach. W celu uzyskania informacji na temat dostępności produktu w wybranym regionie należy skontaktować się z odpowiednim przedstawicielem.	903031 (10612513 Tecan)
	MME-04134 (30180117 Tecan)
	MME-04128
Wybielacz, roztwór podchlorynu sodu w stężeniu od 5% do 8,25% (od 0,7 M do 1,16 M)	—
Rękawiczki jednorazowe, bezpudrowe	—
Zamienne zakrętki nieprzepuszczalne	103036A
Zakrętki zamienne na odczynniki	
Butelki do przygotowania odczynników amplifikacji, enzymatycznego i promotora	CL0041 (100 zakrętek)
Butelka TCR	CL0040 (100 zakrętek)
Wzmocnione plastikiem osłony stołu laboratoryjnego	—
Ściereczki bezpyłowe	—
Pipetor	—
Końcówki	—
Pierwotne próbki do pobierania próbek (ACD, EDTA, PPT, SST, Surowica) w opcjach:	—
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Wirówka	—
Wstrząsarka	—

Materiały opcjonalne

Materiał	Kat. Nr
Probówki dodatkowe w opcjach:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Probówki do porcjowania próbek Aptima® (SAT) (opakowanie 100 szt.)	FAB-18184
Zakrętki probówek transportowych (opakowanie 100 szt.)	504415
zakrętka do SAT	
Rozcieńczalnik do próbek Aptima®	PRD-03003
Zestaw rozcieńczalnika do próbek Aptima®	PRD-03478
zawiera rozcieńczalnik do próbek, 100 SAT i 100 zakrętek	
Pipety transportowe	—
Dostępne komercyjnie panele, na przykład:	—
HIV-1 uzyskane z organizacji Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) lub College of American Panel badania wirerii HIV lub panele SeraCare ACCURUN HIV dla patologów (CAP)	
Wymazówki z bawełnianą końcówką	
Wzmocnione plastikiem osłony stołu	—
Wyrząsarka probówek	—

Procedura testu w Panther System

Uwaga: Dodatkowe informacje na temat procedury przedstawiono w Instrukcji obsługi Panther/Panther Fusion System.

A. Przygotowanie obszaru roboczego

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

B. Przygotowanie kalibratora i kontroli

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

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

Opcja. Probówki z kalibratorem i kontrolą można umieścić na wytrząsarce do probówek w celu dokładnego wymieszania. Przed użyciem należy upewnić się, że zawartość probówki jest całkowicie rozmrożona.

Uwaga: *Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania kalibratora i kontroli. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez Panther System.*

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

C. Przygotowanie odczynników / przygotowanie nowego zestawu

Uwaga: *Przygotowanie odczynników należy przeprowadzić przed rozpoczęciem jakichkolwiek prac w aparacie Panther System.*

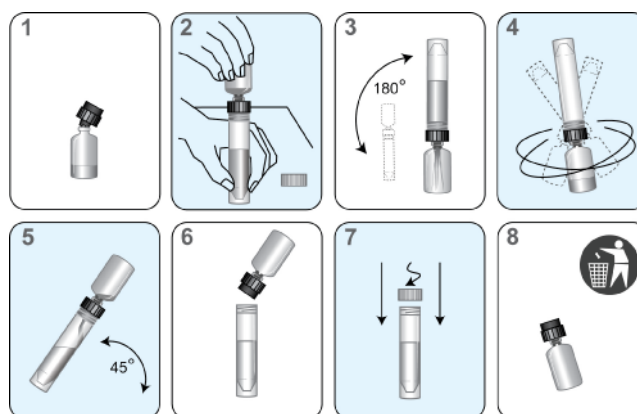
1. Aby przygotować odczynnik do wychwytywania cząsteczek szukanych (TCR), należy wykonać poniższe czynności:
 - a. Wyjąć TCR z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Sprawdź numer partii na butelce z TCR, aby upewnić się, że zgadza się on z numerem partii na Karcie kodów kreskowych głównej partii.
 - b.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

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

- c. Przed użyciem należy upewnić się, że cały osad znajduje się w roztworze, a cząstki magnetyczne są zawieszone.
2. W celu odtworzenia odczynników amplifikacji, enzymatycznych i promotorów należy wykonać następujące czynności:
 - a. Wyjąć liofilizowane odczynniki i odpowiednie roztwory do przygotowania z miejsca przechowywania (2°C do 8°C). Dopasować odpowiedni roztwór do każdego liofilizowanego odczynnika.
 - b. Upewnić się, że roztwór do przygotowania i liofilizowany odczynnik mają etykiety w tym samym kolorze. Sprawdzić numery partii na karcie z kodami kreskowymi partii głównych, aby mieć pewność, że połączono odpowiednie odczynniki.
 - i. Otworzyć fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem, zdejmując metalową uszczelkę i gumowy korek.
 - ii. Mocno włożyć karbowany koniec kołnierza do przygotowania odczynników (czarnego) na fiolkę (Rysunek 5, etap 1).
 - iii. Otworzyć buteleczkę zawierającą odpowiedni roztwór do przygotowania i odłożyć zakrętkę na czystą, przykrytą powierzchnię roboczą.
 - iv. Umieścić butelkę z roztworem do przygotowania na stabilnej powierzchni (np. na stole). Następnie odwrócić fiolkę z liofilizowanym odczynnikiem nad butelką z roztworem do przygotowania i mocno przymocować kołnierz do butelki z roztworem do przygotowania (Rysunek 5, etap 2).
 - v. Powoli odwrócić połączone butelki (fiolka dołączona do butelki z roztworem), aby umożliwić spływanie roztworu do szklanej fiołki (Rysunek 5, etap 3).

- vi. Podnieść połączone butelki i odwirować je przez co najmniej 10 sekund (Rysunek 5, etap 4).
- vii. Odczekać co najmniej 30 minut, aby liofilizowany odczynnik przeszedł do roztworu.
- viii. Po przejściu liofilizowanego odczynnika do roztworu odwirować połączone butelki przez co najmniej 10 sekund, a następnie lekko wstrząsać roztworem w szklanej fiołce w przód i w tył w celu dokładnego wymieszania.
- c. Ponownie powoli przechylić połączone butelki, aby umożliwić spłynięcie całego roztworu z powrotem do butelki z roztworem do przygotowywania odczynników (Rysunek 5, etap 5).
- d. Ostrożnie zdjąć kołnierz do przygotowywania i szklaną fiołkę (Rysunek 5, etap 6).
- e. Nałożyć zakrętkę na buteleczkę. Na etykiecie wpisać inicjały operatora i datę przygotowania odczynników (Rysunek 5, etap 7).
- f. Wyrzucić kołnierz do przygotowania odczynników i szklaną fiołkę (Rysunek 5, etap 8).

Ostrzeżenie: Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas przygotowywania odczynników. Piana negatywnie wpływa na wykrywanie poziomu przez Panther System.



Rysunek 5. Proces przygotowania odczynników

D. Przygotowanie odczynników dla odczynników przygotowanych wcześniej

1. Wyjąć wcześniej przygotowane odczynniki z miejsca przechowywania (2°C do 8°C).
2. Przed rozpoczęciem testu uprzednio przygotowane odczynniki amplifikacji, enzymatyczny, promotor i TCR muszą osiągnąć temperaturę pokojową od 15°C do 30°C.
3. W przypadku wcześniej przygotowanego TCR, przed załadowaniem do systemu należy wykonać etap C.1 powyżej.
4. Odwirować i odwrócić odczynniki amplifikacji, enzymatyczny i promotora, aby dokładnie wymieszać przed załadowaniem do systemu. Unikać tworzenia nadmiernej piany podczas odwracania odczynników.
5. Nie wolno dopełniać butelek z odczynnikami. Panther System rozpozna butelki po dopełnieniu i odrzuci je.

E. Obchodzenie się z próbkami

1. Należy upewnić się, że przetworzone próbki w probówkach pierwotnych lub nierozcieńczone próbki w probówkach dodatkowych były odpowiednio przechowywane, zgodnie z „Pobieranie i przechowywanie próbek” na stronie 9.
2. Upewnić się, że zamrożone próbki są dokładnie rozmrożone. Rozmrożone próbki należy wirować przez 3 do 5 sekund w celu dokładnego wymieszania.
3. Przed rozpoczęciem obróbki próbki powinny osiągnąć temperaturę od 15°C do 30°C. Dodatkowe informacje dotyczące systemu znajdują się w *Próbki w Panther System*.
4. Należy upewnić się, że każda pierwotna probówka do pobierania próbek zawiera do 1200 µL próbki lub każdy SAT zawiera co najmniej 700 µL próbki. W tabeli znajdującej się w sekcji *Pobieranie próbek* na stronie 9 określono wymagania dotyczące objętości martwej dla każdego typu probówki pierwotnej i dodatkowej. Jeśli konieczne jest rozcieńczenie próbki, patrz etap E.5 poniżej, aby uzyskać więcej informacji.
5. Rozcieńczyć próbkę osocza w stosunku 1:3 w SAT lub 1:100 w probówce dodatkowej. Próbka osocza może zostać rozcieńczona w probówce dodatkowej w celu wykonania testu w Panther System.

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

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

a. Rozcieńczanie próbek o małej objętości

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

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

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

b. Rozcieńczanie próbek o wysokim mianie

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

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

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

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

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

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

F. Przygotowanie systemu

1. Skonfigurować system zgodnie z instrukcjami, które zawiera *Instrukcja obsługi Panther/Panther Fusion System* i „*Uwagi dotyczące procedury*”. Sprawdzić, czy stosowane są statywy na odczynniki o odpowiedniej wielkości oraz adaptery TCR.
2. Załadowanie próbek do statywów na próbki. Wykonać następujące czynności dla każdej probówki z próbką (próbka oraz, jeśli to konieczne, kalibrator i kontrole):
 - a. Poluzować jedną zakrętkę probówki, ale jeszcze jej nie zdejmować.

Uwaga: Zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć kontaminacji poprzez rozprzestrzenienie się aerozolu. Delikatnie poluzować zakrętki na próbkach.

- b. Załadować probówki z próbkami do statywów na próbki.
- c. Powtórzyć etapy 2.a i 2.b dla każdej pozostałej próbki.
- d. Po załadowaniu próbek do statywu na próbki, zdjąć i wyrzucić każdą zakrętkę probówki z próbką z jednego statywu na próbki. Aby uniknąć kontaminacji, nie przenosić zakrętki nad innymi statywami na próbki lub probówkami na próbki.
- e. W razie potrzeby użyć nowej, jednorazowej pipety do usuwania pęcherzyków powietrza lub piany.
- f. Po zdjęciu ostatniej zakrętki, załadować statyw z próbkami do wnęki na próbki.

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

- g. Potworzyć etapy 2.a do 2.f dla kolejnego statywu na próbki.

Uwagi dotyczące procedury

A. Kalibrator i kontrole

1. Probówki z kalibratorem dodatnim qHIV-1, kontrolą niskododatnią qHIV-1, kontrolą wysokododatnią qHIV-1 i kontrolą ujemną qHIV-1 można umieścić na dowolnej pozycji w statywie na próbki i w dowolnym torze wnęki na próbki w Panther System. Pipetowanie próbek pobranych od pacjentów rozpocznie się po spełnieniu jednego z dwóch następujących warunków:
 - a. Kalibrator i kontrole są w trakcie przetwarzania przez system.
 - b. Zarejestrowano w systemie ważne wyniki dla kalibratora i kontroli.

2. Po odpipetowaniu probówek z kalibratorem i kontrolami oraz obróbce pod kątem zestawu odczynników analitycznych Aptima HIV-1 Quant Dx próbki można badać powiązanym, przygotowanym zestawem w okresie do 24 godzin, **o ile nie wystąpiły następujące sytuacje:**
 - a. Wyniki kalibratora lub kontroli są nieważne.
 - b. Usunięto z systemu powiązany zestaw odczynników analitycznych.
 - c. Przekroczono granice stabilności powiązanego zestawu odczynników analitycznych.
 3. Kalibrator i każda probówka kontrolna mogą być użyte tylko raz. Próby użycia probówki więcej niż jeden raz mogą prowadzić do błędów przetwarzania.
- B. Puder z rękawiczek

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

Kontrola jakości

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

Kalibracja testu

Aby wygenerować ważne wyniki, należy wykonać kalibrację testu. Pojedynczy kalibrator dodatni jest wykonywany w trzech seriach za każdym razem, gdy do Panther System ładowany jest zestaw odczynników. Raz ustalona kalibracja jest ważna przez okres do 24 godzin. Oprogramowanie Panther System alarmuje operatora, gdy wymagana jest kalibracja. Operator skanuje współczynnik kalibracji znajdujący się na arkuszu kodów kreskowych partii głównej dostarczonym z każdym zestawem odczynników.

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

Kontrole ujemne i dodatnie

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

Podczas przetwarzania kryteria akceptacji kontroli są automatycznie weryfikowane przez Panther System. Aby wygenerować ważne wyniki, kontrola ujemna musi dawać wynik „Nie wykryto”, a kontrole dodatnie muszą dawać wyniki mieszczące się we wcześniej zdefiniowanych parametrach. Jeśli którakolwiek z kontroli ma nieważny wynik, oprogramowanie automatycznie unieważnia badanie. Próbki w unieważnionej serii muszą być ponownie przebadane przy użyciu świeżo przygotowanego kalibratora i świeżo przygotowanych kontroli.

Kalibrator wewnętrzny / kontrola wewnętrzna

Każda próbka zawiera wewnętrzny kalibrator / kontrolę wewnętrzną (IC). W trakcie przetwarzania kryteria akceptacji IC są automatycznie weryfikowane przez oprogramowanie Panther System. Jeżeli wynik IC jest nieważny, wynik próbki jest unieważniony. Każda próbka z nieważnym wynikiem IC musi zostać ponownie przebadana w celu uzyskania ważnego wyniku.

Oprogramowanie Panther System zostało zaprojektowane w celu dokładnej weryfikacji procesów, gdy procedury są wykonywane zgodnie z instrukcjami zawartymi w niniejszej ulotce dołączonej do opakowania oraz *Instrukcją obsługi Panther/Panther Fusion System*.

Interpretacja wyników

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

Panther System automatycznie określa stężenie RNA wirusa HIV-1 dla próbek i kontroli poprzez porównanie wyników z krzywą kalibracyjną. Stężenia RNA wirusa HIV-1 podawane są w kopiach/mL i $\log_{10}$ kopii/mL. Interpretacja wyników przedstawiona jest w Tabeli 1. Jeżeli rozcieńczenie 1:3 lub 1:100 jest stosowane dla rozcieńczonych próbek, Panther System automatycznie oblicza stężenie HIV-1 dla czystej próbki poprzez pomnożenie rozcieńczonego stężenia przez współczynnik rozcieńczenia, a rozcieńczone próbki są oznaczane jako rozcieńczone.

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

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

Tabela 1: Interpretacja wyniku

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

^a Współczynnik konwersji kopii na jednostkę międzynarodową (j.m.) dla 3. Międzynarodowego Standardu dla RNA wirusa HIV-1 (10/152) wynosi 0,35 kopii/IU.

^b Wartość jest obcięta do dwóch miejsc po przecinku.

^c Interpretacja diagnostyczna może być dokonana na podstawie próbek surowicy lub osocza, które nie zostały rozcieńczone.

^d Nieważne wyniki są wyświetlane niebieską czcionką.

^e Najniższa wartość raportowana przez oprogramowanie to 30 kopii/mL. Najwyższa wartość LoD dla testu wynosi 17,5 kopii/mL dla podtypu G. Wartości LoD dla wszystkich podtypów, patrz Tabela 3. LoD według 3. Międzynarodowego Standardu WHO (podtyp B) dla RNA wirusa HIV-1 wynosi 12,1 kopii/mL (patrz Tabela 2).

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

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

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

Składnik	Zakres odzysku dla ważnych serii
Kontrola negatywna	ND.
Niska kontrola dodatnia	+/- 0,5 log ₁₀ kopii/ml
Wysoka kontrola dodatnia	+/- 0,5 log ₁₀ kopii/ml

Ograniczenia

- A. Niniejszy test powinien być wykonywany wyłącznie przez osoby przeszkolone w zakresie procedury testowej. Nieprzestrzeganie instrukcji przedstawionych w niniejszej ulotce załączonej do opakowania może spowodować uzyskanie błędnych wyników.
- B. Wiarygodne wyniki zależą od właściwego pobrania próbek, ich transportu, przechowywania i przetwarzania.
- C. Ten test został zatwierdzony do użytku jako test ilościowy tylko z ludzkim osoczem EDTA i ACD.
- D. Ten test został zatwierdzony do użytku jako test jakościowy z ludzkim osoczem i surowicą z EDTA i ACD.
- E. Choć rzadko, mutacje w wysoce konserwatywnych regionach genomu wirusowego objętych starterami i/lub sondami w teście Aptima HIV-1 Quant Dx mogą powodować zaniżenie ilości lub niewykrycie wirusa.

Skuteczność

Granica wykrywalności (LoD) przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa HIV-1

Granica wykrywalności (LoD) jest definiowana jako stężenie RNA wirusa HIV-1, które jest wykrywane z 95% lub większym prawdopodobieństwem, zgodnie z CLSI EP17-A2 (39). LoD określano za pomocą paneli testowych składających się z rozcieńczeń 3. Międzynarodowego Standardu WHO wirusa HIV-1 (podtyp B, kod NIBSC: 10/152) w osoczu HIV-1-ujemnym. Trzydzieści replikatów każdego rozcieńczenia zbadano na trzech aparatach Panther System, stosując trzy serie odczynników, co daje w sumie 90 replikatów dla każdego rozcieńczenia. Zgodnie z CLSI EP17-A2 wyniki z partii odczynnika o najwyższym stężeniu dla przewidywanej granicy wykrywalności są określone jako LoD i są przedstawione w Tabeli 3. Na podstawie analizy probitowej, LoD dla testu Aptima HIV-1 Quant Dx wynosi 12 kopii/mL (35 j.m./mL; 0,35 kopii = 1 j.m.).

Tabela 3: Granica wykrywalności testu Aptima HIV-1 Quant Dx przy użyciu 3. Międzynarodowego Standardu WHO wirusa HIV-1

Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (kopie/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

Granica wykrywalności dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

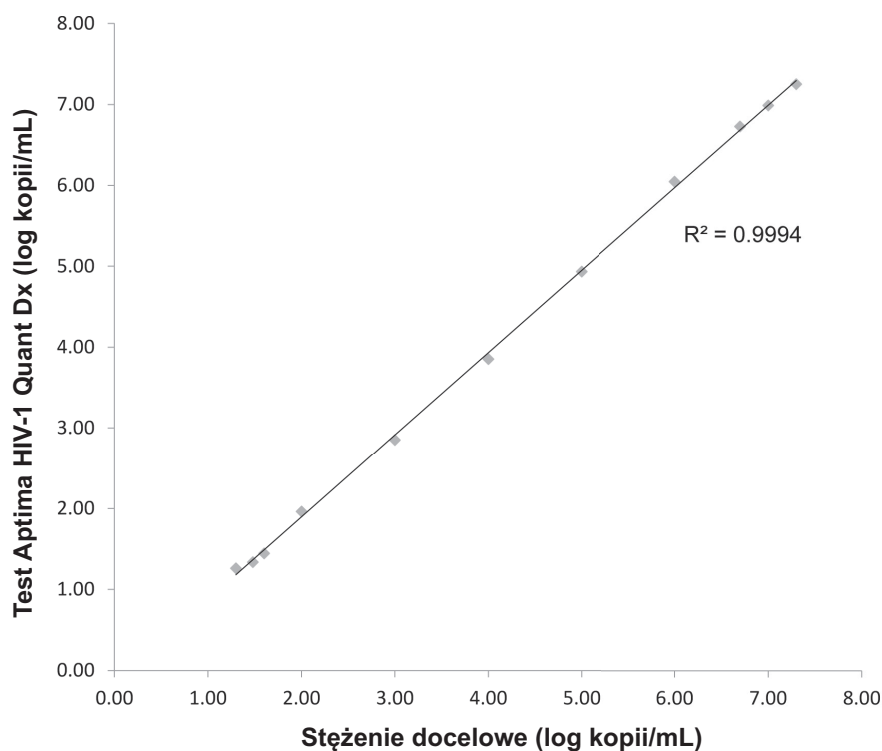
Dla grupy M wirusa HIV-1 (podtypy A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) oraz grup N i O utworzono siedem paneli przez dodanie wyhodowanego wirusa HIV-1 lub dodatnich próbek klinicznych do ludzkiego osocza HIV-1-ujemnego (0 do 40 kopii/mL). Każdy element panelu był badany w 30 replikatach z dwiema partiami odczynników, co daje w sumie 60 replikatów dla każdego elementu panelu. Przypisanie stężenia dla próbek klinicznych lub wyhodowanych zapasów wirusa zostało określone przy użyciu analizy porównawczej. Przeprowadzono analizę probitową w celu wygenerowania przewidywanych granic wykrywalności 50% i 95%. Zgodnie z CLSI EP17-A2 (39) wyniki z partii odczynnika o najwyższym stężeniu dla przewidywanej granicy wykrywalności są określone jako LoD i są przedstawione w Tabeli 4.

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

Podtyp/grupa	Przewidywana granica wykrywalności	Stężenie (kopie/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

Zakres liniowy

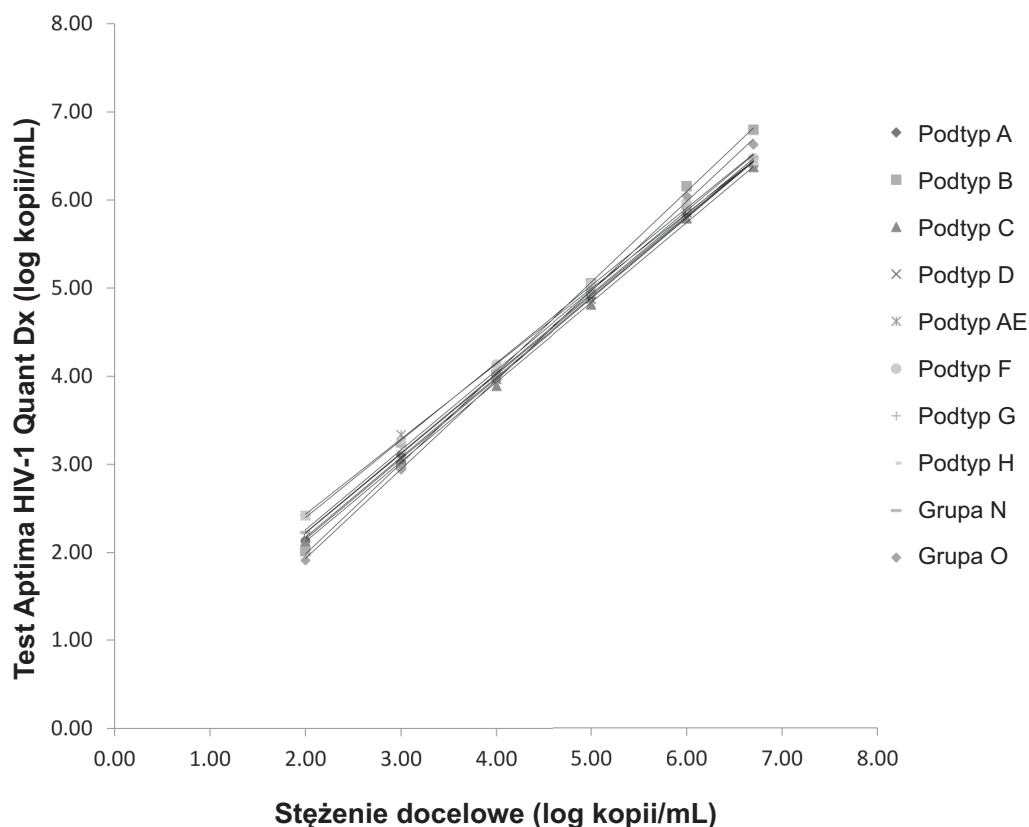
Zakres liniowy testu Aptima HIV-1 Quant Dx został ustalony poprzez badanie paneli, które składały się z wyhodowanego wirusa HIV-1 podtypu B rozcieńczonego w ludzkim osoczu HIV-1-ujemnym zgodnie z CLSI EP06-A (40). Panele miały stężenie od 1,30 do 7,30 log kopii/mL. Badania przeprowadzono na siedmiu aparatach Panther System z dwiema seriami odczynników testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Jak pokazano na Rysunek 6, test Aptima Quant Dx wykazał liniowość w całym badanym zakresie.



Rysunek 6. Liniowość testu Aptima HIV-1 Quant Dx

Liniowość dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

Liniowa odpowiedź testu Aptima HIV-1 Quant Dx w grupie M (podtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) oraz w grupach N i O została potwierdzona przez panele testowe składające się z transkryptu HIV-1 rozcieńczonego w buforze w stężeniach od 2,00 do 6,70 log kopii/mL. Testy przeprowadzono na czterech aparatach Panther System i sześciu seriach. Liniowość została wykazana w całym badanym zakresie (Rysunek 7).



Rysunek 7. Liniowość w grupie M (podtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) oraz grupach N i O

Dolna granica oznaczalności przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego Standardu WHO dla wirusa HIV-1

Dolna granica oznaczalności (LLoQ) jest definiowana jako najniższe stężenie, przy którym RNA wirusa HIV-1 jest wiarygodnie oznaczane ilościowo w ramach błędu całkowitego (TE), zgodnie z CLSI EP17-A2 (39). TE został obliczony przy użyciu modelu Westgarda ($TE = |\text{obciążenie}| + 2SD$). Aby zapewnić dokładność i precyzję pomiarów, TE testu Aptima HIV-1 Quant Dx został ustalony na poziomie 1 log kopii/mL (tj. w LLoQ różnica między dwoma pomiarami większa niż 1 log kopii/mL jest statystycznie istotna).

LLoQ określano za pomocą paneli testowych składających się z rozcieńczeń 3. Międzynarodowego Standardu WHO wirusa HIV-1 (podtyp B, kod NIBSC: 10/152) w osoczu HIV-1-ujemnym. Zgodnie z CLSI EP17-A2 panele były testowane z trzema seriami odczynników w replikatach po 30 dla każdej partii z 23 serii. Wyniki przedstawione są w Tabeli 5. Najwyższe LLoQ dla trzech badanych serii w teście Aptima HIV-1 Quant Dx przy zastosowaniu 3. międzynarodowego standardu WHO HIV-1 wynosi 15 kopii/ml (1,17 log kopii/mL; 42,9 j.m./mL) (Tabela 6).

Tabela 5: Określenie LLoQ testu Aptima HIV-1 Quant Dx przy użyciu 3. Międzynarodowego Standardu WHO wirusa HIV-1

Partia odczynników	Stężenie docelowe (log kopii/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log kopii/mL)	SD (log kopii/mL)	Obciążenie (log kopii/mL)	Obliczony TE (log kopii/mL)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

SD = odchylenie standardowe

Tabela 6: Podsumowanie LLoQ przy zastosowaniu 3. Międzynarodowego standardu WHO wirusa HIV-1 (3 partie odczynników)

Partia odczynników	LLoQ (log kopii/mL)	LLoQ (kopie/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Weryfikacja LLoQ dla różnych podtypów i grup wirusa HIV-1

LLoQ dla wszystkich podtypów i grup HIV-1 weryfikowano zgodnie z CLSI EP17-A2 (39). Panele zostały wykonane dla każdej grupy M wirusa HIV-1 (podtypy A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) oraz grup N i O przez dodanie do puli osocza ludzkiego HIV-1-ujemnego naturalnie zakażonych próbek klinicznych lub izolatów klinicznych. Badanie obejmowało łącznie 30 replikatów dla każdego elementu panelu. Dane w Tabeli 7 pokazują najniższe stężenie dla każdego podtypu lub grupy, przy którym TE był mniejszy niż 1 log kopii/mL. Najwyższa wartość LLoQ dla wszystkich badanych podtypów i grup wynosiła 30 kopii/mL; ta wyższa wartość została zatem wybrana jako LLoQ dla testu Aptima HIV-1 Quant Dx.

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

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

Precyzja

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

Tabela 8: Precyzja testu Aptima HIV-1 Quant Dx

Liczba ważnych replikatów	Średnie stężenie (log kopii/mL)	Pomiędzy urządzeniami		Pomiędzy operatorami		Pomiędzy partiami		Pomiędzy seriami		W ramach serii		Ogółem	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^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 = współczynnik zmienności, SD = odchylenie standardowe

^aTen element panelu został rozcieńczony w stosunku 1:3 rozcieńczalnikiem do próbek i przetestowany w celu oceny precyzji rozcieńczonej próbki.

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

Potencjalne substancje zakłócające

Oceniono podatność testu Aptima HIV-1 Quant Dx na zakłócenia spowodowane podwyższonym poziomem substancji endogennych oraz lekami powszechnie przepisywanymi osobom zakażonym wirusem HIV-1. Testowano próbki osocza ludzkiego HIV-1-ujemne oraz próbki z domieszką RNA wirusa HIV-1 do stężenia 3 log kopii/mL.

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

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

Tabela 9: Substancje egzogenne

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

Kliniczne próbki osocza wymienione w Tabela 10 od pacjentów z podwyższonym poziomem zdefiniowanych substancji lub od pacjentów z wymienionymi chorobami były testowane przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx z obecnością i bez obecności RNA wirusa HIV-1 w ilości 3 log kopii. Nie zaobserwowano żadnych zakłóceń wyników.

Tabela 10: Badane typy próbek klinicznych

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

Swoistość

Swoistość testu Aptima HIV-1 Quant Dx została określona przy użyciu 120 świeżych i 510 zamrożonych próbek osocza ujemnych na obecność HIV-1 oraz przy użyciu 120 świeżych i 510 zamrożonych próbek surowicy ujemnych na obecność HIV-1. Wszystkie wyniki były niereaktywne (swoistość 100%; 95% CI: 99,4-100%).

Tabela 11: Swoistość w próbkach osocza i surowicy

	Świeże osocze	Zamrożone osocze	Łącznie osocze	Świeża surowica	Zamrożona surowica	Łącznie surowica
Ważne replikaty (n)	120	510	630	120	510	630
Niereaktywne	120	510	630	120	510	630
Swoistość (95% CI)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)	100% (97,0-100)	100% (99,3-100)	100% (99,4-100)

CI = Przedział ufności

Swoistość analityczna

Potencjalna reaktywność krzyżowa z patogenami (Tabela 12) została oceniona w teście Aptima HIV-1 Quant Dx w obecności lub nieobecności 3 log kopii/mL RNA wirusa HIV-1 w osoczu HIV-1-ujemnym. W obecności patogenów nie zaobserwowano żadnych zakłóceń w przeprowadzaniu testu.

Tabela 12: Patogeny badane pod kątem swoistości analitycznej

Patogen	Stężenie
Wirus zapalenia wątroby typu A	100 000 PFU/mL ^a
Wirus zapalenia wątroby typu B	100 000 j.m./mL ^b
Wirus zapalenia wątroby typu C	100 000 j.m./mL
Wirus zapalenia wątroby typu G	100 000 kopii/mL
Wirus opryszczki pospolitej typu 1 (HSV-1)	100 000 PFU/mL
Wirus opryszczki pospolitej typu 2 (HSV-2)	75 000 PFU/mL
Ludzki herpeswirus typu 6	100 000 kopii/mL
Ludzki herpeswirus typu 8	42 000 PFU/mL
HIV-2	5 500 PFU/mL
Ludzki wirus T-limfotropowy (HTLV)	100 000 vp/mL ^c
Wirus Zachodniego Nilu	100 000 kopii/mL
Parwowirus B19	100 000 j.m./mL
Cytomegalowirus	100 000 kopii/mL
Wirus Epsteina-Barr	100 000 kopii/mL
Adenowirus typu 5	100 000 PFU/mL
Wirus dengi	100 000 kopii/mL
Wirus grypy A	100 000 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CFU/mL ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 IFU/mL ^e
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CFU/mL

^aPFU/mL = Jednostki tworzące tysinki na mL.

^bj.m./mL = Jednostki międzynarodowe na mL.

^cvp/mL = Częsteczki wirusowe na mL.

^dCFU/mL = Jednostki tworzące kolonie na mL.

^eIFU/mL = Jednostki tworzące inkluzje na mL.

Powtarzalność próbek klinicznych

Dziesięć klinicznych próbek osocza przebadano w trzech replikatach przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx. Średnie stężenie i odchylenie standardowe przedstawiono w Tabeli 13.

Tabela 13: Powtarzalność próbek klinicznych

Próbka	Średnie stężenie (log kopii/mL)	SD
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00

Rozcieńczanie próbki przy użyciu rozcieńczalnika do próbek

Aby ocenić rozcieńczenie próbki, panel składający się z 11 próbek o stężeniach, które obejmowały zakres liniowy testu Aptima HIV-1 Quant Dx i który składał się z dwóch próbek powyżej górnej granicy oznaczalności testu, został przetestowany czysty i rozcieńczony (1:3 lub 1:100 w rozcieńczalniku do próbek) w trzech replikatach (Tabela 14).

Tabela 14: Rozcieńczenie próbek

Rozcieńczenie	Średnie stężenie czyste (log kopii/mL)	Średnie zgłoszone stężenie ^a (log kopii/mL)	Różnica
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^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

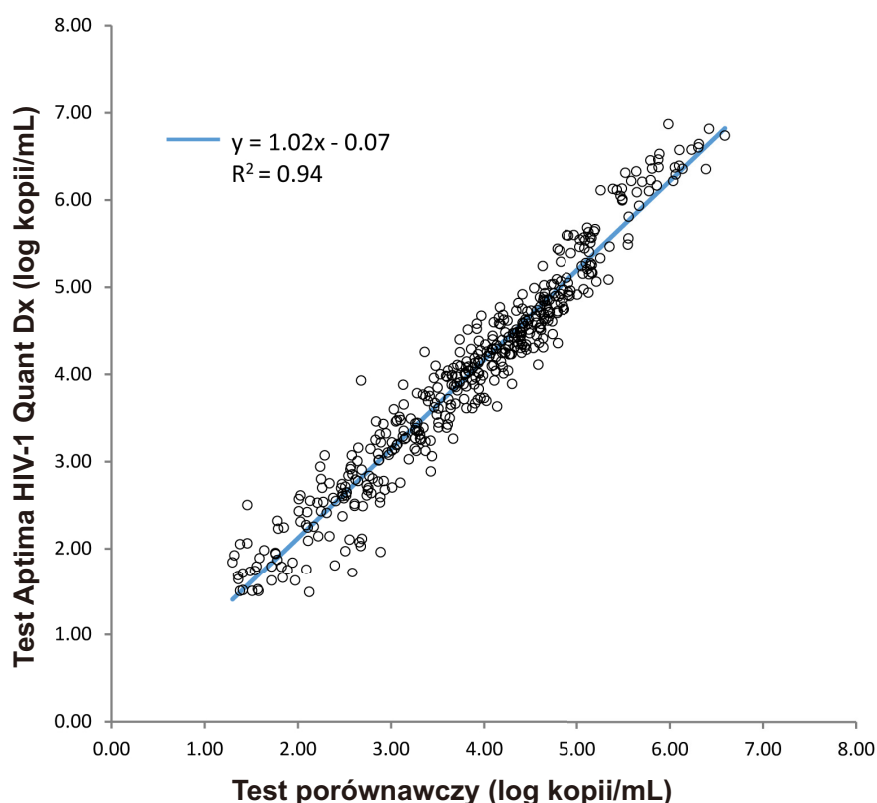
^aZgłoszone stężenie to wartość zgłoszona przez Panther System po zastosowaniu współczynnika rozcieńczenia

^bPróbka z domieszką

^cWszystkie wyniki > 7,00 log kopii/mL zostały oszacowane przy użyciu dodatkowej analizy.

Korelacja metod

Skuteczność testu Aptima HIV-1 Quant Dx została oceniona w porównaniu z testem porównawczym posiadającym znak CE poprzez testowanie nierozcieńczonych klinicznych próbek osocza od pacjentów zakażonych HIV-1 na czterech aparatach Panther System z dwoma seriami odczynników. Do regresji liniowej użyto 342 zamrożonych i 108 świeżych próbek osocza z wynikami ilościowymi zarówno w teście Aptima HIV-1 Quant Dx, jak i w teście porównawczym (Rysunek 8). Materiałem badanym był wirus HIV-1 grupy M (podtypy A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).



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

Zgodność diagnostyczna

Aby ocenić zgodność diagnostyczną, próbki od osób zakażonych HIV-1 były badane przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx i porównawczego testu jakościowego na obecność HIV-1 posiadającego znak CE: 414 próbek uzyskało ważne wyniki (Tabela 15). Wyniki dla obu testów zostały sklasyfikowane w następujący sposób. Każdy wynik dający wynik kwantyfikowalny lub wykrywalny został zakwalifikowany jako „Wykryto”. Każdy wynik, w którym nie wykryto cząsteczek szukanych, został skategoryzowany jako „Nie wykryto cząsteczek szukanych”.

Tabela 15: Zgodność diagnostyczna pomiędzy testem Aptima HIV-1 Quant Dx a testem porównawczym

		Test Aptima HIV-1 Quant Dx	
		Wykryto	Nie wykryto cząsteczek szukanych
Test porównawczy	Wykryto	214	0
	Nie wykryto cząsteczek szukanych	0	200

Przenoszenie

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

Panel serokonwersji

Przy użyciu testu Aptima HIV-1 Quant Dx przebadano 19 zestawów paneli serokonwersji HIV-1, składających się z 204 próbek. Wykrywanie RNA wirusa HIV-1 porównano z wykrywaniem za pomocą testów antygenów p24 oraz testów na obecność przeciwciał HIV-1/2. Liczba dni do pierwszego wyniku reaktywnego przy użyciu testów na obecność antygeny p24, testów na obecność przeciwciał anti-HIV 1/2 i testu Aptima HIV-1 Quant Dx jest podana w Tabeli 16. Test Aptima HIV-1 Quant Dx wykrywał RNA wirusa HIV-1 średnio 5,58 i 11,16 dnia przed testami na obecność antygeny p24 i przeciwciał anti-HIV 1/2.

Tabela 16: Podsumowanie danych dla panelu serokonwersji

ID panelu	Liczba przebadanych elementów panelu	Liczba reaktywnych elementów panelu			Dni do pierwszego reaktywnego wyniku			Różnica w dniach do pierwszego wyniku reaktywnego (na podstawie daty pobrania krwi)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Antygen p24 wirusa HIV	Przeciwciała 1/2 anti-HIV	Aptima HIV-1 Quant Dx	Antygen p24 wirusa HIV	Przeciwciała 1/2 anti-HIV	Dni wcześniejszego wykrycia niż antygen p24 wirusa HIV	Dni wcześniejszego wykrycia niż przeciwciała 1/2 anti-HIV
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 ^c	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Ogółem	204	82	51	20	Średnia			5,58	11,16
					Mediana			7	12

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

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

^bPanele PRB974, PRB975 i PRB978 zostały przebadane testem Siemens Anti-HIV 1/2.

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

^cPanele PRB974, PRB975 i PRB978 zostały przebadane testem BioMerieux p24 Ag.

Badanie równoważności surowicy i osocza

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

Bibliografia

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

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker oraz J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat oraz P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. **Schochetman, G. oraz J. R. George,** wyd. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield oraz S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane oraz M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman oraz P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Metody* **43**:177–187.
31. **Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
32. **Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska oraz 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. oraz 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 dokument MM13-A. Wayne, PA.
36. **29 CFR część 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
37. **Centers for Disease Control and Prevention / National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); wersja bieżąca.
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. Clinical Laboratory Waste Management. CLSI dokument 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 dokument 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 dokument 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

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

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

Armored RNA to znak towarowy należący do Asuragen, Inc.

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

Opisywany produkt może być objęty co najmniej jednym patentem USA, przedstawionym na stronie www.hologic.com/patents.

© 2014-2024 Hologic, Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone.

AW-11853-3401 Wer. 011

2024-09