

## Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

*In vitro* diagnostikaks.

USA-s vaid ekspordiks.

<b>Üldine teave</b> .....	<b>2</b>
Ettenähtud kasutus .....	2
Testi kokkuvõte ja selgitus .....	2
Protseduuri põhimõtted .....	3
Hoiatused ja ettevaatusabinõud .....	4
Nõuded reaktiivide säilitamisele ja käsitlemisele .....	7
Proovimaterjali kogumine ja säilitamine .....	8
Süsteemi Panther System jäetud proovid .....	12
Proovide transportimine .....	12
<b>Süsteem Panther® System</b> .....	<b>13</b>
Kaasasolevad reaktiivid ja materjalid .....	13
Vajalikud materjalid, mis on saadaval eraldi .....	15
Valikulised materjalid .....	16
Süsteemiga Panther System analüüsimise protseduur .....	16
Märkused protseduuri kohta .....	20
<b>Kvaliteedikontroll</b> .....	<b>21</b>
Analüüsi kalibreerimine .....	21
Negatiivsed ja positiivsed kontrollid .....	21
Sisemine kalibraator / sisemine kontroll .....	21
<b>Tulemuste tõlgendamine</b> .....	<b>22</b>
<b>Piirangud</b> .....	<b>24</b>
<b>Tulemuslikkus</b> .....	<b>25</b>
Tuvastuspiir (LoD) MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi .....	25
Tuvastuspiir HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral .....	26
Lineaarvahemik .....	27
Lineaarsus HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral .....	28
Alumine tuvastuspiir MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi .....	29
LLoQ verifitseerimine HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral .....	30
Kordustäpsus .....	31
Potentsiaalselt segavad ained .....	32
Spetsiifilisus .....	34
Analüütiline spetsiifilisus .....	35
Kliiniliste proovimaterjalide korratavus .....	36
Proovi lahjendamine proovimaterjali lahjendiga .....	37
Meetodite korrelatsioon .....	38
Diagnostiline vastavus .....	39
Ülekandumine .....	39
Serokonversiooni paneel .....	40
Seerumi ja plasma ekvivalentsuse uuring .....	41
<b>Bibliograafia</b> .....	<b>42</b>

## Üldine teave

### Ettenähtud kasutus

Analüüs Aptima® HIV-1 Quant Dx on *in vitro* nukleiinhapete amplifikatsiooni test inimese immuunpuudulikkuse viiruse tüüpi 1 (HIV-1) RNA rühmade M, N ja O tuvastamiseks ning kvantifitseerimiseks täisautomaatse süsteemiga Panther® System. See on mõeldud kasutamiseks HIV-1 nakkuse diagnoosimise hõlbustamiseks, HIV-1 nakkuse kinnitamiseks ja HIV-1-ga nakatunud patsientide kliinilise käsitluse hõlbustamiseks.

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx võib kasutada HIV-1 nakkuse, sh ägeda või esmase nakkuse diagnoosimise hõlbustamiseks. HIV-1 RNA esinemine patsientide plasmas või seerumis ilma HIV-1 antikehadeta viitab ägedale või esmasele HIV-1 nakkusele. Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx võib kasutada lisatestina proovide jaoks, mille tulemused on heakskiidetud HIV immuunanalüüsides korduvalt reaktiivsed olnud. Kui proov on analüüsis Aptima HIV-1 Quant Dx reaktiivne, on HIV-1 nakkus kinnitatud.

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx võib kasutada ka koos kliinilise leiu ja teiste laboratoorsete markeritega, et HIV-1 nakkusega patsientide haigust prognoosida. Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx võib kasutada antiretroviirusravi toime jälgimiseks, mõõtes HIV-1 RNA kontsentratsiooni muutusi plasmas.

Kui analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kasutatakse HIV-1 nakkuse diagnoosimise hõlbustamiseks, tehakse kvalitatiivsete tulemuste tulemuslikkus kindlaks nii plasma- kui ka seerumiproovidega.\* Kui seda kasutatakse antiretroviirusravi toime jälgimiseks, tehakse kvantitatiivsete tulemuste tulemuslikkus kindlaks vaid plasmaproovidega. Seerumiproove ei või kasutada kvantitatiivsete tulemuste saamiseks.

See analüüs ei ole mõeldud kasutamiseks vere- ega plasmadoonorite sõeluuringuks.

### Testi kokkuvõte ja selgitus

Epidemioloogilistes uuringutes on omandatud immuunpuudulikkuse sündroomi (AIDS) etioloogilise tegurina tuvastatud inimese immuunpuudulikkuse viiruse tüüp 1 (HIV-1) (1-7). HIV võib levida seksuaalsel teel, kokkupuutel nakatunud vere või veresaadustega või emalt lapsele (8). HIV-ga kokkupuutest 3–6 nädala jooksul tekib nakatunud isikul üldjuhul lühike äge sündroom, mida iseloomustavad gripilaadsed sümptomid ja väljendunud vireemia perifeerses veres (9-12). Enamikul nakatunud isikutest järgneb varasele faasile HIV-spetsiifiline immuunvastus ja plasma vireemia vähenemine, tavaliselt sümptomite tekkest 4–6 nädala jooksul (13-14). Pärast serokonversiooni algab nakatunud isikul tavaliselt kliiniliselt stabiilne asümptomaatiline faas, mis võib kesta aastaid (15-17). Asümptomaatilise perioodi iseloomustab püsiv vähene plasma vireemia (18) ja CD4+ T-lümfotsüütide arvu järkjärguline vähenemine. Selline vähenemine viib raske immuunpuudulikkuse, paljude oportunistlike infektsioonide, pahaloomuliste kasvajate ning surmani (19). Kuigi viiruse kontsentratsioon perifeerses veres on nakkuse asümptomaatilise faasi ajal suhteliselt väike, näivad viiruse replikatsioon ja kliirens olevat dünaamilised protsessid, mille käigus on suur viiruse paljunemise ja CD4+ rakkude nakatumise määr tasakaalus samaväärselt suure viiruse kliirensi, nakatunud rakkude surma ning CD4+ rakkude taastekke määraga, andes tulemuseks suhteliselt stabiilse plasma vireemia ja CD4+ rakkude arvu (20-22).

HIV kvantitatiivne mõõtmine perifeerses verest on näidanud, et suurem viiruse kontsentratsioon võib olla korrelatsioonis HIV-ga seotud haiguste kliinilise progressiooni suurema riskiga, ning et viiruse taseme vähendamine plasmas võib olla seotud kliinilise progressiooni riski vähenemisega (23-25). Viiruse taset perifeerses veres saab kvantifitseerida seerumi HIV p24 antigeeni mõõtmise teel, HIV kvantitatiivse kultiveerimise teel plasmast või viiruse RNA otsese mõõtmise teel plasmast, kasutades nukleiinhapete amplifikatsiooni või signaali amplifikatsiooni tehnoloogiaid (26-30).

HIV-1 nakkuse tuvastamiseks kasutatakse praegu peamiselt antikehade seroloogilisi analüüse ja/või p24 antigeeni immuunanalüüsi. USA Haiguste Kontrolli ja Tõrje Keskus soovib ägeda HIV-infektsiooni diagnoosimiseks kasutada antikehade ja RNA analüüsi (31). Kuigi HIV-1 antikehade ja p24 antigeeni tuvastamise tundlikkus on paranenud, jääb tegeliku nakatumise ja võimaliku seroloogiliste markeritega tuvastamise vahele siiski aknaperiood. See aknaperiood sõltub kasutatava seroloogilise analüüsi tundlikkusest. Ühe hinnangu (32) alusel võib 4. põlvkonna p24 antigeeni/antikeha analüüsides abil olla võimalik tuvastada nakkust, kui HIV-1 RNA kontsentratsioon jõuab 14 000 koopiani/mL. Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx tuvastuspiir on oluliselt väiksem kui 14 000 koopiat/mL ja sellega saab HIV-1 nakkust tuvastada varem kui HIV immuunanalüüsides.

Nukleiinhapete amplifitseerimiseks (31) on laialdaselt kasutatud molekulaarseid tehnoloogiaid nagu transkriptsioon-vahendatud amplifikatsioon (TMA® tehnoloogia). TMA kasutab spetsiifilise sihtmärgi isoleerimist ja isotermilist amplifikatsiooni, et tuvastada nukleiinhappeid mitmest nakkusohlikust patogeenist (32).

Analüüs Aptima HIV-1 Quant Dx kasutab TMA kaudu mitut pikka praimerit, mille sihtmärgiks on HIV-1 genoomi mitu piirkonda, et kompenseerida suurt mutatsioonimäära ning sihtpiirkonna mitut võimalikku mutatsiooni.

## Protseduuri põhimõtted

Analüüs Aptima HIV-1 Quant Dx hõlmab kolme põhisammu, mis kõik toimuvad süsteemi Panther System ühes katsutis: sihtmärgi isoleerimine, sihtmärgi amplifikatsioon transkriptsioonijärgse amplifikatsiooni (TMA) abil ja amplifikatsiooni saaduste (amplikonide) tuvastamine fluorestsentsmärgistatud sondidega („tõrvikud“).

Sihtmärgi isoleerimise käigus isoleeritakse proovidest viraalsed nukleiinhapped. Proovi töödeldakse detergendiga viiruse ümbrise solubiliseerimiseks, valkude denatureerimiseks ja viiruse genoomse RNA vabastamiseks. Isoleeritud oligonukleotiidid hübridiseeruvad analüüsitasavas proovis HIV-1 genoomi kõrgelt konserveerunud piirkondadega. Seejärel isoleeritakse hübridiseerunud sihtmärk magnetiliste mikroosakeste külge, mis eraldatakse proovist magnetväljas. Pesemisetappide käigus eemaldatakse reaktsioonikatsutist liigsed komponendid.

Sihtmärgi amplifitseerimine toimub TMA abil, mis on transkriptsioon-medieeritud nukleiinhapete amplifitseerimise meetod, mis kasutab kaht ensüümi: Moloney hiire leukeemia viiruse (MMLV) pöördtranskriptaas ja T7 RNA polümeraas. Pöördtranskriptaasi kasutatakse, et genereerida sihtsekvensist DNA-koopiat (mis sisaldab T7 RNA polümeraasi promootorsekvensi). T7 RNA polümeraas moodustab DNA koopiat matriitsist mitu RNA amplikoni koopiat. Analüüs Aptima HIV-1 Quant Dx kasutab TMA-meetodit, et amplifitseerida HIV-1 RNA kaht piirkonda (pol ja LTR). Nende kindlate piirkondade amplifikatsioon saavutatakse kindlate praimerite abil, mis on mõeldud HIV-1 rühmade M, N ja O amplifitseerimiseks. Praimeri ehitus ja kahe sihtmärgiga lähenemine tagavad HIV-1 täpse tuvastamise ning kvantifitseerimise.

Tuvastamiseks kasutatakse üheaahelalisi fluorestsentsmärgistatud nukleiinhappesonde, mis osalevad sihtmärgi amplifitseerimises ja hübriidiseeruvad reaalsajas spetsiifiliselt amplikoniga. Igal „tõrvikul“ on fluorofoor ja kustuti. Kui „tõrvik“ ei ole amplikoniga hübriidiseerunud, jääb kustuti fluorofoori lähedale ja surub fluorestsentsuse maha. Kui „tõrvik“ seondub amplikoniga, liigub kustuti fluorofoorist kaugemale ja fluorofoor emiteerib pärast valgusallikaga ergastamist kindla lainepikkusega signaali. Mida rohkem „tõrvikuid“ amplikoniga hübriidiseerub, seda tugevam fluorestsentsisignaal tekib. Aeg, mis kulub fluorestsentsisignaalil kindla läve saavutamiseks, on proportsionaalne HIV-1 esialgse kontsentratsiooniga. Igal reaktsioonil on sisemine kalibraator / sisemine kontroll (IC), mis kontrollib proovimaterjali töötlemise, amplifitseerimise ja tuvastamise variatsioonide suhtes. Proovi kontsentratsiooni määrab süsteemi Panther System tarkvara iga reaktsiooni HIV-1 ja IC signaalide abil, võrreldes neid kalibreerimisteabega.

## Hoiatused ja ettevaatusabinõud

- A. *In vitro* diagnostikaks.
- B. Ainult professionaalseks kasutamiseks.
- C. Kehtetute tulemuste riski vähendamiseks lugege enne selle analüüsi tegemist hoolikalt läbi kogu pakendi infoleht ja *Süsteemi Panther®/Panther Fusion® System kasutusjuhend*.

## Laboriga seotud teave



- D. ETTEVAATUST: selle analüüsi kontrollid sisaldavad inimplasmata. Plasma on USA Toidu- ja Raviameti litsentseeritud protseduuridega testides negatiivne B-hepatiidi pinnaantigeeni (HBsAg), HCV antikehade, HIV-1 ja HIV-2 antikehade ning HIV antigeeni suhtes. Lisaks on plasma kogutud proove kasutatavate litsentseeritud nukleiinhappe testidega testimisel mittereaktiivne HCV RNA ja HIV-1 RNA suhtes. Kõiki inimverel põhinevaid materjale tuleb pidada potentsiaalselt nakkusohtlikuks ja käsitseda universaalseid ettevaatusabinõusid järgides (35-37).
- E. Seda protseduuri tohivad teha vaid analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kasutamise ja potentsiaalselt nakkusohtlike materjalide käsitlemise alal piisavalt koolitatud töötajad. Proovi mahavoolamisel desinfitseerige see viivitamatult, järgides asutuses ette nähtud protseduure.
- F. Kasutage vaid kaasasolevaid või heakskiidetud ühekordseid laboritarvikuid.
- G. Järgige tavapäraseid laborites kehtivaid ettevaatusabinõusid. Ärge pipeteerige suuga. Ärge sööge, jooge ega suitsetage ettenähtud tööpiirkondades. Kandke proovide ja komplekti reaktiivide käsitlemisel ühekordseid talgita kindaid, kaitseprille ja laborikitlit. Pärast proovide ja komplekti reaktiivide käsitlemist peske käed põhjalikult puhtaks.
- H. Tööpindu, pipette ja muid seadmeid tuleb 2,5–3,5% (0,35–0,5 M) naatriumhüpokloriidi lahusega regulaarselt dekontamineerida.
- I. Visake kõik proovide ja reaktiividega kokku puutunud materjalid kohalike ja riiklike eeskirju järgides ära (35-38). Puhastage ja desinfitseerige kõik tööpinnad põhjalikult.
- J. Kontrollid sisaldavad säilitusainena naatriumasiidi. Ärge kasutage reaktiivide ülekandmiseks metalltorusid. Naatriumasiidi ühendeid sisaldavate lahuste kõrvaldamisel torustiku kaudu tuleb need eelnevalt lahjendada ja alla lasta koos rohke voolava veega. Nende ettevaatusabinõude eesmärk on vältida ladestumist metallitorudesse, mis võib tekitada lõhkemisohu.

- K. Molekulaarlaborite head standardtavad hõlmavad keskkonna jälgimist. Laborikeskkonna jälgimiseks soovitatakse järgmist protseduuri.
1. Võtke puuvillast otsaga tampoon ja proovi alikvootimise katsuti Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT).
  2. Märgistage iga SAT sobival viisil.
  3. Täitke iga SAT 1 mL proovilahjendiga Aptima Specimen Diluent.
  4. Pinnaproovide kogumiseks niisutage tampooni kergelt nukleaasivaba deioniseeritud veega.
  5. Pühkige uuritavat pinda vertikaalse ülalt-alla liigutusega. Pinna pühkimisel pöörake tampooni ligikaudu pool pöoret.
  6. Asetage vatitikk kohe katsutisse ja keerutage vatitikki ettevaatlikult lahjendis, et võimalikud tiku külge haaratud materjalid lahti tuleksid. Suruge vatitikki transpordikatsuti seina vastu, et sellest võimalikult palju vedelikku välja pressida. Visake vatitikk ära ja sulgege katsuti korgiga.
  7. Korrake samme ülejäänud proovidega.
  8. Testige võetud proovi molekulaaranalüüsiga.

### Proovimaterjalidega seotud teave

- L. Proovimaterjalid võivad olla nakkusohtlikud. Järgige selle analüüsi tegemisel universaalseid ettevaatusabinõusid (35-37). Kohalike eeskirjade järgi tuleb kindlaks määrata sobivad käsitsemis- ja kõrvaldamismeetodid (38). Seda protseduuri tohivad teha vaid analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kasutamise ja nakkusohtlike materjalide käsitsemise alal piisavalt koolitatud töötajad.
- M. *Hinnatud on ainult plasmat, mis sisaldab EDTA ja ACD antikoagulante.*
- N. Säilitage proovimaterjalide tarnimise ajal sobivaid temperatuuritingimusi, et tagada proovimaterjalide rikkumatus. Proovimaterjali stabiilsust ettenähtutest erinevate tarnimistingimuste juures pole hinnatud.
- O. Vältige proovi käsitsemisetappide ajal ristsaastumist. Olge eriti ettevaatlik, et vältida aerosoolina levivat saastumist proovimaterjali korgi lahtikeeramisel või äravõtmisel. Mikroorganismide sisaldus proovimaterjalis võib olla väga suur. Tagage, et proovimaterjalide anumad ei puutu üksteisega kokku, ja visake kasutatud materjalid ära nii, et te neid avatud mahutite kohale ei liiguta. Kui kindad puutuvad proovimaterjaliga kokku, vahetage need välja.


### Analüüsiga seotud teave

- P. Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kvantitatiivsete tulemuste hindamisel on kasutatud EDTA ja ACD plasmat. **Kvantitatiivsete tulemuste saamiseks ei või kasutada seerumit.** Kvalitatiivsete tulemuste hindamisel on kasutatud nii plasmat kui ka seerumit.
- Q. Ärge kasutage reaktiivikomplekti, kalibraatorit ega kontrolle pärast aegumiskuupäeva.
- R. Ärge vahetage, segage ega kombineerige analüüsireaktiive, mille komplektide põhipartii numbrid on erinevad. Analüüsivedelike partiinumbrid võivad olla erinevad. Kontrollide ja kalibraatorite partiinumbrid võivad olla erinevad.
- S. Vältige reaktiivide saastumist mikroobide ja nukleaasiga.

- T. Katke kõik analüüsireaktiivid korgiga ja hoidke neid kindlaksmääratud temperatuuril. Analüüsireaktiivi väärade hoiutingimuste korral võib analüüsi tulemuslikkus väheneda. Lisateavet vt jaotistest *Nõuded reaktiivide säilitamisele ja käsitlemisele ja Süsteemiga Panther System analüüsimise protseduur*.
- U. Ärge kombineerige omavahel analüüsireaktiive ega vedelikke, kui pole juhendatud teistmoodi. Ärge reaktiive ega vedelikke mahutite ääreni täitmiseks juurde kallake. Süsteem Panther System kontrollib reaktiivide taset.
- V. Mõned selle komplekti reaktiivid on märgistatud ohuteabega.

**Märkus:** Ohust teavitamine kajastab EL ohutuskaartide (SDS) klassifikatsioone. Vaadake oma piirkonna ohutusala teavet piirkonnakohaselt SDS-ilt saidil [www.hologicsds.com](http://www.hologicsds.com) olevast jaotisest Safety Data Sheet (ohutuskaart). Lisateavet sümbolite kohta vt sümbolite legendist veebilehel [www.hologic.com/package-inserts](http://www.hologic.com/package-inserts).

<b>EL-i ohustusteave</b>	
—	<p><b>Amplification Reagent</b>  <b>Magneesiumkloriid 60–65%</b></p> <p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>
—	<p><b>Enzyme Reagent</b>  <b>HEPES 1–5%</b>  <b>Triton X-100 1–5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>
—	<p><b>Enzyme Reconstitution Solution</b>  <b>Glütserool 20–25%</b>  <b>Triton X-100 5–10%</b>  <b>HEPES 1–5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>
—	<p><b>Promoter Reagent</b>  <b>Magneesiumkloriid 60–65%</b></p> <p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>
—	<p><b>Target Capture Reagent</b>  <b>HEPES 15–20%</b>  <b>Laurüülsulfaat, liitumisool 5–10%</b>  <b>Liitiumhüdrosiid, monohüdraat 1–5%</b>  <b>Merevaikhape 1–5%</b></p> <p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>

	<b>HIV VL Kit Controls</b> <i>Inimseerum/inimplasma 95–100%</i> <i>Naatriumasiid &lt;1%</i>
	<p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>
	<b>HIV VL Kit Calibrators</b> <i>Laurüülsulfaat, liitiumisool 0–10%</i> <i>Merevaikhape 0–10%</i>
	<p>—</p> <p>H412 - Kahjulik veeorganismidele, pikaajaline toime.  P273 - Vältida sattumist keskkonda.  P501 - Sisu/mahuti kõrvaldada kinnitatud jäätmekäitlusettevõttes.</p>

## Nõuded reaktiivide säilitamisele ja käsitlemisele

- A. Järgmises tabelis on toodud reaktiivide, kontrollide ja kalibraatori säilitustingimused ning stabiilsused.

Reaktiiv	Avamata olekus säilitamine	Avatud komplekt (taastatud)	
		Säilitamine	Stabiilsus
qHIV-1 amplifikatsioonireaktiiv	2–8 °C		
qHIV-1 amplifikatsiooni taastamise lahus	2–8 °C	2–8 °C	30 päeva <sup>a</sup>
qHIV-1 ensüüm-reaktiiv	2–8 °C		
qHIV-1 ensüümi taastamise lahus	2–8 °C	2–8 °C	30 päeva <sup>a</sup>
qHIV-1 promootor-reaktiiv	2–8 °C		
qHIV-1 promootori taastamise lahus	2–8 °C	2–8 °C	30 päeva <sup>a</sup>
qHIV-1 sihtmärgi isoleerimise reaktiiv	2–8 °C	2–8 °C	30 päeva <sup>a</sup>
qHIV-1 NC CONTROL – (negatiivne kontroll)	–15 °C kuni –35 °C	15–30°C	Ühekordselt kasutatav viaal Kasutada 20 tunni jooksul
qHIV-1 LPC CONTROL + (madala taseme positiivne kontroll)	–15 °C kuni –35 °C	15–30°C	Ühekordselt kasutatav viaal Kasutada 20 tunni jooksul
qHIV-1 HPC CONTROL + (kõrge taseme positiivne kontroll)	–15 °C kuni –35 °C	15–30°C	Ühekordselt kasutatav viaal Kasutada 20 tunni jooksul
qHIV-1 PCAL (positiivne kalibraator)	–15 °C kuni –35 °C	15–30°C	Ühekordselt kasutatav viaal Kasutada 20 tunni jooksul

<sup>a</sup> Pärast reaktiivide süsteemist Panther System eemaldamist tuleb need viivitamatult sobiva säilitustemperatuuriga keskkonda tagasi viia.

- B. Visake kasutamata jäänud, aga taastatud reaktiivid ja sihtmärgi isoleerimise reaktiiv (TCR) ära 30 päeva jooksul või pärast põhipartii aegumiskuupäeva, sõltuvalt sellest, kumb enne kätte jõuab.

- C. Süsteemi Panther System jäetud reaktiivid on seadmes stabiilsed 72 tundi. Reaktiive tohib süsteemi Panther System laadida kuni 5 korda. Süsteem Panther System märgib iga reaktiivi laadimise korra logisse.
- D. Pärast kalibraatori ülessulatamist peab lahus olema läbipaistev, st mitte hägune ega sademega.
- ⚠ E. Promootor-reaktiiv ja taastatud promootor-reaktiiv on valgustundlikud. Säilitamise ja kasutamiseks ettevalmistamise ajal kaitske neid reaktiive valguse eest.

## Proovimaterjali kogumine ja säilitamine

**Märkus.** Käsitsege kõiki proove nii, nagu need sisaldaksid potentsiaalseid nakkustekitajaid. Järgige universaalseid ettevaatusabinõusid.

**Märkus.** Olge ettevaatlik ja vältige proovi käsitsemise sammude ajal ristsaastumist. Näiteks visake kasutatud materjalid ära nii, et te neid avatud katsutite kohale ei liiguta.

**Märkus.** Säilitamiseks soovitatakse kasutada vaid teiseseid plastkatsuteid.

Kasutada võib järgmisteks klaas- või plastkatsutitesse võetud täisverest proovimaterjale.

Kvantitatiivseks mõõtmiseks:

- Katsutid, mis sisaldavad antikoagulante EDTA või happeline tsitraatdekstroos (ACD).
- Plasma ettevalmistamise katsutid (PPT-d).

Kvalitatiivseks mõõtmiseks:

- Katsutid, mis sisaldavad antikoagulante EDTA või ACD või
- PPT-d või
- seerumikatsutid või
- seerumi eraldamise katsutid (SST-d).

Seerumi korral laske enne edasist töötlemise hühbida.

### A. Proovimaterjali kogumine

Täisverd tohib säilitada temperatuuril 2–30 °C ja see tuleb tsentrifuugida proovimaterjali kogumise hetkest 24 tunni jooksul. Eraldage plasma või seerum sadenenud erütrotsüütidest, järgides kasutatava katsuti tootja juhiseid. Plasmat või seerumit võib testida süsteemiga Panther System primaarses katsutis või kanda sekundaarsesse katsutisse nagu Aptima Specimen Aliquot Tube. Reaktsioonimahu 500 µL saavutamiseks on plasma või seerumi minimaalne maht esmases kogumiskatsutis 1200 µL ja teiseses katsutis 700 µL. Järgmises tabelis on toodud tühimahu nõuded iga esmase ja teisese katsuti tüübi kohta.

Katsuti (suurus ja tüüp)	Tühimahut süsteemis Panther
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT)	0,2 mL
12 × 75 mm	0,5 mL
13 × 100 mm	0,5 mL
13 × 100 mm koos geeliga	0,3 mL
16 × 100 mm koos geeliga	0,7 mL

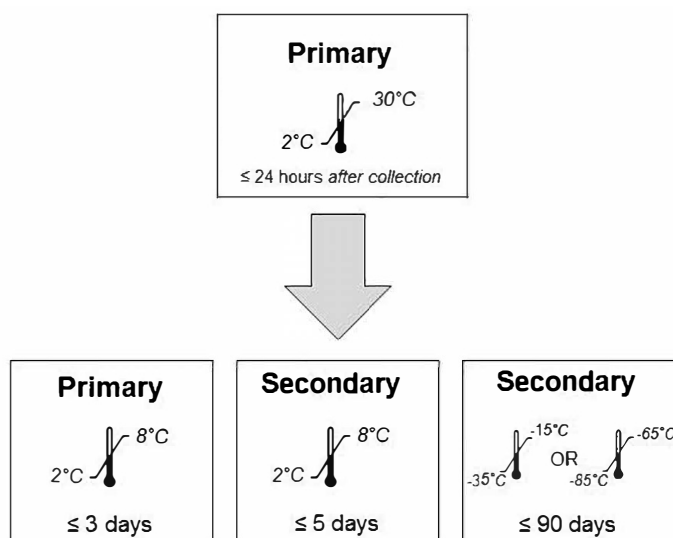
Kui neid viivitamatult ei testita, võib plasmat ja seerumit säilitada alltoodud nõudeid järgides. Teisesesse katsutisse kandmisel võib plasmat külmutada temperatuuril  $-20\text{ °C}$  kuni  $-70\text{ °C}$  ning seerumit temperatuuril  $-20\text{ °C}$ . Ärge ületage kolme külmutamise-sulamise tsüklit, et tulemust mitte mõjutada. Ärge külmutage EDTA- või ACD-katsutitesse ega seerumi esmasesse kogumiskatsutitesse kogutud proovimaterjale.

## B. Proovide säilitamise tingimused

### 1. EDTA- ja ACD-katsutites plasmaproovid

Tsentrifugeeritud plasmat sisaldavaid esmaseid katsuteid võib pärast proovimaterjali kogumist säilitada temperatuuril  $2\text{--}30\text{ °C}$  kuni 24 tundi (Joonis 1, ülemine kast). Pärast 24 tundi võib plasmat säilitada kauem, kui järgitakse ühtesid hoiutingimusi järgmistest (Joonis 1, alumised kastid):

- esmases kogumiskatsutis temperatuuril  $2\text{--}8\text{ °C}$  kuni 3 päeva;
- teiseses katsutis temperatuuril  $2\text{--}8\text{ °C}$  kuni 5 päeva või
- teiseses katsutis temperatuuril  $-20\text{ °C}$  kuni  $-70\text{ °C}$  kuni 90 päeva.

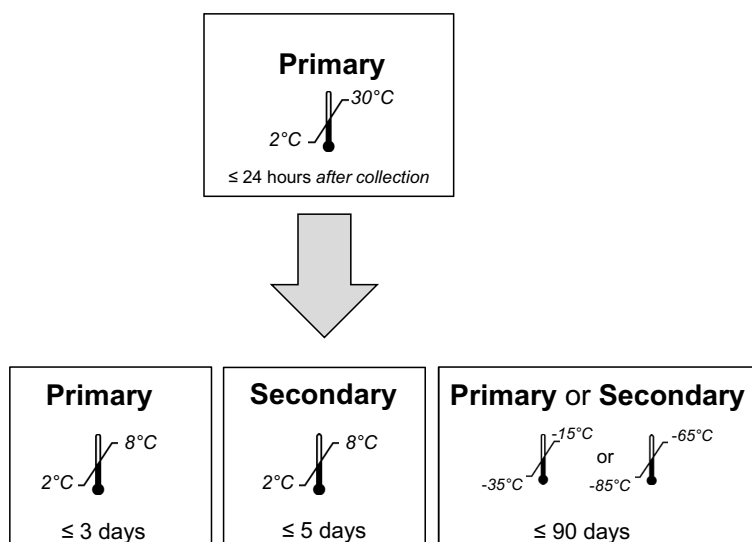


**Joonis 1. Säilitustingimused EDTA-/ACD-katsutites**

## 2. PPT-des proovimaterjalid

Tsentrifugeeritud plasmat sisaldavaid PPT-sid võib pärast proovivõttu säilitada temperatuuril 2–30 °C kuni 24 tundi (Joonis 2, ülemine kast). Pärast 24 tundi võib plasmat säilitada kauem, kui järgitakse ühtesid hoiutingimusi järgmistest (Joonis 2, alumised kastid):

- PPT-s temperatuuril 2–8 °C kuni 3 päeva;
- teiseses katsutis temperatuuril 2–8 °C kuni 5 päeva või
- PPT-s või teiseses katsutis temperatuuril –20 °C kuni –70 °C kuni 90 päeva.

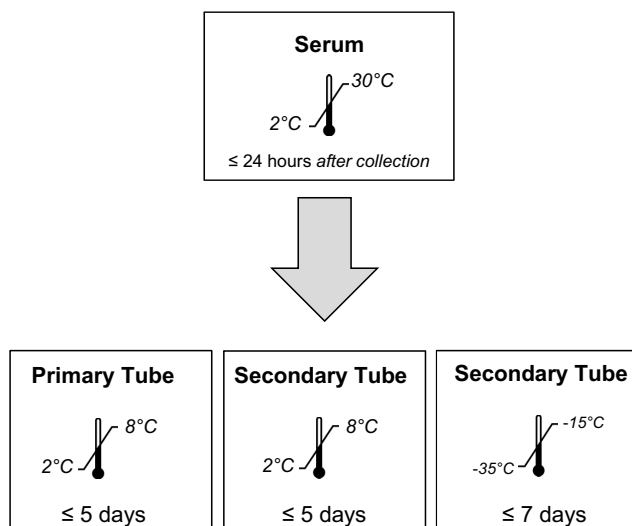


**Joonis 2. Säilitustingimused PPT-des**

### 3. Seerumikatsutites proovid

Tsentrifugeeritud seerumit sisaldavaid seerumikatsuteid võib pärast proovimaterjali kogumist säilitada temperatuuril 2–30 °C kuni 24 tundi (Joonis 3, ülemine kast). Pärast 24 tundi võib seerumit säilitada kauem, kui järgitakse ühtesid hoiutingimusi järgmistest (Joonis 3, alumised kastid):

- seerumikatsutis temperatuuril 2–8 °C kuni 5 päeva;
- teiseses katsutis temperatuuril 2–8 °C kuni 5 päeva või
- teiseses katsutis temperatuuril –20 °C kuni 7 päeva.

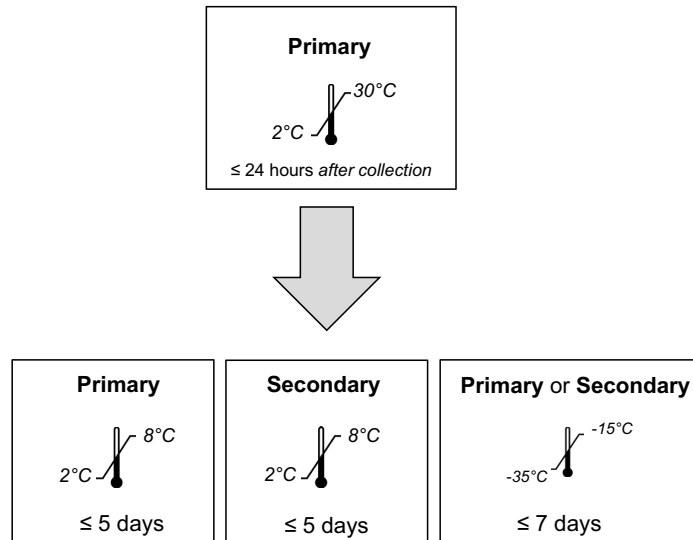


**Joonis 3. Säilitustingimused seerumikatsutites**

#### 4. SST-des proovid

Tsentrifugeeritud seerumit sisaldavaid SST-sid võib pärast proovivõttu säilitada temperatuuril 2–30 °C kuni 24 tundi (Joonis 4, ülemine kast). Pärast 24 tundi võib seerumit säilitada kauem, kui järgitakse ühtesid hoiutingimusi järgmistest (Joonis 4, alumised kastid):

- SST-s temperatuuril 2–8 °C kuni 5 päeva;
- teiseses katsutis temperatuuril 2–8 °C kuni 5 päeva või
- teiseses katsutis või SST-s temperatuuril –20 °C kuni 7 päeva.



**Joonis 4. Säilitustingimused SST-des**

#### C. Plasmaproovide lahjendamine

Plasmaproove võib süsteemiga Panther System testimiseks lahjendada SAT-s või teiseses katsutis. Lisateavet vt alloleva jaotise *Süsteemiga Panther System analüüsimise protseduur* sammust E.5.

**Märkus.** Lahjendamise korral tulab proovi testida kohe pärast lahjendamist. Ärge lahjendatud proovi külmutage.

⚠ *Plasmaproovide lahjendamist võib kasutada vaid kvantitatiivsete tulemuste saamiseks. Ärge lahjendage plasmaproove diagnostiliste tulemuste saamiseks.*

#### Süsteemi Panther System jäetud proovid

Proovid võib süsteemi Panther System ilma korgita jätta kokku kuni 8 tunniks. Proove võib süsteemist Panther System eemaldada ja testida, kui kogu süsteemis hoidmise aeg enne proovi süsteemiga Panther System pipeteerimist ei ületa 8 tundi.

#### Proovide transportimine

Järgige jaotises *Proovimaterjali kogumine ja säilitamine* kirjeldatud proovide säilitustingimusi.

**Märkus.** Proovimaterjalide tarnimisel peab järgima asjakohaseid riiklikke, rahvusvahelisi ja piirkondlikke transpordinõudeid.

## Süsteem Panther® System

Allpool on loetletud süsteemi Panther System jaoks mõeldud analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx reaktiivid. Reaktiivi nime kõrval on toodud ka reaktiivi identifitseerimise sümbolid.

### Kaasasolevad reaktiivid ja materjalid

**Analüüside Aptima HIV-1 Quant Dx komplekt**, 100 testi, kat. nr PRD-03000 (1 analüüside karp, 1 kalibraatorite komplekt ja 1 kontrollide komplekt)

Lisakalibraatoreid ja -kontrolle saab tellida eraldi. Vt altpoolt vastavaid katalooginumbreid.

#### Analüüside Aptima HIV-1 Quant Dx karp

(pärast vastuvõtmist hoidke temperatuuril 2–8 °C)

Sümbol	Komponent	Kogus
<b>A</b>	<b>qHIV-1 amplifikatsioonireaktiiv</b> <i>Puhverdatud lahuses kuivatatud mitteinfektsioossed nukleiinhapped.</i>	1 viaal
<b>E</b>	<b>qHIV-1 ensüüm-reaktiiv</b> <i>HEPES-puhverdatud lahuses kuivatatud pöördtranskriptaas ja RNA polümeraas.</i>	1 viaal
<b>PRO</b>	<b>qHIV-1 promootor-reaktiiv</b> <i>Puhverdatud lahuses kuivatatud mitteinfektsioossed nukleiinhapped.</i>	1 viaal
<b>AR</b>	<b>qHIV-1 amplifikatsiooni taastamise lahus</b> <i>Glütserooli ja säilitusaineid sisaldav vesilahus.</i>	1 x 7,2 mL
<b>ER</b>	<b>qHIV-1 ensüümi taastamise lahus</b> <i>Surfaktanti ja glütserooli sisaldav HEPES-puhverdatud lahus.</i>	1 x 5,8 mL
<b>PROR</b>	<b>qHIV-1 promootori taastamise lahus</b> <i>Glütserooli ja säilitusaineid sisaldav vesilahus.</i>	1 x 4,5 mL
<b>TCR</b>	<b>qHIV-1 sihtmärgi isoleerimise reaktiiv</b> <i>Tahket faasi sisaldavas puhverdatud soolalahuses olevad nukleiinhapped, mitteinfektsioossed nukleiinhapped ja sisemine kalibraator.</i>	1 x 72,0 mL
	<b>Taastamismuhvid</b>	3
	<b>Põhipartii võõtkoodide leht</b>	1 leht

**Kalibraatorite Aptima HIV-1 Quant Dx komplekt** (kat. nr PRD-03001)  
(pärast vastuvõtmist hoidke temperatuuril –15 °C kuni –35 °C)

Sümbol	Komponent	Kogus
PCAL	<b>qHIV-1 positiivne kalibraator</b> <i>Puhverdatud lahuses olev transkript.</i>	5 x 2,5 mL
	<b>Kalibraatori vötkoodisilt</b>	—

**Kontrollide Aptima HIV-1 Quant Dx komplekt** (kat. nr PRD-03002)  
(pärast vastuvõtmist hoidke temperatuuril –15 °C kuni –35 °C)

Sümbol	Komponent	Kogus
NC	<b>qHIV-1 negatiivne kontroll</b> <i>Säilitusainetena gentamütsiini ja 0,2% naatriumasiidi sisaldav HIV-1-negatiivne defibrineeritud inimplasma.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	<b>qHIV-1 madala taseme positiivne kontroll</b> <i>Mitteinfektsioosne HIV-1 kapseldatud RNA säilitusainetena gentamütsiini ja 0,2% naatriumasiidi sisaldavas defibrineeritud inimplasma</i>	5 x 1,5 mL
HPC	<b>qHIV-1 kõrge taseme positiivne kontroll</b> <i>Mitteinfektsioosne HIV-1 kapseldatud RNA säilitusainetena gentamütsiini ja 0,2% naatriumasiidi sisaldavas defibrineeritud inimplasma</i>	5 x 1,5 mL
	<b>Kontrolli vötkoodisilt</b>	—

## Vajalikud materjalid, mis on saadaval eraldi

*Märkus. Ettevõtte Hologic saadavate materjalide juures on toodud kataloogi numbrid, kui pole märgitud teisiti.*

Materjal	Kat. nr
Süsteem Panther® System	303095
Süsteem Panther Fusion®	PRD-04172
Panther® System, Continuous Fluid and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Kontrollide Aptima® HIV-1 Quant Dx komplekt	PRD-03002
Kalibraatorite Aptima® HIV-1 Quant Dx komplekt	PRD-03001
Analüüsikomplekt Panther Run Kit for Real Time Assays (ainult reaajas analüüside jaoks)	PRD-03455 (5000 analüüsi)
<i>Analüüsivedelike komplekt Aptima® Assay Fluids Kit (tuntud ka kui universaalsete vedelike komplekt Universal Fluids Kit)</i>	303014 (1000 analüüsi)
<i>sisaldab pesemislahust Aptima® Wash Solution, deaktiveerimisvedeliku puhvrit Aptima® Buffer for Deactivation Fluid ja õlireaktiivi Aptima® Oil Reagent</i>	
<i>Mitme katsutiga elemendid (Multi-tube Units, MTU)</i>	104772-02
<i>Jäätmekottide komplekt Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Jäätmekastikate Panther Waste Bin Cover</i>	504405
Või analüüsikomplekt Panther System Run Kit <i>(kui teete mitte-reaajas toimuvaid TMA analüüse reaajas toimuvate TMA analüüsidega paralleelselt)</i>	303096 (5000 analüüsi)
<i>sisaldab MTU-sid, jäätmekotte, jäätmekastikateid, automaattuvastamiste- ja analüüsivedelikke</i>	
Otsikud, 1000 µL, filtriga, vedelikutundlikud, elektrijuhtivusega ja ühekordselt kasutatavad	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Kõik tooted ei ole kõigis piirkondades saadaval. Piirkonnapõhise teabe saamiseks võtke ühendust selle esindajaga.</i>	MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Pleegiti, 5% kuni 8,25% (0,7 M kuni 1,16 M) naatriumhüpokloriti lahus	—
Ühekordsed puudrita kindad	—
Läbistamatud asenduskorgid	103036A
Reaktiivide asenduskorgid	
<i>Amplifikatsiooni-, ensüüm- ja promootor-reaktiivi taastamise pudel</i>	CL0041 (100 korki)
<i>TCR-i pudel</i>	CL0040 (100 korki)
Plastist tagaküljega laboris kasutamiseks mõeldud tööpinnakatted	—
Ebemevabad lapid	—
Pipeteerija	—
Otsikud	—
Esmase kogumiskatsuti (ACD, EDTA, PPT, SST, seerum) valikud:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Tsentrifuug	—
Vorteks (pöörisesgaja)	—

## Valikulised materjalid

Materjal	Kat. nr
Teisese katsuti valikud:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Proovimaterjali alikvootimise katsutid Aptima® Specimen Aliquot Tube (SAT-d) (pakis 100 tükki)	FAB-18184
Transpordikatsuti korgid (pakis 100 tükki) SAT kork	504415
Proovimaterjali lahjendi Aptima® Specimen Diluent	PRD-03003
Proovimaterjali lahjendite Aptima® Specimen Diluent komplekt sisaldab proovimaterjali lahjendit, 100 SAT-d ja 100 korki	PRD-03478
Ülekandepipetid	—
Kaubanduslikult kättesaadavad paneelid, näiteks: HIV-1 komplektist Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) või Ameerika Patoloogide Kolledži College of American Pathologists (CAP) HIV viiruskoormuse jälgimispaneel või paneelid SeraCare ACCURUN HIV Panels	—
Puuvillast otsaga vatitikud	
Plastist tagaküljega tööpinnakatted	—
Katsutiloksutaja	—

## Süsteemiga Panther System analüüsimise protseduur

**Märkus.** Lisateavet protseduuri kohta lugege süsteemi Panther/Panther Fusion System kasutusjuhendist.

## A. Tööpiirkonna ettevalmistamine

- Puhastage tööpinnad, kus reaktiive ette valmistama hakatakse. Pühkige pinnad puhtaks 2,5–3,5% (0,35–0,5 M) naatriumhüpokloriti lahusega. Laske naatriumhüpokloriti lahusel pindadega vähemalt 1 minuti kokku puutuda ning seejärel loputage deioniseeritud (DI) veega. Ärge laske naatriumhüpokloriti lahusel kuivada. Katke tööpind, millel reaktiive ja proove ette valmistama hakatakse, puhaste plastist tagaküljega imavate laboris kasutamiseks mõeldud tööpinnakatetega.
- Puhastage eraldi tööpind, kus proove ette valmistama hakatakse. Kasutage ülalkirjeldatud protseduuri (samm A.1).
- Puhastage pipeteerijad. Kasutage ülalkirjeldatud protseduuri (samm A.1).

## B. Kalibraatori ja kontrollide ettevalmistamine

Enne töötlemist laske kalibraatoril ja kontrollidel temperatuurini 15–30 °C jõuda, tehes järgmist.

- Eemaldage kalibraator ja kontrollid säilituskeskkonnast (–15 °C kuni –35 °C) ja asetage temperatuurile 15–30 °C. Pöörake kogu sulamise ajal iga katsutit aeglaselt üles-alla, et need põhjalikult seguneksid. Enne kasutamist veenduge, et katsutite sisu oleks täielikult sulanud.

**Valikuline tegevus.** Kalibraatori ja kontrollide katsutid võib põhjalikuks segamiseks katsutiloksutajale asetada. Enne kasutamist veenduge, et katsutite sisu oleks täielikult sulanud.

**Märkus.** Vältige kalibraatori ja kontrollide üles-alla pööramise ajal liigse vahu teket. Vaht takistab süsteemil Panther System taseme tajumist.

2. Pärast katsuti sisu sulamist kuivatage katsuti välispind puhta kuiva ühekordselt kasutatava lapiga.
3. Saastumise vältimiseks ärge praegu katsuteid avage.

#### C. Reaktiivi taastamine / uue komplekti ettevalmistamine

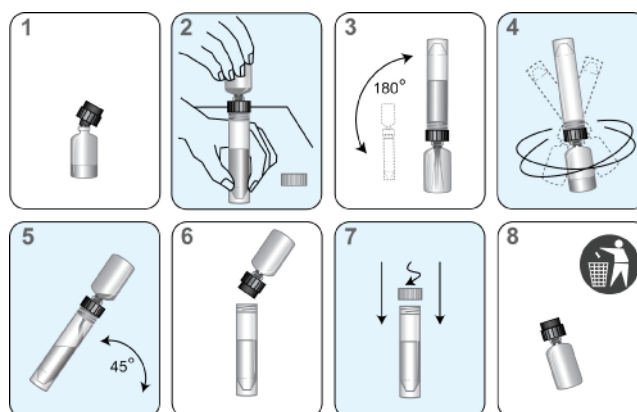
**Märkus.** Enne süsteemiga Panther System mis tahes töö alustamist tuleb reaktiivid taastada.

1. Sihtmärgi isoleerimise reaktiivi (TCR) ettevalmistamiseks tehke järgmist.
  - a. Eemaldage TCR säilituskeskkonnast (2–8 °C). Kontrollige TCR-i pudelil olevat partii numbrit, veendumaks, et see vastab partii numbri dokumendis Master Lot Barcode Sheet (Põhipartii vötkoodi leht).
  - b. Raputage TCR-i pudelit viivimatult ja tugevalt 10 korda. Jätke TCR-i pudel vähemalt 45 minutiks 15–30 °C juurde soojenema. Selle perioodi ajal keerutage TCR-i pudelit ja pöörake seda üles-alla vähemalt korra iga 10 minuti järel.

**Valikuline tegevus.** TCR-i pudeli võib ette valmistada katsutiloksutajal, toimides järgmiselt: eemaldage TCR säilituskeskkonnast (2–8 °C) ja raputage seda viivimatult ning tugevalt 10 korda. Asetage TCR-i pudel katsutiloksutajale ja jätke see vähemalt 45 minutiks 15–30 °C juurde soojenema.
  - c. Enne kasutamist veenduge, et kogu sade oleks lahustunud ja magnetilised osakesed suspendeerunud.
2. Amplifikatsiooni-, ensüüm- ja promootor-reaktiivide taastamiseks tehke järgmist.
  - a. Eemaldage lüofiliseeritud reaktiivid ja vastavad taastamislahused säilituskeskkonnast (2–8 °C). Viige iga taastamise lahus kokku vastava lüofiliseeritud reaktiiviga.
  - b. Veenduge, et taastamislahuse ja lüofiliseeritud reaktiivi sildid oleksid ühte värvi. Kontrollige partiinumbreid põhipartii vötkoodide lehelt, et tagada õigete reaktiivide kokkuviiimine.
    - i. Avage lüofiliseeritud reaktiivi viaal, eemaldades metallist tihendi ja kummikorgi.
    - ii. Sisestage taastamismuhvi sälguga ots (must) kindlalt viaali (Joonis 5, 1. samm).
    - iii. Avage vastav taastamislahuse pudel ja asetage kork puhtale kaetud tööpinnale.
    - iv. Asetage taastamislahuse pudel stabiilsele pinnale (st pingile). Seejärel pöörake lüofiliseeritud reaktiivi viaal taastamislahuse pudeli kohal ümber ja kinnitage muhv kindlalt taastamislahuse pudeli külge (Joonis 5, 2. samm).
    - v. Pöörake kokkupandud pudelid (viaal lahusepudeli küljes) aeglaselt ümber ja laske lahusel klaasviaali voolata (Joonis 5, 3. samm).
    - vi. Võtke kokkupandud pudelid kätte ja keerutage neid vähemalt 10 sekundit (Joonis 5, 4. samm).
    - vii. Oodake vähemalt 30 minutit, et lüofiliseeritud reaktiiv lahusesse jõuaks.
    - viii. Pärast lüofiliseeritud reaktiivi lahusesse jõudmist keerutage kokkupandud pudeleid vähemalt 10 sekundit ja seejärel loksutage lahust klaasviaalis edasi-tagasi, et see põhjalikult seguneks.
  - c. Kallutage kokkupandud pudeleid aeglaselt uuesti, et kogu lahus tagasi taastamislahuse pudelisse voolaks (Joonis 5, 5. samm).
  - d. Eemaldage ettevaatlikult taastamismuhv ja klaasviaal (Joonis 5, 6. samm).

- e. Katke pudel uuesti korgiga. Märkige sildile kasutaja nimetähed ja taastamise kuupäev (Joonis 5, 7. samm).
- f. Visake taastamismuhv ja klaasviaal ära (joonis 5, 8. samm).

**Hoiatus:** Vältige reaktiivide taastamise ajal liigse vahu teket. Vaht takistab süsteemil Panther System taseme tajumist.



**Joonis 5. Reaktiivide taastamise protseduur**

#### D. Varasemalt ette valmistatud reaktiivide ettevalmistamine

1. Eemaldage varasemalt ette valmistatud reaktiivid säilituskeskkonnast (2–8 °C).
2. Varasemalt ette valmistatud amplifikatsiooni-, ensüüm- ja promootor-reaktiivid ning TCR peavad enne analüüsi algust olema jõudnud temperatuurile 15–30 °C.
3. Enne varasemalt ette valmistatud TCR-i süsteemi laadimist tehke ülaltoodud samm C.1.
4. Enne süsteemi laadimist keerutage ja pöörake amplifikatsiooni-, ensüüm- ning promootor-reaktiive üles-alla, et need põhjalikult seguneksid. Vältige reaktiivide ümberpööramise ajal liigse vahu teket.
5. Ärge reaktiivipudelite ääreni täitmiseks nendesse reaktiivi juurde kallake. Süsteem Panther System tunneb ära ja lükkab tagasi pudelid, millesse on reaktiivi juurde kallatud.

#### E. Proovimaterjali käsitlemine

1. Veenduge, et töödeldud proovimaterjale primaarsetes katsutites või lahjendamata proovimaterjale sekundaarsetes katsutites oleks jaotise „Proovimaterjali kogumine ja säilitamine“, lk 8. järgi õigesti säilitatud.
2. Veenduge, et külmutatud proovimaterjalid oleksid täielikult sulanud. Segage sulanud proove 3–5 sekundit vorteksiga, et need põhjalikult seguneksid.
3. Enne töötlemist laske proovimaterjalidel temperatuurini 15–30 °C jõuda. Lisateavet süsteemis hoidmise kohta vt jaotisest *Süsteemi Panther System jäetud proovid*.
4. Veenduge, et iga primaarne kogumiskatsuti sisaldaks kuni 1200 µL proovi ja iga SAT vähemalt 700 µL proovi. Tühimahu nõudeid iga primaarse ja sekundaarse katsuti tüübi kohta vt tabelist jaotisest *Proovimaterjali kogumine*, lk8. Kui proovimaterjali peab lahjendama, vt lisateavet allolevast sammust E.5.
5. Lahjendage plasmaproovi suhtega 1 : 3 SAT-s või suhtega 1 : 100 sekundaarses katsutis.

Plasmaproovi võib süsteemiga Panther System testimiseks lahjendada sekundaarses katsutis.

- ⚠ Plasmaproovide lahjendamist võib kasutada vaid kvantitatiivsete tulemuste saamiseks. Ärge lahjendage plasmaproove diagnostiliste tulemuste saamiseks.

**Märkus.** Lahjendamise korral peab proovi testima kohe pärast lahjendamist.

a. Vähesese mahuga proovide lahjendamine

Plasmaproovide mahtu võib suurendada minimaalse nõutava mahuni (700 µL) proovimaterjali lahjendiga Aptima Specimen Diluent. Vähemalt 240 µL mahuga plasmaproove võib lahjendada kahe osa proovimaterjali lahjendiga (suhtega 1 : 3) järgmiselt.

- i. Asetage 240 µL proovimaterjali SAT-sse.
- ii. Lisage 480 µL lahjendit Aptima Specimen Diluent.
- iii. Katke katsuti korgiga.
- iv. Segamiseks pöörake 5 korda aeglaselt üles-alla.

Suhtega 1 : 3 lahjendatud proovimaterjale võib testida süsteemi Panther System suvandiga 1 : 3 (lisateavet vt *Süsteemi Panther/Panther Fusion System kasutusjuhendist*). Tarkvara rakendab lahjendusteguri ja arvutab lahjendamata tulemuse automaatselt. Need proovimaterjalid märgitakse lahjendatud proovimaterjalideks.

b. Suure tiitriga proovimaterjalide lahjendamine

Kui proovimaterjali tulemus on kvantifitseerimise ülempiirist suurem, võib seda lahjendada 99 osa proovimaterjali lahjendiga Aptima Specimen Diluent (suhtega 1 : 100) järgmiselt.

- i. Asetage 30 µL proovimaterjali SAT-sse või sekundaarsesse katsutisse.
- ii. Lisage 2970 µL lahjendit Aptima Specimen Diluent.
- iii. Katke katsuti korgiga.
- iv. Segamiseks pöörake 5 korda aeglaselt üles-alla.

Suhtega 1 : 100 lahjendatud proovimaterjale võib testida süsteemi Panther System suvandiga 1 : 100 (lisateavet vt *Süsteemi Panther/Panther Fusion System kasutusjuhendist*). Tarkvara rakendab lahjendusteguri ja arvutab lahjendamata tulemuse automaatselt. Need proovimaterjalid märgitakse lahjendatud proovimaterjalideks.

**Märkus.** Lahjendatud proovimaterjalide, mille lahjendamata kontsentratsioon on suurem kui ULoQ, tulemused esitatakse teaduskujul.

6. Vahetult enne proovimaterjalide proovialusele laadimist tsentrifuugige iga proovi 1000–3000 g juures 10 minutit. Ärge eemaldage korke. Mullid katsutis võivad takistada süsteemil Panther System taseme tajumist.

Teavet aluse laadimise ja korkide eemaldamise kohta vt alloleva jaotise *Süsteemi ettevalmistamine* sammust F.2.

F. Süsteemi ettevalmistamine

1. Seadke süsteem valmis *Süsteemi Panther/Panther Fusion System kasutusjuhendi* ja jaotise *Märkused protseduuri kohta* järgi. Veenduge, et kasutatakse õige suurusega reaktiivialuseid ja TCR-i adaptoreid.

2. Laadige proovid proovialusele. Tehke iga proovikatsutiga (proovid ja vajaduse korral kalibraator ning kontrollid) järgmised sammud.
  - a. Keerake ühe proovikatsuti kork lahti, aga ärge seda veel eemaldage.

**Märkus.** Olge eriti ettevaatlik, et vältida aerosoolina levivat saastumist. Keerake proovide korgid kergelt lahti.
  - b. Laadige proovikatsuti proovialusele.
  - c. Korrake samme 2.a ja 2.b kõigi ülejäänud proovidega.
  - d. Pärast proovide proovialusele laadimist eemaldage ja visake ära ühe proovialuse kõigi proovikatsutite korgid. Saastumise vältimiseks ärge viige korki üle teiste proovialuste ega proovikatsutite.
  - e. Vajaduse korral kasutage mullide või vahu eemaldamiseks uut ühekordset ülekandepipetti.
  - f. Pärast viimase korgi eemaldamist laadige proovialus proovide sektsiooni.

**Märkus.** Samal ajal teiste analüüside ja proovitüüpide analüüsimisel fikseerige enne proovialuse proovisektsiooni laadimist proovihoidik.
  - g. Korrake samme 2.a ja 2.f järgmise proovialusega.

## Märkused protseduuri kohta

### A. Kalibraator ja kontrollid

1. qHIV-1 positiivse kalibraatori, qHIV-1 madala taseme positiivse kontrolli, qHIV-1 kõrge taseme positiivse kontrolli ja qHIV-1 negatiivse kontrolli katsutid võib laadida proovialuse mis tahes asendisse ja süsteemi Panther System proovisektsiooni mis tahes rajale. Proovi pipeteerimine algab, kui täidetud on üks järgmisest kahest tingimusest.
  - a. Süsteem töötleb parasjagu kalibraatorit ja kontrolle.
  - b. Süsteemis on registreeritud kehtivad kalibraatori ja kontrollide tulemused.
2. Pärast kalibraatorite ja kontrollide katsutite pipeteerimist ning analüüsireaktiivide Aptima HIV-1 Quant Dx komplekti töötlemise ajal võib proove testida vastava taastatud komplektiga kuni 24 tunni jooksul, **välja arvatud järgmistel juhtudel.**
  - a. Kui kalibraatori või kontrollide tulemused on kehtetud.
  - b. Kui vastav analüüsireaktiivide komplekt eemaldatakse süsteemist.
  - c. Kui vastav analüüsireaktiivide komplekt on ületanud stabiilsuse piirmäärad.
3. Kalibraatorit ja iga kontrollkatsutit tohib kasutada ühe korra. Kui katsutit üritatakse kasutada rohkem kui korra, võivad tekkida töötlemisvead.

### B. Kinnaste puuder

Sarnaselt kõigile reaktiivisüsteemidele võib teatud kinnaste korral põhjustada liigne puuder avatud katsutite saastumist. Soovitatakse kasutada puudrita kindaid.

## Kvaliteedikontroll

Kasutaja võib analüüsi või proovimaterjali tulemuse kehtetuks tunnistada, kui analüüsi tegemisel täheldatakse ja dokumenteeritakse tehniline, kasutajaga seotud või instrumendiga seotud rike. Sel juhul peab proovimaterjale uuesti testima.

### Analüüsi kalibreerimine

Kehtivate tulemuste genereerimiseks tuleb analüüs kalibreerida. Iga kord, kui reaktiivikomplekt süsteemi Panther System laaditakse, analüüsitakse ühe positiivse kalibraatori kolme paralleeli. Pärast kinnitamist kehtib kalibratsioon kuni 24 tundi. Süsteemi Panther System tarkvara hoiatab kasutajat, kui vajalik on kalibreerimine. Kasutaja skannib iga reaktiivikomplektiga kaasas olevas dokumendis Master Lot Barcode Sheet (Põhipartii vöötkoodi leht) toodud kalibratsioonikoefitsiendi.

Töötlemise ajal verifitseerib süsteemi Panther System tarkvara kalibraatori vastuvõtukriteeriumid automaatselt. Kui kehtivad on vähem kui kaks kalibraatori paralleeli, tunnistab tarkvara analüüsiseeria automaatselt kehtetuks. Kehtetuks tunnistatud analüüsiseeria proove peab värskelt valmistatud kalibraatorit ja värskelt valmistatud kontrolle kasutades uuesti testima.

### Negatiivsed ja positiivsed kontrollid

Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab testima analüüsikontrollide komplekti. Iga kord, kui reaktiivikomplekt süsteemi Panther System laaditakse, tuleb testida üht negatiivset kontrolli, madala taseme positiivset kontrolli ja kõrge taseme positiivset kontrolli. Pärast kinnitamist kehtivad kontrollid kuni 24 tundi. Süsteemi Panther System tarkvara hoiatab kasutajat, kui vajalikud on kontrollid.

Töötlemise ajal verifitseerib süsteemi Panther System tarkvara kontrollide vastuvõtukriteeriumid automaatselt. Kehtivate tulemuste genereerimiseks peab negatiivse kontrolli tulemus olema „Not Detected“ (Ei tuvastatud) ja positiivsete kontrollide tulemused peavad jääma eelmääratud parameetrite piiresse. Kui mis tahes kontrolli tulemus on kehtetu, tunnistab tarkvara analüüsiseeria automaatselt kehtetuks. Kehtetuks tunnistatud analüüsiseeria proove peab värskelt valmistatud kalibraatorit ja värskelt valmistatud kontrolle kasutades uuesti testima.

### Sisemine kalibraator / sisemine kontroll

Iga proov sisaldab sisemist kalibraatorit / sisemist kontrolli (IC). Töötlemise ajal verifitseerib süsteemi Panther System tarkvara IC vastuvõtukriteeriumid automaatselt. Kui IC tulemus on kehtetu, tunnistatakse proovi tulemus kehtetuks. Iga kehtetu IC tulemusega proovi tuleb kehtiva tulemuse saamiseks uuesti testida.

Süsteemi Panther System tarkvara on välja töötatud protsesside täpseks kontrollimiseks, kui protseduure teostatakse sellel pakendi infolehel ja *süsteemi Panther/Panther Fusion System kasutusjuhendis* toodud juhiste järgi.

## Tulemuste tõlgendamine

**Märkus.** Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kvantitatiivsete tulemuste hindamisel on kasutatud plasmat. Kvantitatiivsete tulemuste saamiseks ei või kasutada seerumit. Kvalitatiivsete tulemuste hindamisel on kasutatud nii plasmat kui ka seerumit.

Süsteem Panther System määrab proovimaterjalide ja kontrollide HIV-1 RNA kontsentratsiooni automaatselt, võrreldes tulemusi kalibreerimiskõveraga. HIV-1 RNA kontsentratsioonid esitatakse ühikutes koopiat/mL ja  $\log_{10}$  koopiat/mL. Tulemuste tõlgendamist kirjeldab Tabel 1. Kui lahjendatud proovimaterjalide korral kasutatakse lahjendust 1 : 3 või 1 : 100, arvutab süsteem Panther System automaatselt lahjendamata proovi HIV-1 kontsentratsiooni, korrutades lahjendatud kontsentratsiooni lahjendusteguriga, ning lahjendatud proovid märgitakse lahjendatuks.

**Märkus.** Lahjendatud proovide korral võidakse genereerida tulemused „Not Detected“ (Ei tuvastatud) või „<30 detected“ (Tuvastati < 30), kui proov lahjendatakse kontsentratsioonini, mis on LoD-st (tuvastuspiir) või LLoQ-st (kvantifitseerimise alampiir) suurem, kuid selle lähedal. Kui kvantitatiivset tulemust ei saada, on soovitatav koguda ja testida uut lahjendamata proovi.

Süsteem Panther System ei anna diagnostiliseks kasutamiseks mõeldud kvalitatiivset tulemust (st „Reactive“ (Reaktiivne) või „Non-reactive“ (Mittereaktiivne)). Kasutaja peab teisendama raporteeritud HIV-1 RNA kontsentratsiooni kvalitatiivseks tulemuseks (Tabel 1). Proovid tulemusega „Not Detected“ (Ei tuvastatud) on HIV-1 RNA suhtes mittereaktiivsed. Proovi tulemus „<30 detected“ (Tuvastati < 30) või lineaarvahemikku jääv tulemus tähistab HIV-1 RNA tuvastamist ja vastavad proovid on HIV-1 RNA suhtes reaktiivsed.

Tabel 1: Tulemuste tõlgendamine.

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx raporteeritud tulemus		HIV-1 RNA kontsentratsiooni tõlgendus	Kasutaja diagnostiline kvalitatiivne tõlgendus <sup>c</sup>
Koopiat/mL <sup>a</sup>	Log <sub>10</sub> väärtus <sup>b</sup>		
Not Detected (Ei tuvastatud)	Not Detected (Ei tuvastatud)	HIV-1 RNA-d ei tuvastatud.	Proov on HIV-1 RNA suhtes mittereaktiivne.
<30 detected <sup>e</sup> (Tuvastati < 30)	< 1,47	HIV-1 RNA tuvastati, aga tasemel, mis jääb alla LLoQ.	Proov on HIV-1 RNA suhtes reaktiivne.
30–10 000 000	1,47–7,00	HIV-1 RNA kontsentratsioon jääb lineaarvahemikku 30 kuni 10 000 000 koopiat/mL.	Proov on HIV-1 RNA suhtes reaktiivne.
> 10 000 000	> 7,00	HIV-1 RNA kontsentratsioon on suurem kui kvantifitseerimise ülempiir (ULoQ).	Proov on HIV-1 RNA suhtes reaktiivne.
Invalid (Kehtetu) <sup>d</sup>	Invalid (Kehtetu) <sup>d</sup>	Tulemuse genereerimisel tekkis tõrge. Proovi tuleb uuesti analüüsida.	Kehtetu

<sup>a</sup> HIV-1 RNA 3. rahvusvahelise standardi (10/152) järgi rahvusvahelisteks ühikuteks (RÜ) teisendamise tegur on 0,35 koopiat/RÜ.

<sup>b</sup> Väärtus on ümardatud kahe komakohani.

<sup>c</sup> Diagnostilise tõlgenduse võib teha lahjendamata seerumi- või plasmaproovide alusel.

<sup>d</sup> Kehtetud tulemused kuvatakse sinisena.

<sup>e</sup> Vähim tarkvara raporteeritav väärtus on 30 koopiat/mL. Analüüsi suurim LoD on 17,5 koopiat/mL alltüübi G korral. Kõigi alltüüpide LoD-väärtusi vt tabelist 3. MTO 3. rahvusvahelise standardi järgi on HIV-1 RNA LoD (alltüüp B) 12,1 koopiat/mL (vt tabelit 2).

Kõigi Aptima HIV-1 Quant Dx analüüsikontrollide aktsepteeritavuse kriteeriumid on esitatud tabelis 2.

**Märkus:** All esitatud taastamisvahemik nihkub iga spetsiifilise partii määratud väärtuse alusel. Vaadake määratud kontsentratsiooni iga kontrollaine karbiga kaasasolevalt kontrollaine vöötkoodilehelt.

Tabel 2: Aptima HIV-1 Quant Dx analüüsikontrollide aktsepteeritavuse kriteeriumid

Komponent	Kehtivate käitamiste taastamisvahemik
Negatiivne kontroll	N/A
Madalpositiivne kontroll	+/- 0.5 log <sub>10</sub> koopiat/ml
Kõrgpositiivne kontroll	+/- 0.5 log <sub>10</sub> koopiat/ml

## Piirangud

- A. Selle analüüsi kasutamine on lubatud vaid protseduuri alal koolitatud töötajatele. Pakendi infolehel toodud juhiste järgimata jätmine võib viia ebaõigete tulemusteni.
- B. Tulemuste usaldusväärsus sõltub proovimaterjali õigest kogumisest, transportimisest, säilitamisest ja töötlemisest.
- C. See analüüs on valideeritud kasutamiseks kvantitatiivse analüüsina vaid EDTA ja ACD inimplasma korral.
- D. See analüüs on valideeritud kasutamiseks kvalitatiivse analüüsina EDTA ja ACD inimplasma ja -seerumi korral.
- E. Kuigi need on harvad, võivad mutatsioonid viraalse genoomi kõrgelt konserveerunud piirkondades, mida analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx praimerid ja/või sondid katavad, põhjustada viiruse alakvantifitseerimist või tuvastamise ebaõnnestumist.

## Tulemuslikkus

### Tuvastuspiir (LoD) MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi

Tuvastuspiir (LoD) on määratletud kui HIV-1 RNA kontsentratsioon, mis tuvastatakse standardi CLSI EP17-A2 järgi 95% või suurema tõenäosusega (39). LoD määrati kindlaks, testides paneele, mis koosnesid MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi (alltüüp B, NIBSC-kood: 10/152) järgi tehtud lahjendustest HIV-1-negatiivses plasmas. Iga lahjenduse kolmekümmet paralleeli analüüsiti kolme reaktiivipartiid kasutades kolme süsteemiga Panther System – kokku 90 paralleeli iga lahjenduse kohta. CLSI EP17-A2 järgi määratleti LoD-ks prognoositud tuvastuspiiri juures suurima kontsentratsiooniga reaktiivipartii tulemused, mida kujutab Tabel 3. Probit-analüüsi järgi on analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx LoD 12 koopiat/mL (35 RÜ/mL; 0,35 koopiat = 1 RÜ).

Tabel 3: Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx tuvastuspiir MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi

Prognoositud tuvastuspiir	Kontsentratsioon (koopiat/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

### Tuvastuspiir HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral

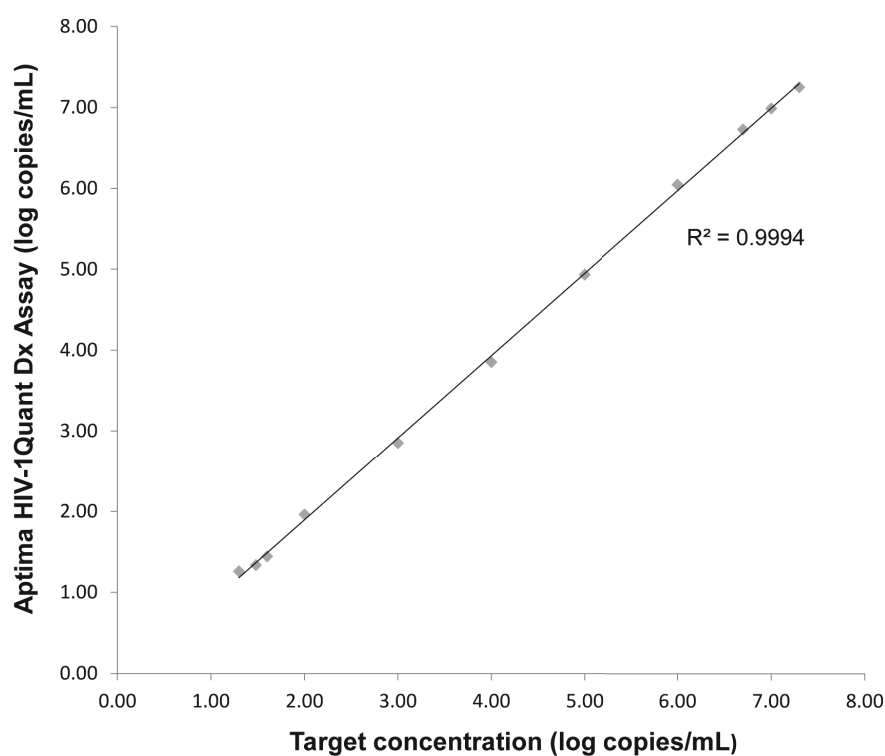
HIV-1 rühma M (alltüübid A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) ja rühmade N ning O jaoks loodi seitse paneeli, rikastades HIV-1-negatiivset inimplasmat (0–40 koopiat/mL) kas kultiveeritud HIV-1 viiruse või positiivsete kliiniliste proovimaterjalidega. Testiti 30 paralleeli igast paneeliliikmest kahe reaktiivipartii korral ehk kokku 60 paralleeli iga paneeliliikme kohta. Kliiniliste proovide või kultiveeritud viirusevarude kontsentratsioonid määrati võrdlusanalüüsi abil. 50% ja 95% prognoositud tuvastuspiirid genereeriti probit-analüüsiga. CLSI EP17-A2 (39) järgi määratleti LoD-ks prognoositud tuvastuspiiri juures suurima kontsentratsiooniga reaktiivipartii tulemused, mida kujutab Tabel 4.

Tabel 4: Tuvastuspiir HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral

Alltüüp/rühm	Prognoositud tuvastuspiir	Kontsentratsioon (koopiat/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

## Lineaarvahemik

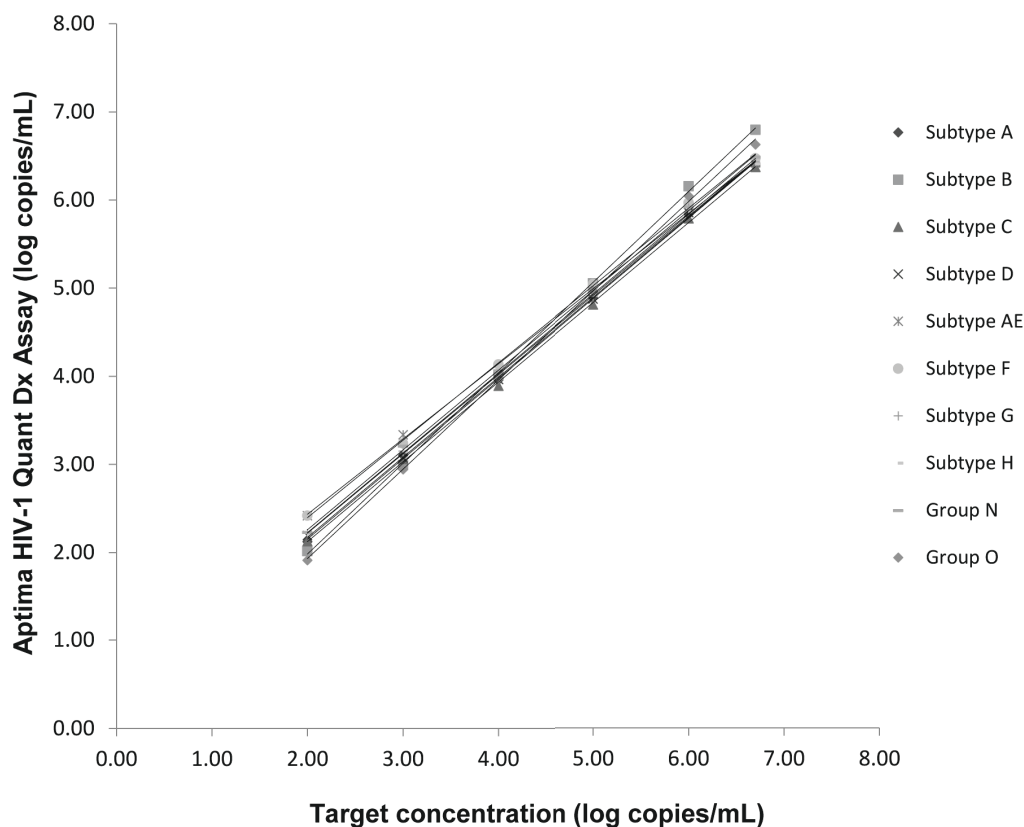
Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx lineaarvahemik määrati kindlaks, testides CLSI EP06-A järgi HIV-1-negatiivses inimplasmas lahjendatud HIV-1 B-alltüübi kultiveeritud viirusest koosnevaid paneele (40). Paneelide kontsentratsioonid olid 1,30–7,30 log koopiat/mL. Testimiseks kasutati seitset süsteemi Panther System ja kaht analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx reaktiivipartiid. Nagu näitab Joonis 6, oli analüüs Aptima Quant Dx testitud vahemikus lineaarne.



**Joonis 6. Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx lineaarsus**

### Lineaarsus HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx lineaarset vastust rühmas M (alltüübid A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) ja rühmades N ning O kontrolliti, testides paneele, mis koosnesid puhvis lahjendatud HIV-1 transkriptist kontsentratsiooniga 2,00–6,70 log koopiat/mL. Testimiseks kasutati nelja süsteemi Panther System ja kuut analüüsiseeriat. Lineaarsust näidati kogu testitud vahemikus (Joonis 7).



Joonis 7. Lineaarsus rühmas M (alltüübid A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) ja rühmades N ning O

### Alumine tuvastuspiir MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi

Alumine tuvastuspiir (LLoQ) on standardi CLSI EP17-A2 järgi määratletud kui vähim kontsentratsioon, mille juures HIV-1 RNA koguvea (TE) piires usaldusväärselt kvantifitseeritakse (39). TE arvutati Westgardi mudeliga ( $TE = |nihe| + 2SD$ ). Mõõtmiste täpsuse ja kordustäpsuse tagamiseks määrati analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx koguveaks (TE) 1 log koopiat/mL (st, et LLoQ juures on statistiliselt oluline kahe mõõtmistulemuse vaheline erinevus 1 log koopiat/mL).

LLoQ määrati kindlaks, testides paneele, mis koosnesid MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi (alltüüp B, NIBSC-kood: 10/152) järgi tehtud lahjendustest HIV-1-negatiivses plasmas. Standardi CLSI EP17-A2 järgi testiti paneele kolme reaktiivipartii (30 paralleeli igast partiist) ning 23 analüüsiseeriaga. Tulemusi kujutab Tabel 5. Analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi testitud kolme partii suurim LLoQ oli 15 koopiat/mL (1,17 log koopiat/mL; 42.9 IU/mL) (Tabel 6).

Tabel 5: Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx LLoQ määramine MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi

Reaktiivi-partii	Sihtkontsentratsioon (log koopiat/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log koopiat/mL)	SD (log koopiat/mL)	Nihe  (log koopiat/mL)	Arvutatud TE (log koopiat/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 = standardhälve

Tabel 6: MTO HIV-1 3. rahvusvahelise standardi järgi määratud LLoQ kokkuvõte (3 reaktiivipartiid)

Reaktiivipartii	LLoQ (log koopiat/mL)	LLoQ (koopiat/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

### LLoQ verifitseerimine HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral

LLoQ-d HIV-1 eri alltüüpide ja rühmade korral verifitseeriti standardi CLSI EP17-A2 järgi (39). Paneelid tehti HIV-1 rühma M (alltüübid A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) ja rühmade N ning O jaoks, rikastades HIV-1-negatiivse inimplasma kogumit kas loomulikult teel nakatunud kliiniliste proovide või kliiniliste isolaatidega. Kokku testiti 30 paralleeli igast paneeliliikmest. Tabel 7 kujutab iga alltüübi või rühma vähimat kontsentratsiooni, mille juures oli TE alla 1 log koopiat/mL. Kõigi testitud alltüüpide ja rühmade suurim LLoQ oli 30 koopiat/mL; seega valiti see suurem väärtus analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx LLoQ-ks.

Tabel 7: LLoQ verifitseerimine HIV-1 alltüüpide või rühma järgi

Paneel	LLoQ (koopiat/mL)
Alltüüp A	30
Alltüüp CRF01_AE	10
Alltüüp CRF02_AG	30
Alltüüp B	10
Alltüüp C	30
Alltüüp D	15
Alltüüp F	15
Alltüüp G	30
Rühm N	10
Rühm O	15

## Kordustäpsus

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kordustäpsuse hindamiseks testisid kolm kasutajat paneeli, mis valmistati HIV-1-negatiivset plasmat HIV-1 alltüübi B kultiveeritud viirusega rikastades; kasutati kolme reaktiivpartiit kolmes süsteemis Panther System 20 päeva jooksul (Tabel 8). Paneel koosnes ühest HIV-1-negatiivsest liikmest ja kaheksast HIV-1-positiivsest liikmest. Kliiniliste proovide või kultiveeritud viirusevarude kontsentratsioonid määrati võrdlusanalüüsi abil.

Tabel 8: Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kordustäpsus

Kehtivate koopiade arv	Keskmine kontsentratsioon (log koopiat/mL)	Instrumentidevaheline		Kasutajatevaheline		Partiidevaheline		Analüüsidevaheline		Analüüsiseeriasisene		Kokku	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 <sup>a</sup>	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = variatsioonikoefitsient (Coefficient of Variation), SD = standardhälve (Standard Deviation)

<sup>a</sup>Seda paneeliliiget lahjendati proovimaterjali lahjendiga suhtes 1 : 3 ja testiti, et hinnata lahjendatud proovi kordustäpsust.

**Märkus.** Mõnest tegurist põhjustatud varieeruvus võib olla arvuliselt negatiivne, mis võidakse kuvada, kui nende tegurite varieeruvus on väga väike. Sel juhul on SD = 0 ja CV = 0%. Testitud paralleelide koguarv oli iga paneeli korral 162; analüüsiti vaid arvvaartusega paralleele.

## Potentsiaalselt segavad ained

Hinnati analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx tundlikkust segajatele, mida põhjustavad endogeensete ainete suurenenud kontsentratsioonid ja HIV-1-nakkusega patsientidele sageli määratavad ravimid. Testiti HIV-1-negatiivseid inimplasma proove ja proove, mida oli rikastatud HIV-1 RNA-ga kontsentratsioonini 3 log koopiat/mL.

Albumiini (90 mg/mL), hemoglobiini (5 mg/mL), triglütseriidide (30 mg/mL) ega konjugeerimata bilirubiini (0,2 mg/mL) juuresolekul ei täheldatud häireid analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx tulemuslikkuses.

Eksogeensete ainete, mille loetelu esitab Tabel 9, juuresolekul ei täheldatud häireid analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx tulemuslikkuses kontsentratsioonide juures, mis olid vähemalt kolm korda suuremad kui  $C_{max}$  (inimplasma).

Tabel 9: Eksogeensed ained

Eksogeensete ainete kogum	Testitud eksogeensed ained
1	Lopinaviir, indinaviir, sakvinaaviir, ritonaviir, nelfinaviirmesülaad, darunaviir, amprenaviir, atasanaviir
2	Nevirapiin, efavirens, rilpiviiriin, klaritromütsiin, amfoteritsiin B
3	Tenofoviirdisoproksiilfumaraat, adefoviirdipivoksiil, ribaviriin, enfuvirtiid, maravirok, raltegraviir, dolutegraviir
4	Abakaviirsulfaat, didanosiin, sidovudiin, lamivudiin, stavudiin, entekaviir, telbivudiin, emtritsitabiin
5	Paroksetiin-HCl, fluoksetiin, sertraliin
6	Gantsükloviir, valatsükloviir, atsükloviir, rifampiin/rifampitsiin, etambutool
7	Tsiprofloksatsiin, asitromütsiin, amoksitsilliin, tsefaleksiin, ampitsilliin, trimetoprim
8	Valgantsükloviirvesinikkloriid, botsepreviir, telapreviir, simepriiviir, sofosbuviir
9	Pegüleeritud interferoon alfa-2b, interferoon alfa-2a, interferoon alfa-2b
10	Hepariin, EDTA, naatriumtsitraat
11	Tipranaviir
12	Isoniasiid

Analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx testiti HIV-1 RNA 3 log koopia juuresolekul ja puudumisel kliinilisi plasmaproove patsientidelt, kellel olid teatud ainete kontsentratsioonid suurenenud, või patsientidel, kellel oli üks haigustest, mille loetelu esitab Tabel 10. Häireid tulemuslikkuses ei täheldatud.

Tabel 10: Testitud kliiniliste proovimaterjalide tüübid

Kliiniliste proovimaterjalide tüübid	
1	Reumatoidfaktor (RF)
2	Tuumavastane antikeha (ANA)
3	Jo-1-vastane antikeha (JO-1)
4	Süsteemne erütematoosne luupus (SLE)
5	Reumatoidartriit (RA)
6	Hulgisklerooos (SM)
7	Hüperglobulineemia
8	Alaniini aminotransferaasi (ALT) taseme tõus
9	Alkohoolne maksatsirroos (AC)
10	Hulgimüeloom (MM)
11	Lipeemia (lipiidide taseme tõus)
12	Ikterus (bilirubiini taseme tõus)
13	Hemolüüs (hemoglobiini taseme tõus)
14	Valgu (albumiin) taseme tõus
15	HCV antikehad
16	HBV antikehad
17	HIV-2 antikehad

**Spetsiifilisus**

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx spetsiifilisus määrati kindlaks 120 värsket ja 510 külmutatud HIV-1-negatiivse plasmaproovi ning 120 värsket ja 510 külmutatud HIV-1-negatiivse seerumiproovi alusel. Kõik tulemused olid mittereaktiivsed (spetsiifilisus 100%; 95% CI: 99,4–100%).

Tabel 11: Spetsiifilisus plasma- ja seerumiproovides

	Värsket plasma	Külmutatud plasma	Koguplasma	Värsket seerum	Külmutatud seerum	Kogusee- rum
<b>Kehtivad paralleelid (n)</b>	120	510	630	120	510	630
<b>Mittereaktiivsed</b>	120	510	630	120	510	630
<b>Spetsiifilisus (95% CI)</b>	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 = usaldusvahemik (Confidence Interval)

## Analüütiline spetsiifilisus

Potentsiaalset ristreaktiivsust patogeenide suhtes (Tabel 12) hinnati analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx HIV-1-negatiivses inimplasmas 3 log koopiat/mL HIV-1 RNA juuresoleku ja puudumise korral. Patogeenide juuresolekul ei täheldatud häireid analüüsi tulemuslikkuses.

Tabel 12: Analüütilise spetsiifilisuse jaoks testitud patogeeneid

Patogeen	Kontsentratsioon
<b>A-hepatiidi viirus</b>	100 000 PFU/mL <sup>a</sup>
<b>B-hepatiidi viirus</b>	100 000 RÜ/mL <sup>b</sup>
<b>C-hepatiidi viirus</b>	100 000 RÜ/mL
<b>G-hepatiidi viirus</b>	100 000 koopiat/mL
<b>Herpes simplex'i viirus 1 (HSV-1)</b>	100 000 PFU/mL
<b>Herpes simplex'i viirus 2 (HSV-2)</b>	75 000 PFU/mL
<b>Inimese herpesviirus 6</b>	100 000 koopiat/mL
<b>Inimese herpesviirus 8</b>	42 000 PFU/mL
<b>HIV-2</b>	5 500 PFU/mL
<b>Inimese T-rakuline lümfotroopne viirus (HTLV)</b>	100 000 vp/mL <sup>c</sup>
<b>Lääne-Niiluse viirus</b>	100 000 koopiat/mL
<b>Parvoviirus B19</b>	100 000 RÜ/mL
<b>Tsütomegaloviirus</b>	100 000 koopiat/mL
<b>Epstein-Barri viirus</b>	100 000 koopiat/mL
<b>Adenoviiruse tüüp 5</b>	100 000 PFU/mL
<b>Dengue viirus</b>	100 000 koopiat/mL
<b>A-gripi viirus</b>	100 000 PFU/mL
<b>Staphylococcus aureus</b>	1 000 000 KMÜ/mL <sup>d</sup>
<b>Propionibacterium acnes</b>	1 000 000 KMÜ/mL
<b>Staphylococcus epidermidis</b>	1 000 000 KMÜ/mL
<b>Neisseria gonorrhoeae</b>	1 000 000 KMÜ/mL
<b>Chlamydia trachomatis</b>	300 000 IFU/mL <sup>e</sup>
<b>Candida albicans</b>	1 000 000 KMÜ/mL

<sup>a</sup>PFU/mL = lüüsilaiaku moodustavat ühikut (Plaque Forming Units) milliliitris.

<sup>b</sup>RÜ/mL = rahvusvahelist ühikut milliliitris.

<sup>c</sup>vp/mL = viiruspartiklit milliliitris.

<sup>d</sup>KMÜ/mL = kolooniaid moodustavat ühikut milliliitris.

<sup>e</sup>IFU/mL = inklusioone moodustavat ühikut (Inclusion Forming Units) milliliitris.

**Kliiniliste proovimaterjalide korratavus**

Analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx testiti kolme paralleeli kümnest kliinilisest plasmaproovist. Keskmist kontsentratsiooni ja standardhälvet kujutab Tabel 13.

Tabel 13: Kliiniliste proovimaterjalide korratavus

Proovimaterjal	Keskmine kontsentratsioon (log koopiat/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

### Proovi lahjendamine proovimaterjali lahjendiga

Proovi lahjenduse hindamiseks testiti lahjendamata ja lahjendatud kujul (proovilahjendis suhtes 1 : 3 või 1 : 100) kolme paralleeli paneelist, mis koosnes 11 proovist, mille kontsentratsioon jäi analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx lineaarvahemiku eri piirkondadesse, ning kahest proovist, mille kontsentratsioon oli analüüsi kvantifitseerimise ülempiirist suurem (Tabel 14).

Tabel 14: Proovi lahjendus

Lahjendus	Keskmine lahjendamata kontsentratsioon (log koopiat/mL)	Keskmine raporteeritud kontsentratsioon <sup>a</sup> (log koopiat/mL)	Erinevus
1 : 3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 <sup>b</sup>	2,19	-0,27
1 : 100	> 7,00 (7,16 <sup>c</sup> )	7,48	0,32
1 : 100	> 7,00 (7,40 <sup>c</sup> ) <sup>b</sup>	7,39	-0,01

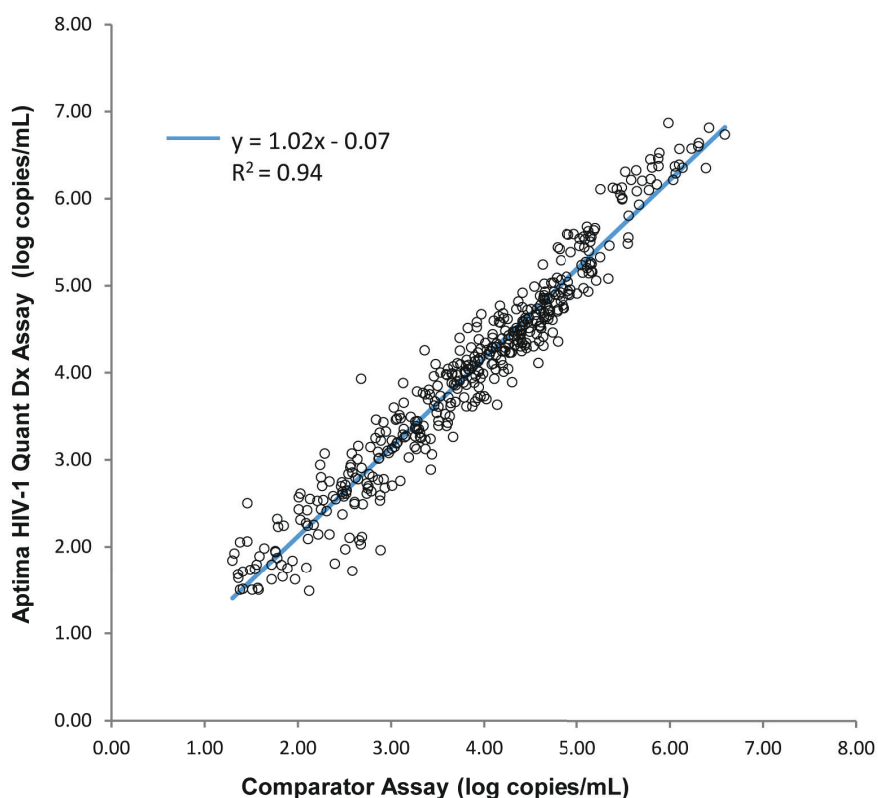
<sup>a</sup>Raporteeritud kontsentratsioon on süsteemi Panther System raporteeritud väärtus pärast lahjendusteguri rakendamist.

<sup>b</sup>Rikastatud proov

<sup>c</sup>Kõiki > 7,00 log koopiat/mL tulemusi hinnati lisaanalüüsiga.

## Meetodite korrelatsioon

Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx tulemuslikkust hinnati CE-märgistatud võrdlusanalüüsi abil, testides HIV-1-ga nakatunud patsientidelt kogutud lahjendamata kliinilisi plasmaproove nelja süsteemiga Panther System, kasutades kaht reaktiivpartiid. Lineaarregressiooniks kasutati kokku 342 külmutatud ja 108 värsket plasmaproovi, millel olid nii analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx kui ka võrdlusanalüüsiga kvantifitseeritavad tulemused (Joonis 8). Proovid hõlmasid HIV-1 rühma M (alltüübid A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE, CRF02\_AG).



**Joonis 8. Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx ja võrdlusanalüüsi vaheline korrelatsioon**

## Diagnostiline vastavus

Diagnostilise vastavuse hindamiseks testiti analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx ja CE-märgistatud HIV-1 kvalitatiivse võrdlusanalüüsiga HIV-1-positiivsetelt patsientidelt võetud proovimaterjale: 414 proovi tulemused olid kehtivad (Tabel 15). Mõlema analüüsi tulemused kategoriseeriti järgmiselt. Tulemused, mis olid kvantifitseeritavad või tuvastatavad, määrati kategooriasse „Tuvastati“. Tulemused, mille korral sihtmärki ei tuvastatud, määrati kategooriasse „Sihtmärki ei tuvastatud“.

Tabel 15: Analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx ja võrdlusanalüüsi vaheline diagnostiline vastavus

		Analüüs Aptima HIV-1 Quant Dx	
		Tuvastati	Sihtmärki ei tuvastatud
Võrdlusanalüüs	Tuvastati	214	0
	Sihtmärki ei tuvastatud	0	200

## Ülekandumine

Tegemaks kindlaks, kas süsteem Panther System minimeerib ülekandumisel saastumisest põhjustatud valepositiivsete tulemuste riski, viidi läbi mitme analüüsikorruga analüütiline uuring rikastatud paneelidega kahel süsteemil Panther System. Ülekandumist hinnati suure tiitriga HIV-1-ga rikastatud proovidega (7 log koopiat/mL), mis vaheldusid malelauamustrit järgides HIV-1-negatiivsete proovidega. Testiti viie analüüsiseeriaga. Ülekandumise kogumäär oli 0% (n = 469).

## Serokonversiooni paneel

Analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx testiti üheksatteist HIV-1 serokonversiooni paneeli komplekti, mis koosnesid 204 proovist. HIV-1 RNA tuvastamist võrreldi tuvastamisega p24 antigeeni testide ja HIV-1/2 vastase antikeha testide abil. Esimese reaktiivse tulemuseni kulunud päevade arvude loetelu p24 antigeeni testide, HIV 1/2 vastase antikeha testide ja analüüsi Aptima HIV-1 Quant Dx korral esitab Tabel 16. Analüüs Aptima HIV-1 Quant Dx tuvastas HIV-1 RNA keskmiselt 5,58 ja 11,16 päeva enne p24 antigeeni ja HIV 1/2 vastase antikeha teste.

Tabel 16: Serokonversiooni paneeli andmete kokkuvõte

Paneeli ID	Testitud paneeliliikmete arv	Reaktiivsete paneeliliikmete arv			Päevi esimese reaktiivse tulemuseni			Esimese reaktiivse tulemuseni kulunud päevade arvu erinevus (proovimaterjali kogumise kuupäeva alusel)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 anti-geen	HIV 1/2 vastane antikeha	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 anti-geen	HIV 1/2 vastane antikeha	Mitu päeva varem tuvastati, võrreldes HIV p24 antigeeni testiga	Mitu päeva varem tuvastati, võrreldes HIV 1/2 vastase antikeha testiga
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 <sup>a</sup>	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 <sup>a</sup>	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 <sup>a</sup>	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 <sup>a</sup>	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 <sup>b</sup>	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 <sup>b</sup>	5	3	1	0	7	14	14 <sup>a</sup>	7	7
PRB978 <sup>b</sup>	7	3	1	0	26	33	33 <sup>a</sup>	7	7
<b>Kokku</b>	<b>204</b>	<b>82</b>	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>Keskmine</b>			<b>5,58</b>	<b>11,16</b>
					<b>Mediaan</b>			<b>7</b>	<b>12</b>

<sup>a</sup>Kõik selle paneeli kogutud proovimaterjalid olid HIV 1/2 vastaste antikehade suhtes mittereaktiivsed. Viimast proovimaterjali kogumise päeva kasutati väärtusena „Päevi esimese reaktiivse tulemuseni“.

HIV-1/2 vastaste antikehade test tehti analüüsiga Abbott Anti-HIV 1/2, järgmiste eranditega.

<sup>b</sup>Paneele PRB974, PRB975 ja PRB978 testiti analüüsiga Siemens Anti-HIV 1/2.

HIV-1 p24 antigeeni test tehti analüüsiga Coulter HIV-1 p24 Ag, järgmiste eranditega.

<sup>b</sup>Paneele PRB974, PRB975 ja PRB978 testiti analüüsiga BioMerieux p24 Ag.

**Seerumi ja plasma ekvivalentsuse uuring**

Ekvivalentsuse hindamiseks testiti analüüsiga Aptima HIV-1 Quant Dx seerumi ja plasma sobitatud komplekte (25 HIV-1-positiivset ja 25 HIV-1-negatiivset proovi) ning 40 proovi, mida oli rikastatud kultiveeritud HIV-1-ga (50–1 000 000 koopiat/mL HIV-1-negatiivses plasmas ja seerumis). Negatiivne vastavus oli 100,0% (95% CI: 97,0–100,0%). Positiivne vastavus oli 98,4% (95% CI: 95,4–99,5%).

## Bibliograafia

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-Ferraira, 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*, 2<sup>nd</sup> 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; current version.
37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL);* current version.
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

Riigispetsiifilised tehnilise toe ja klienditeeninduse e-posti aadressid ja telefoninumbrid leiate aadressilt [www.hologic.com/support](http://www.hologic.com/support).

Hologic, Aptima, Panther ja seotud logod on ettevõtte Hologic, Inc. ja/või selle tütarettevõtete kaubamärgid ja/või registreeritud kaubamärgid Ameerika Ühendriikides ja/või teistes riikides.

Armored RNA on ettevõtte Asuragen, Inc. kaubamärk.

Kõik muud kaubamärgid, mis võivad sellel pakendi infolehel esineda, kuuluvad nende vastavatele omanikele.

Toode võib olla ühe või enama veebisaidil [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents) loetletud USA patendi kaitse all.

© 2014–2024 Hologic, Inc. Kõik õigused reserveeritud.

AW-11853-2701 Rev. 011

2024-09