

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

За дијагностику *in vitro*.

Само за извоз у САД.

Опште информације	2
Намена	2
Кратки преглед и објашњење теста	2
Принципи поступка	3
Упозорења и мере предострожности	4
Правила за складиштење и руковање реагенсима	7
Прикупљање и складиштење узорака	8
Узорци на Panther System	12
Транспорт узорака	12
Panther® System	13
Обезбеђени реагенси и материјали	13
Потребни материјали који се могу купити засебно	15
Додатни материјали	16
Поступак испитивања на систему Panther	16
Белешке о процедури	20
Контрола квалитета	22
Калибрација теста	22
Негативне и позитивне контроле	22
Интерни калибратор/интерна контрола	22
Интерпретација резултата	23
Ограничења	25
Ефикасност	26
Ограничење за детекцију (LoD) Коришћење 3. HIV-1 WHO међународног стандарда	26
Граница детекције међу подтипovima и групама HIV-1	27
Линеарни опсег	28
Линеарност HIV-1 под-типова и група	29
Доња граница квантификације коришћењем 3. међународног стандарда HIV-1 из WHO	30
Верификација LLoQ кроз HIV-1 подтипове и групе	31
Прецизност	32
Потенцијално ометајуће супстанце	33
Специфичност	35
Аналитичка специфичност	36
Могућност понављања за клиничке узорке	37
Разблаживање узорка коришћењем разблаживача узорка	38
Корелација метода	39
Дијагностички уговор	40
Пренос	40
Панел сероконверзије	41
Еквивалентна студија за серум, плазму	42
Библиографија	43

Опште информације

Намена

Aptima® HIV-1 Quant Dx assay је *in vitro* тест амплификације нуклеинске киселине и квантификације људског имунодефицијентног вируса типа 1 (HIV-1) RNK група M, N и O на потпуно аутоматизованом Panther® систему. Намењен је за употребу као помоћ у дијагностиковању HIV-1 инфекције, као потврда за HIV-1 инфекцију и као помоћ за клинички менаџмент за пацијента инфицираног са вирусом HIV-1.

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

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

Када се Aptima HIV-1 Quant Dx assay користи као помоћ у дијагностиковању HIV-1 инфекције, перформансе за квалитативне резултате одређују се за узорке са плазмом и серумом.* Када се користи као помоћ у праћењу ефекта антиретровирусне терапије, учинак за квантитативне резултате се утврђује само са узорцима плазме. Узорци серума се не могу користити за квантитативне резултате.

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

Кратки преглед и објашњење теста

Епидемиолошке студије идентификовале су људски имунодефицијентни вирус типа 1 (HIV-1) као етиолошко средство добијеног имунодефицијентног синдрома (AIDS) (1-7). HIV може да се пренесе сексуалним контактом, услед излагања инфицираном крвљу или производима од крви или преносом са мајке на дете (8). У оквиру 3 до 6 недеља након излагања утицају HIV-а, инфицирани појединци углавном развијају кратки, акутни синдром који се карактерише симптомима сличним грипу и повезује се са високим нивоима виремије у периферној крви (9-12). Код већине инфицираних појединаца, ову рану фазу прати имунолошка реакција која је специфична за HIV и смањење виремије плазме, обично у оквиру 4 до 6 недеља од почетка симптома (13-14). Након сероконверзије, заражене особе обично улазе у клинички стабилну, асимптоматску фазу која може трајати годинама (15-17). Асимптоматски период карактерише упорна виремија плазме ниског нивоа (18) и постепено смањење CD4+ Т лимфоцита. Ово смањење доводи до озбиљне имунодефицијенције, вишеструких опортунистичких инфекција, малигнитета и смрти (19). Иако су нивои вируса у периферној крви релативно ниски током асимптоматске фазе инфекције, репликација вируса и отклањање делују као динамички поступак ког кога постоје високе стопе производње вируса и инфекције CD4+ ћелија које су балансиране једнаким високим стопама уклањања вируса, изумирања инфицираних ћелија и допуна CD4+ ћелија, што доводи до релативно стабилних нивоа виремије плазме и CD4+ ћелија (20-22).

Квантитативне мере за HIV у периферној крви показале су да виши нивои вируса могу да буду у корелацији са повећаним ризиком од клиничке прогресије болести повезане са HIV и показују да смањење у нивоима вируса у плазми може да се повеже са смањеним ризиком за клиничку прогресију (23-25). Нивои вируса у периферној крви могу се квантификовати мерењем HIV p24 антигена у серуму, преко квантитативне културе HIV из плазме или директним мерењем вирусне RNK у плазми помоћу амплификације нуклеинске киселине или технологија амплификације сигнала (26-30).

Тренутна детекција HIV-1 инфекције је примарно заснована на сериолошким тестовима за антитела и/или p24 антигена помоћу имуно тестирања. Препоруке Центра за обољења САД препоручују употребу антитела и RNK теста за дијагнозу акутне HIV инфекције (31). Иако је осетљивост за HIV-1 антитела и детекцију p24 антигена побољшана, и даље постоји период између времена инфекције и времена детекције сериолошких маркера. Период зависи од осетљивости сериолошког теста који се користи. Једна процена (32) предлаже да 4. генерација p24 тестова антигена/антитела могу да детектују инфекцију када концентрација HIV-1 RNK достигне 14 000 примерака/mL. Ограничење за детекцију за Aptima HIV-1 Quant Dx assay је значајно мање од 14 000 примерака/mL и може да детектује присуство HIV-1 раније од HIV имуно тестова.

Молекуларне технологије као што је транскрипциона посредњена амплификација (ТМА® технологија) користе се у великом нивоу за амплификацију нуклеинских киселина (31). ТМА користи специфично бележење циља и изотермалну амплификацију за детекцију нуклеинских киселина у вишеструким инфективним патогенима (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx assay, преко ТМА, користи вишеструке, дуге прајмере који циљају неколико области за HIV-1 геном да би се обавила компензација за високу стопу мутације и вишеструки потенцијал за мутације у циљаном региону.

Принципи поступка

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

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


До амплификације циља долази преко ТМА, који представља транскрипционо усредњену методу амплификације нуклеинске киселине који користи два ензима, MMLV („Moloney murine” вирус леукемије) реверзну транскриптазу и T7 RNK полимеразу. Реверзна транскриптаза користи се за генерисање копије DNK (која садржи низ промотера за T7 RNK полимеразу) за циљани низ. T7 RNK полимеразу производи вишеструке копије ампликона RNK из шаблона копије DNK. Aptima HIV-1 Quant Dx assay користи ТМА методу за амплификацију две области HIV-1 RNK (пол и LTR). Амплификација ових специфичних области остварује се коришћењем специфичних прајмера који су дизајнирани за амплификацију HIV-1 група М, N и О. Дизајн прајмера и приступ за два циља осигуравају прецизну детекцију и квантитацију HIV-1.

Детекција се остварује коришћењем једноструко закачених бакљи нуклеинске киселине које су присутне током амплификације циља и које се посебно хибридују на ампликон у реалном времену. Свака бакља има флуорофор и квенчер. Када бакља није хибридувана у ампликону, квенчер је близу флуорофора и сузбија флуоресценцију. Када се бакља веже за ампликон, квенчер се помера даље од флуорофора и он ће емитовати сигнал на одређеној таласној дужини када је побуђен извором светлости. Како се више бакљи хибридује са ампликоном, генерише се виши флуоресцентни сигнал. Време потребно да флуоресцентни сигнал достигне одређени праг пропорционално је почетној концентрацији HIV-1. Свака реакција има интерни калибратор/интерну контролу (IC) који контролише варијације у обради узорка, амплификацији и детекцији. Концентрацију узорка одређује софтвер система Panther користећи HIV-1 и IC сигнале за сваку реакцију и упоређујући их са информацијама о калибрацији.

Упозорења и мере предострожности

- A. За дијагностику *in vitro*.
- B. Само за професионалну употребу.
- C. Да бисте смањили опасност од погрешних резултата, пажљиво прочитајте *Упутство за оператера за Panther®/Panther Fusion® System* пре обављања ових тестова.

Лабораторијски аспект

-  D. ОПРЕЗ: Контроле за овај тест садрже људску плазму. Плазма је негативна на површински антиген хепатитиса Б (HBsAg), антитела на HCV, антитела на HIV-1 и HIV-2 и HIV антиген када се тестира по процедурама које је лиценцирала Администрација за храну и лекове у САД. Поред тога, плазма је нереактивна за HCV RNK и HIV-1 RNK када се тестира лиценцираним тестовима нуклеинске киселине користећи обједињене узорке. Све материјале из људске крви треба сматрати потенцијално заразним и њима треба руковати уз универзалне мере предострожности (35-37).
- E. Само особље које је адекватно обучено за употребу Aptima HIV-1 Quant Dx теста и за руковање потенцијално инфективним материјалима треба да изврши ову процедуру. Ако дође до изливања, одмах дезинфикујте према одговарајућим процедурама на месту.
- F. Користите само приложени или наведени лабораторијски прибор за једнократну употребу.
- G. Придржавајте се уобичајених лабораторијских мера опреза. Немојте пипетирати устима. Немојте јести, пити или пушити у оквиру дефинисаног радног простора. Носите рукавице за једнократну употребу без заштитног праха, заштитне наочаре и лабораторијске капуте када радите са узорцима и реагенсима из комплета. Темељно оперите руке након руковања узорцима и реагенсима из комплета.
- H. Радне површине, пипете и друга опрема морају се редовно дезинфиковати 2,5—3,5% раствором натријум хипохлорита (0,35—0,5 M).

- I. Одложите све материјале који су дошли у контакт са узорцима и реагенсима у складу са локалним, државним и савезним прописима (35-38). Темељно очистите и дезинфикујте све радне површине.
- J. Контроле садрже натријум-азид као конзерванс. Не користите металне цеви за пренос реагенса. Ако се раствори који садрже једињења натријум азида одлажу у водоводни систем, треба их разблажити и испрати великом количином текуће воде. Ове мере предострожности се препоручују да би се избегло накупљање наслага у металним цевима у којима би се могли развити експлозивни услови.
- K. Добре стандардне праксе за молекуларне лабораторије укључују праћење животне средине. За праћење окружења у лабораторији, предлаже се следећи поступак.
 1. Набавите штапић са памучним врхом и упарите га са Aptima Specimen аликвотном епруветом (SAT).
 2. Означите сваки SAT на одговарајући начин.
 3. Напуните сваки SAT са 1 mL Aptima средства за разблаживање узорка.
 4. Да бисте сакупили површинске узорке, лагано навлажите тампон дејонизованом водом без нуклеазе.
 5. Обришите површину која вас занима вертикалним покретима од врха до дна. Окрените брис за отприлике пола окрета док бришете локацију.
 6. Одмах ставите узорак штампе у епрувету и нежно окрените брис у разблаживачу да бисте извукли потенцијалне материјале за брис. Притисните штапић са стране транспортне цеви да бисте извукли што је могуће више течности. Одбаците брис и затворите епрувету.
 7. Поновите кораке за преостале узорке брисева.
 8. Тест брис са молекуларним тестом.

Везано за узорак


- L. Узорци могу бити инфективни. Придржавајте се универзалних мера предострожности (35-37) приликом спровођења ове анализе. Правилно руковање и методе одлагања треба да буду успостављене у складу са локалним прописима (38). Само особље које је адекватно обучено за употребу Aptima HIV-1 Quant Dx теста и обучено за руковање инфективним материјалима треба да изврши ову процедуру.
- M. *Процењена је само плазма са антикоагулансима EDTA и ACD.*
- N. Одржавајте одговарајуће услове складиштења током транспорта узорака како бисте осигурали интегритет узорка. Стабилност узорка у условима транспорта другачијим од препоручених није процењена.
- O. Избегавајте унакрсну контаминацију током корака обраде узорака. Будите посебно опрезни да избегнете контаминацију ширењем аеросола када отпуштате или отварате узорке. Узорци могу садржати изузетно висок ниво организама. Пазите да се посуде са узорцима не додирују и одбаците коришћене материјале без преношења изнад отворених посуда. Промените рукавице ако дођу у контакт са узорком.

Подаци везани за комплет теста

- P. Квантитативни резултати Aptima HIV-1 Quant Dx теста су процењени са EDTA и ACD плазмом. **Серум се не може користити за добијање квантитативних резултата.** Квалитативни резултати су процењени и са плазмом и са серумом.
- Q. Немојте користити комплет реагенса, калибратор или контроле након истека рока трајања.
- R. Немојте мењати, мешати или комбиновати реагенсе за анализу из комплета са различитим главним бројевима серије. Течности за тестирање могу бити различитих серија. Контроле и калибратор могу бити из различитих серија.
- S. Избегавајте микробну и нуклеазну контаминацију реагенса.
- T. Затворите и чувајте све реагенсе за анализу на одређеним температурама. На ефикасност резултата теста може утицати неправилно складиштење комплета реагенса за анализу. Погледајте *Правила за складиштење и руковање реагенсима* и *Поступак испитивања на систему Panther* за више информација.
- U. Немојте комбиновати никакве реагенсе за анализу или течности без посебних упутстава. Немојте допуњавати реагенсе или течности. Panther систем проверава нивое реагенса.
- V. Неки реагенси у овом комплету су означени уз информације о опасностима.

Напомена: Сигурносне информације одговарају онима које су дефинисане у ЕУ безбедносно-техничким листовима (SDS). За сигурносне информације специфичне за ваш регион погледајте регионалне безбедносне стандарде у библиотеци безбедносно-техничких листова на www.hologicsds.com. За више информација о симболима, погледајте легенде симбола на www.hologic.com/package-inserts.

Информације за опасност за ЕУ	
—	<p>Amplification Reagent Magnezijum hlorid 60 - 65%</p> <p>—</p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>
—	<p>Enzyme Reagent HEPES 1 - 5% Triton X-100 1- 5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>
—	<p>Enzyme Reconstitution Solution Glicerol 20 - 25% Triton X-100 5 - 10% HEPES 1 - 5%</p> <p>—</p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>

—	<p>Promoter Reagent <i>Magnezijum hlorid 60 - 65%</i></p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>
—	<p>Target Capture Reagent <i>HEPES 15 - 20%</i> <i>Lauril sulfat litijumska so 5 - 10%</i> <i>Litijum hidroksid monohidrat 1 - 5%</i> <i>Sukinska kiselina 1 - 5%</i></p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>
	<p>HIV VL Kit Controls <i>Ljudski serum / Ljudska plazma 95 - 100%</i> <i>Natrijum azid < 1%</i></p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>
—	<p>HIV VL Kit Calibrators <i>Lauril sulfat litijumska so 0 - 10%</i> <i>Sukinska kiselina 0 - 10%</i></p> <p>H412 - Štetno za vodeni svet sa dugotrajnim posledicama. P273 - Izbegavati ispuštanje u životnu sredinu. P501 - Odložite sadržaj/kontejner u odobreno postrojenje za odlaganje otpada.</p>

Правила за складиштење и руковање реагенсима

A. Следећа табела приказује услове складиштења и стабилност за реагенсе, контроле и калибратор.

Реагенс	Неотворено складиште	Отворени комплет (реконституисан)	
		Складиштење	Стабилност
qHIV-1 амплификациони реагенс	2 °C до 8 °C		
qHIV-1 амплификациони реконструкциони раствор	2 °C до 8 °C	2 C до 8 C	30 дана ^a
qHIV-1 ензимски реагенс	2 °C до 8 °C		
qHIV-1 ензимски реконструкциони раствор	2 °C до 8 °C	2 C до 8 C	30 дана ^a
qHIV-1 промотер реагенс	2 °C до 8 °C		
qHIV-1 промотер реконструкциони раствор	2 °C до 8 °C	2 C до 8 C	30 дана ^a
qHIV-1 реагенс за бележење циља	2 °C до 8 °C	2 C до 8 C	30 дана ^a

qHIV-1 NC CONTROL — (Негативна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати
qHIV-1 LPC CONTROL + (Ниска позитивна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати
qHIV-1 HPC CONTROL + (Висока позитивна контрола)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати
qHIV-1 PCAL (Позитивни калибратор)	-15 °C до -35 °C	15 °C до 30 °C	Бочица за једнократну употребу Употребити у року од 20 сати

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

- B. Одбаците све неискоришћене реконституисане реагенсе и реагенс за хватање циља (TCR) после 30 дана или после датума истека главне серије, шта год наступи прво.
- C. Реагенси који се чувају у систему Panther имају 72 сата стабилности. Реагенси се могу убацити у Panther систем до 5 пута. Panther систем евидентира сваки пут када се реагенси учитају.
- D. Након одмрзавања калибратора, раствор мора бити бистар, односно не замућен или имати талог.
- ⚠ E. Реагенс промотер и реконституисани промотер реагенс су фотосензитивни. Заштитите ове реагенсе од светлости током складиштења и припреме за употребу.

Прикупљање и складиштење узорака

Напомена: Рукујте свим узорцима као да садрже потенцијално заразне реагенсе. Користите универзалне мере предострожности.

Напомена: Водите рачуна да избегнете унакрсну контаминацију током корака руковања узорком. На пример, баците употребљени материјал без преласка преко отворених епрувета.

Напомена: За складиштење се препоручују само пластичне секундарне цеви.

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

За квантитативна мерења:

- Епрувете које садрже EDTA или антикоагулансе кисели цитрат декстрозе (ACD) или
- Цеви за припрему плазме (PPT-ови).

За квалитативно одређивање:

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

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

A. Збирка узорака

Комплетна крв се може чувати на температури од 2 °C до 30 °C и мора се центрифугирати у року од 24 сата од узимања узорка. Одвојите плазму или серум од пелетираних црвених крвних зрнаца пратећи упутства произвођача за епрувету која се користи. Плазма или серум се могу тестирати на Panther систему у примарној епрувети или пренети у секундарну епрувету као што је Aptima епрувета за узорке аликвота. Да би се добио реакциони волумен од 500 µL, минимална запремина плазме или серума за примарне епрувете је до 1 200 µL, а за секундарне епрувете минимална запремина је 700 µL. Следећа табела идентификује захтеве за мртву запремину за сваки тип примарне и секундарне цеви.

Цев (величина и тип)	Мртва запремина на систему Panther
Aptima аликвотна епрувета за узорке (SAT)	0,2 mL
12 x 75 mm	0,5 mL
13 x 100 mm	0,5 mL
13 x 100 mm са гелом	0,3 mL
16 x 100 mm са гелом	0,7 mL

Ако се одмах не тестирају, плазма и серум се могу чувати у складу са спецификацијама у наставку. Ако се пренесе у секундарну епрувету, плазма може бити замрзнута на -20 °C или -70 °C, а серум може бити замрзнут на -20 °C. Немојте прекорачити три циклуса замрзавања-одмрзавања да бисте избегли утицај на резултат. Немојте замрзавати узорке у EDTA, ACD или примарним епруветама за сакупљање серума.

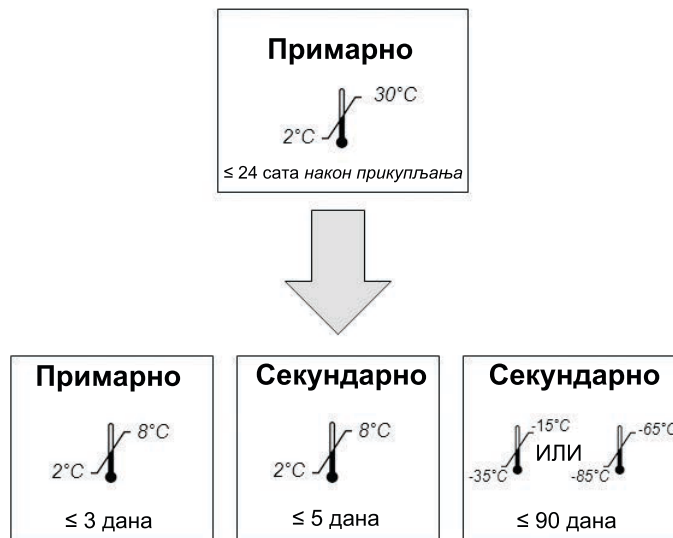
B. Услови складиштења узорака

1. EDTA и ACD узорци плазме

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

- У примарној епрувети за сакупљање на 2 °C до 8 °C до 3 дана,
- у секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или

- У секундарној епрувети на -20 °C или -70 °C до 90 дана.

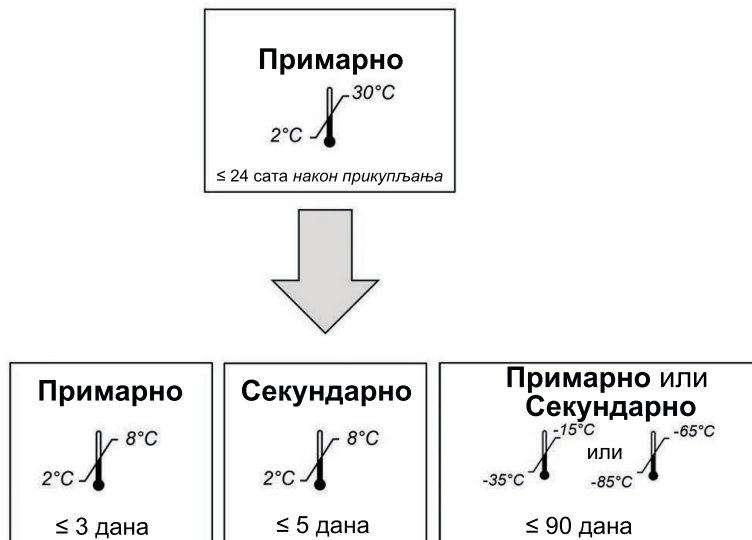


Слика 1. Услови складиштења за EDTA/ACD епрувете

2. PPT узорци

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

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

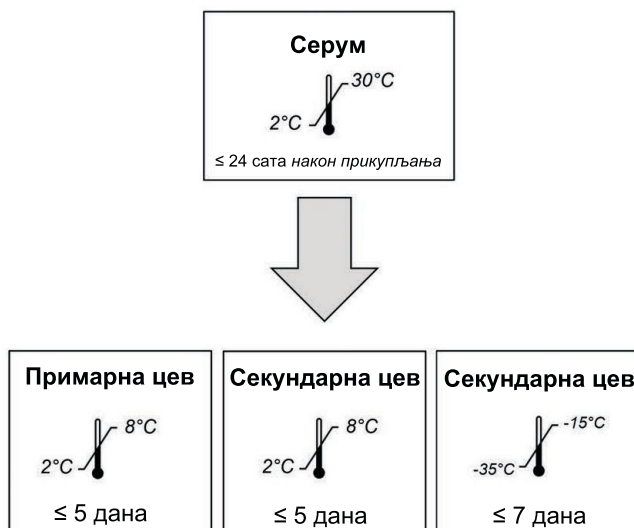


Слика 2. Услови складиштења за PPT-ове

3. Епрувете за узорке серума

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

- у секундарној епрувети за серум на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- у секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- У секундарној епрувети на -20 °C до 7 дана.

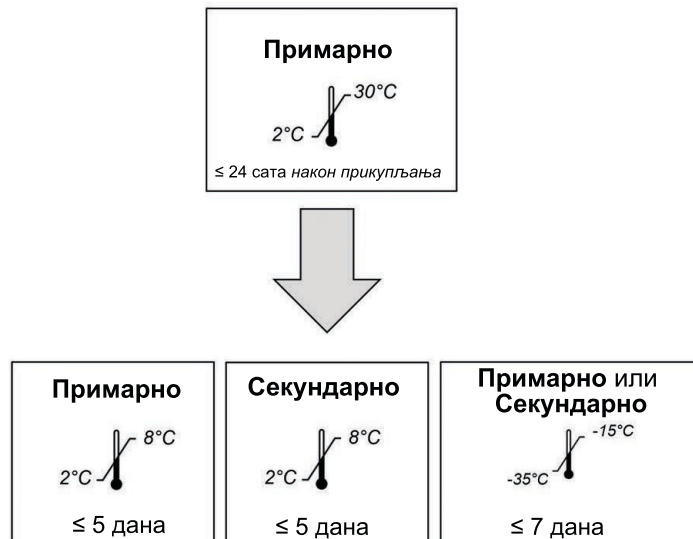


Слика 3. Услови складиштења епрувета са серумом

4. SST узорци

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

- У SST на 2 °C до 8 °C за до 5 дана,
- У секундарној епрувети на 2 °C до 8 °C до 5 дана, или
- У секундарној епрувети или SST на -20 °C до 7 дана.



Слика 4. Услови складиштења SST-ова

С. Разблаживање узорка плазме

Узорак плазме се може разблажити у SAT или секундарној епрувети за тестирање на Panther систему. Погледајте *Поступак испитивања на систему Panther*, корак Е.5 у наставку за више информација.

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

- ⚠ Разблаживање узорка плазме може се користити само за квантитативне резултате. Не разблажујте узорке плазме за дијагностичке резултате.

Узорци на Panther System

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

Транспорт узорка

Одржавајте услове складиштења узорка као што је описано у *Прикупљање и складиштење узорка*.

Напомена: Отпрема узорка мора се вршити у складу са важећим националним, међународним и регионалним прописима о транспорту.

Panther® System

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

Обезбеђени реагенси и материјали

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit, 100 тестова, кат. бр. PRD-03000 (1 кутија за тест, 1 комплет калибратора и 1 комплет контрола)

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

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay кутија

(чувати на температури од 2 °C до 8 °C након пријема)

Симбол	Компонента	Количина
A	qHIV-1 амплификациони реагенс <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферском раствору.</i>	1 бочица
E	qHIV-1 ензимски реагенс <i>Реверзна транскриптаза и RNK полимераза су осушени у HEPES пуферованом раствору.</i>	1 бочица
PRO	qHIV-1 промотер реагенс <i>Неинфективне нуклеинске киселине осушене у пуферском раствору.</i>	1 бочица
AR	qHIV-1 амплификациони реконструкциони раствор <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 7,2 mL
ER	qHIV-1 ензимски реконструкциони раствор <i>Садржи HEPES пуферски раствор који садржи сурфактант и глицерол.</i>	1 x 5,8 mL
PROR	qHIV-1 промотер реконструкциони раствор <i>Водени раствор који садржи глицерол и конзервансе.</i>	1 x 4,5 mL
TCR	qHIV-1 реагенс за бележење циља <i>Нуклеинске киселине у пуферованом раствору соли који садржи черсту фазу, неинфективне нуклеинске киселине и унутрашњи калибратор.</i>	1 x 72,0 mL
	Прстенови за реконституцију	3
	Листа бар-кодова Мастер серије	1 лист

Aptima HIV-1 Quant Dx комплет калибратора (кат. бр. PRD-03001)
(чувати на температури од -15 °C до -35 °C након пријема)

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

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

Симбол	Компонента	Количина
NC	qHIV-1 негативна контрола <i>HIV-1 негативна дефибринисана људска плазма која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	qHIV-1 ниска позитивна контрола <i>Не-инфективна HIV-1 Armored RNK дефибринисана људска плазма која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 1,5 mL
HPC	qHIV-1 висока позитивна контрола <i>Не-инфективна HIV-1 Armored RNK дефибринисана људска плазма која садржи гентамицин и 0,2% натријум азида као конзервансе.</i>	5 x 1,5 mL
	Контролна баркод ознака	—

Потребни материјали који се могу купити засебно

Напомена: Материјали доступни код компаније Hologic имају каталожке бројеве, осим ако није другачије назначено.

Материјал	Кат. Бр.
Panther® System	303095
Panther Fusion® System	PRD-04172
Panther® System, континуална течност и отпад (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx комплет контрола	PRD-03002
Aptima® HIV-1 Quant Dx комплет калибратора	PRD-03001
Panther Run комплет за тестове у реалном времену (само за тестове у реалном времену)	PRD-03455 (5 000 тестова)
<i>Aptima® Assay комплет течности (такође познат као Universal комплет течности)</i>	303014 (1 000 тестова)
<i>садржи Aptima® раствор за прање, Aptima® пуфер за деактивациону течност и Aptima® уљани реагенс</i>	
<i>Јединице за више епрувета (MTU)</i>	104772-02
<i>Panther комплет кеса за смеће</i>	902731
<i>Panther поклопац канте за смеће</i>	504405
Или, Panther System комплет за покретање	303096 (5 000 тестова)
<i>(када се раде ТМА тестови који нису у реалном времену паралелно са ТМА тестовима у реалном времену)</i>	
<i>садржи MTU, кесе за отпад, поклопце канти за отпатке, ауто детекцију и течности за анализу</i>	
Врхови, 1 000 µL, филтрирани, сензор за течност, проводљиво и за одлагање	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan)
<i>Нису сви производи доступни у свим регионима. Контактирајте свог представника за информације о одређеном региону.</i>	ММЕ-04134 (30180117 Tecan) ММЕ-04128
Избелјивач 5% до 8,25% (0,7 М до 1,16 М) раствор натријум хипохлорита	—
Једнократне, рукавице без пудера	—
Заменски непропусни чеппови	103036А
Заменски чепови за реагенс	
<i>Боце за реконституцију амплификационог, ензимског и промотер реагенса</i>	CL0041 (100 поклопаца)
<i>TCR боца</i>	CL0040 (100 поклопаца)
Покривачи лабораторијских клупа са пластичним задњим делом	—
Марамнице које не остављају длачице	—
Пипетор	—
Врхови	—
Цев за примарно сакупљање (ACD, EDTA, PPT, SST, Serum) опције:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Центрифуга	—
Вортекс миксер	—

Додатни материјали

Материјал	Кат. Бр.
Опције за секундарну цев:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima® епрувете за аликвотирање узорка (SAT-ови) (100 пакета)</i>	FAB-18184
Транспортни поклопац епрувете (100 пакета) <i>поклопац за SAT</i>	504415
Aptima® разблаживање узорка	PRD-03003
Aptima® комплет за разблаживање узорка <i>садржи разблаживач узорка, 100 SAT-ова и 100 поклопаца</i>	PRD-03478
Пипете за пренос	—
Комерцијално доступни панели, на пример:	—
<i>HIV-1 из Контроле квалитета за молекуларну дијагностику (QCMD) или Колеџа америчких Патолога (CAP) анкетни панел за HIV вирусно оптерећење или SeraCare ACCURUN HIV панели</i>	
Штапићи за брисове обложени памуком	
Покривачи клупа са пластичним задњим делом	—
Клацкалица за епрувету	—

Поступак испитивања на систему Panther

Напомена: За више информација о процедурама за коришћење, погледајте Упутство за употребу система Panther/Panther Fusion.

A. Припрема радног подручја

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

B. Припрема калибратора и контрола

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

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

Опција. Калибратор и контролне епрувете се могу поставити на клацкалицу за епрувету да се добро промешају. Уверите се да је садржај епрувете потпуно одмрзнут пре употребе.

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

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

C. Реконституција реагенса/припрема новог комплета

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

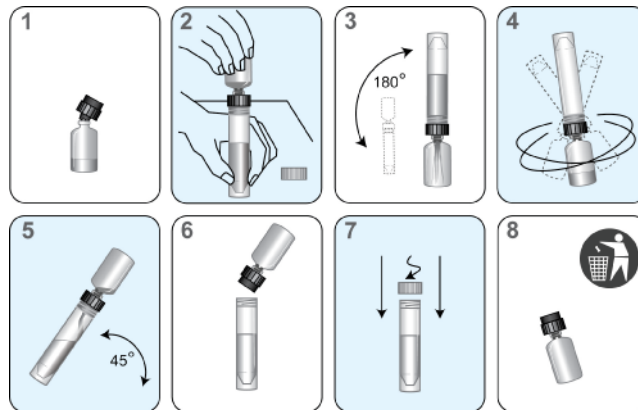
1. Да бисте припремили реагенс за хватање циља (TCR), урадите следеће:
 - a. Уклоните TCR из складишта (2 °C до 8 °C). Проверите број серије на TCR боци да бисте се уверили да се поклапа са бројем серије на главном листу бар кодова.
 - b. Одмах снажно протресите TCR боцу 10 пута. Дозволите да TCR боце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

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

- c. Уверите се да је сав талог у раствору и да су магнетне честице суспендоване пре употребе.
2. Да бисте реконституисали реагенсе за појачавање, ензим и промотор, урадите следеће:
 - a. Уклоните лиофилизоване реагенсе и одговарајуће растворе за реконституцију из складишта (2 °C до 8 °C). Упарите сваки раствор за реконституцију са одговарајућим лиофилованим реагенсом.
 - b. Уверите се да раствор за реконституцију и лиофиловани реагенс имају одговарајуће боје на етикети. Проверите бројеве серија на листу са бар-кодovима Мастер серије да бисте били сигурни да су упарени одговарајући реагенси.
 - i. Отворите бочицу са лиофилованим реагенсом уклањањем металне заптивке и гуменог чепа.
 - ii. Чврсто уметните урезани крај крагне за реконституцију (црни) на бочицу (Слика 5, Корак 1).
 - iii. Отворите одговарајућу боцу раствора за реконституцију и поставите поклопац на чисту, покривену радну површину.
 - iv. Поставите боцу са раствором за реконституцију на стабилну површину (нпр. клупу). Затим окрените бочицу са лиофилованим реагенсом преко бочице са раствором за реконституцију и чврсто причврстите оватник на бочицу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 2).
 - v. Полако преокрените састављене бочице (бочица причвршћена за бочицу са раствором) да бисте омогућили да раствор исцури у стаклену бочицу (Слика 5, корак 3).

- vi. Подигните састављене боце и вртите их најмање 10 секунди (Слика 5, Корак 4).
- vii. Сачекајте најмање 30 минута да лиофилизованани реагенс пређе у раствор.
- viii. Након што је лиофилизованани реагенс отишао у раствор, мешајте састављене боце најмање 10 секунди, а затим лагано љуљајте раствор у стакленој бочици напред-назад да се добро промеша.
- c. Полако поново нагните састављене боце да бисте омогућили да се сав раствор исцеди назад у боцу са раствором за реконституцију (Слика 5, корак 5).
- d. Пажљиво уклоните огрлицу за реконституцију и стаклену бочицу (Слика 5, Корак 6).
- e. Поново затворите боцу. Забележите иницијале оператера и датум реконституције на етикети (Слика 5, Корак 7).
- f. Одбаците огрлицу за реконституцију и стаклену бочицу (слика 5, корак 8).

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



Слика 5. Процес реконституције реагенса

D. Припрема реагенса за претходно припремљене реагенсе

1. Уклоните претходно припремљене реагенсе из складишта (2 °C до 8 °C).
2. Претходно припремљени реагенси за амплификацију, ензим, промотор и TCR морају достићи 15 °C до 30 °C пре почетка теста.
3. За претходно припремљен TCR, извршите корак C.1 изнад пре учитавања у систем.
4. Завртите и окрените реагенсе за појачавање, ензим и промотор да се добро измешају пре убацивања у систем. Избегавајте стварање превелике пене приликом инвертовања реагенса.
5. Не пуните бочице са реагенсима до врха. Panther систем препознаје и одбацује боце које су препуњене.

E. Руковање узорцима

1. Уверите се да су обрађени узорци у примарним епруветама или неразређени узорци у секундарним епруветама правилно ускладиштени према „Прикупљање и складиштење узорака” на страници 8.

2. Уверите се да су смрзнути узорци добро одмрзнути. Одмрзнуте узорке мешајте 3 до 5 секунди да се добро измешају.
3. Дозволите узорцима да достигну температуру од 15 °C до 30 °C пре обраде. Погледајте *Узорци на Panther System за додатне информације за убацивање*.
4. Уверите се да свака примарна епрувета за сакупљање садржи до 1 200 µL узорка или да сваки SAT садржи најмање 700 µL узорка. Погледајте приложену табелу у *Збирка узорака* на страници 9 да бисте идентификовали захтеве мртве запремине за сваки тип примарне и секундарне епрувете. Ако је потребно разблаживање узорка, погледајте корак Е.5 у наставку за додатне информације.
5. Разблажите узорак плазме 1:3 у SAT или 1:100 у секундарној епрувети. Узорак плазме се може разблажити у секундарној епрувети за тестирање на Panther систему.

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

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

a. Разблаживање узорака мале запремине

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

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

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

b. Разблаживање узорака високог титра

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

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

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

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

6. Непосредно пре стављања узорка у сталак за узорке, центрифугирајте сваки узорак на 1 000 до 3 000 g на 10 минута. Не скидајте поклопце. Мехурићи у цеви могу да угрозе детекцију нивоа од стране Panther система.

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

F. Припрема система

1. Подесите систем у складу са упутствима у Упутству за оператера за *Panther/ Panther Fusion System* и *Белешке о процедури*. Уверите се да се користе носачи за реагенсе и TCR адаптери одговарајуће величине.
2. Убаците узорке у сталак за узорке. Извршите следеће кораке за сваку епрувету за узорке (узорак и, када је потребно, калибратор и контроле):
 - a. Олабавите један поклопац епрувете за узорак, али га још увек немојте скидати.

Напомена: Будите посебно опрезни да избегнете контаминацију ширењем аеросола. Лагано отпустите капице на узорцима.

- b. Ставите епрувету за узорке у сталак за узорке.
- c. Поновите кораке 2.a и 2.b за сваки преостали узорак.
- d. Након што су узорци убачени у сталак за узорке, уклоните и баците сваки поклопац епрувете за узорке у једну сталак за узорке. Да бисте избегли контаминацију, немојте стављати поклопац преко других носача за узорке или епрувета за узорке.
- e. Ако је потребно, користите нову пипету за једнократну употребу да бисте уклонили мехуриће или пену.
- f. Када се уклони последњи поклопац, убаците сталак за узорке у одељак за узорке.

Напомена: Ако истовремено изводите друге тестове и типове узорка, причврстите држач за узорке пре него што ставите сталак за узорке у лежиште за узорке.

- g. Поновите кораке 2.a до 2.f за следећи сталак за узорке.

Белешке о процедури

A. Калибратори и контроле

1. Епрувете за позитивни калибратор qHIV-1, qHIV-1 ниска позитивна контрола, qHIV-1 висока позитивна контрола и qHIV-1 негативна контрола могу се убацити у било ком положају на носачу за узорке и на било којој траци за узорке на Panther систему. Пипетирање узорка почиње када се испуни један од следећа два услова:
 - a. Систем тренутно обрађује калибратор и контроле.
 - b. Важећи резултати за калибратор и контроле су регистровани у систему.

2. Након што се епрувете калибратора и контрола пипетирају и обраде за Aptima HIV-1 Quant Dx комплет реагенаса за тест, узорци могу да се тестирају са повезаним, реконституционим комплетом за до 24 сата **осим ако**:
 - a. Резултати калибратора или контроле су неважећи.
 - b. одговарајући сет реагенаса комплета буде извађен из система.
 - c. одговарајући сет реагенаса комплета премаши граничне вредности стабилности.
3. калибратор и свака контролна епрувета могу се користити једном. покушаји за употребу епрувете једном могу да доведу до грешака приликом обраде.

B. Прах из рукавица

Као и код било ког другог система за реагенсе, вишак праха на неким рукавицама може контаминирати отворене епрувете. Препоручује се употреба рукавица без праха.

Контрола квалитета

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

Калибрација теста

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

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

Негативне и позитивне контроле

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

Током обраде, критеријуми за прихватање контрола су аутоматски верификовани софтвером на систему Panther. Да би се генерисали валидни резултати, негативна контрола мора дати резултат „Није откривено”, а позитивне контроле морају дати резултате унутар унапред дефинисаних параметара. Ако било која од контрола има неважећи резултат, софтвер аутоматски поништава покретање. Узорци у неважећем циклусу морају бити поново тестирани коришћењем свеже припремљеног калибратора и свеже припремљених контрола.

Интерни калибратор/интерна контрола

Сваки узорак садржи интерни калибратор/интерну контролу (IC). Током обраде, критеријуми прихватања IC-а су аутоматски верификовани од стране софтвера система Panther. Ако је IC резултат неважећи, резултат узорка је неважећи. Сваки узорак са неважећим IC резултатом мора бити поново тестиран да би се добио валидан резултат.

Софтвер Panther система је дизајниран за прецизан поступак верификације када се процедуре обављају према следећим упутствима обезбеђеним у овом уметку пакета и Упутству за оператера за *Panther/Panther Fusion System*.

Интерпретација резултата

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

Panther систем аутоматски одређује концентрацију HIV-1 RNK за узорке и контроле упоређивањем резултата са калибрационом кривом. HIV-1 RNK концентрације су пријављене у примерцима/mL и евиденцијама₁₀ примерака/mL. Интерпретација резултата је обезбеђена у Табела 1. Ако се за разблажене узорке користи разблаживање 1:3 или 1:100, Panther систем аутоматски израчунава концентрацију HIV-1 за чист узорак множењем разређене концентрације фактором разблажења и разблажени узорци се означавају као разблажени.

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

Panther систем не даје квалитативни резултат (тј. „Реактиван” или „Нереактиван”) за дијагностичку употребу. Оператер мора да протумачи пријављену концентрацију HIV-1 RNK у квалитативни резултат (Табела 1). Узорци са резултатима наведеним као „Није откривено” нису реактивни за HIV-1 RNK. Узорци са резултатима наведеним као „< 30 откривено” или узорци са резултатима наведеним у линеарном опсегу указују да је откривена HIV-1 RNK и да су ови узорци реактивни на HIV-1 RNK.

Табела 1: Тумачење резултата

Пријављен резултат за Aptima HIV-1 Quant Dx тест		Тумачење концентрације HIV-1 RNK	Квалитативна интерпретација дијагностике корисника ^c
Примерци/mL ^a	Записна ₁₀ вредност ^b		
Није откривено	Није откривено	HIV-1 RNK није откривен.	Није реактивно за HIV-1 RNK
< 30 откривено ^e	< 1,47	HIV-1 RNK је откривен али на нивоу испод LLoQ.	Реактивно за HIV-1 RNK
од 30 до 10 000 000	од 1,47 до 7,00	HIV-1 RNK концентрација је у линеарном опсегу од 30 до 10 000 000 копија/mL.	Реактивно за HIV-1 RNK
> 10 000 000	> 7,00	HIV-1 RNK концентрација је изнад горњег ограничења за квантификацију (ULoQ).	Реактивно за HIV-1 RNK
Неважећи ^d	Неважећи ^d	Дошло је до грешке у генерацији резултата. Узорак треба да се тестира поново.	Неважећи

^a Фактори за конверзију за копије за међународну јединицу (IU) за 3. међународни стандард за HIV-1 RNK (10/152) је 0,35 примерака/IU.

^b Вредност је скраћена на два децимална места.

^c Дијагностичка интерпретација може да се направи од узорака плазме или серума који нису разблажени.

^d Погрешни резултати су приказани фонтом плаве боје.

^e Најнижа вредност за извештавање софтвера је 30 примерака/mL. Највиши LoD за тест је 17,5 примерака/mL за под-тип G. За LoD вредности за све под-типове, погледајте табелу 3. LoD уз употребу WHO 3. међународног стандарда (под-тип B) за HIV-1 RNK је 12,1 примерака/mL (погледајте табелу 2).

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

Напомена: Опсег опоравка који је наведен у наставку се помера на основу додељене вредности сваке одређене партије. Погледајте додељену концентрацију на уметку листу баркода контроле испорученог уз сваку контролну кутију.

Табела 2: Критеријум за прихватање за опсег опоравка за Aptima HIV-1 Quant Dx контроле теста

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

Ограничења

- A. Употреба овог теста је ограничена на особље које је обучено за ову процедуру. Непоштовање упутстава датих у овом упутству може довести до погрешних резултата.
- B. Поуздани резултати зависе од адекватног сакупљања, транспорта, складиштења и обраде узорака.
- C. Овај тест је валидиран за употребу као квантитативни тест само са људском EDTA и ACD плазмом.
- D. Овај тест је валидиран за употребу као квалитативни тест са хуманом EDTA и ACD плазмом и серумом.
- E. Иако ретке, мутације унутар високо очуваних региона вирусног генома покривених прајмерима и/или сондама у Aptima HIV-1 Quant Dx тесту могу довести до подквантификације или неуспеха у откривању вируса.

Ефикасност

Ограничење за детекцију (LoD) Коришћење 3. HIV-1 WHO међународног стандарда

Ограничење за детекцију (LoD) дефинисано је као концентрација HIV-1 RNK која је откривена на 95% или већој вероватноћи у складу са CLSI EP17-A2 (39). LoD је одређен помоћу панела за тестирање који се састоје од разблаживача 3. HIV-1 WHO међународног стандарда (под-тип Б, NIBSC код: 10/152) у HIV-1 негативној плазми. Тридесет понављања сваког разблажења изведено је на три Panther система коришћењем три серије реагенса за укупно 90 понављања за свако разблаживање. Према CLSI EP17-A2, резултати из серије реагенса са највећом концентрацијом за предвиђену границу детекције су дефинисани као LoD и приказани су у Табела 3. Током Probit анализе, LoD за Aptima HIV-1 Quant Dx тест је 12 примерака/mL (35 IU/mL; 0,35 примерка = 1 IU).

Табела 3: Граница за детекцију за Aptima HIV-1 Quant Dx тест коришћењем 3. HIV-1 WHO међународног стандарда

Предвиђена граница детекције	Концентрација (примерка/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

Граница детекције међу подтипovima и групама HIV-1

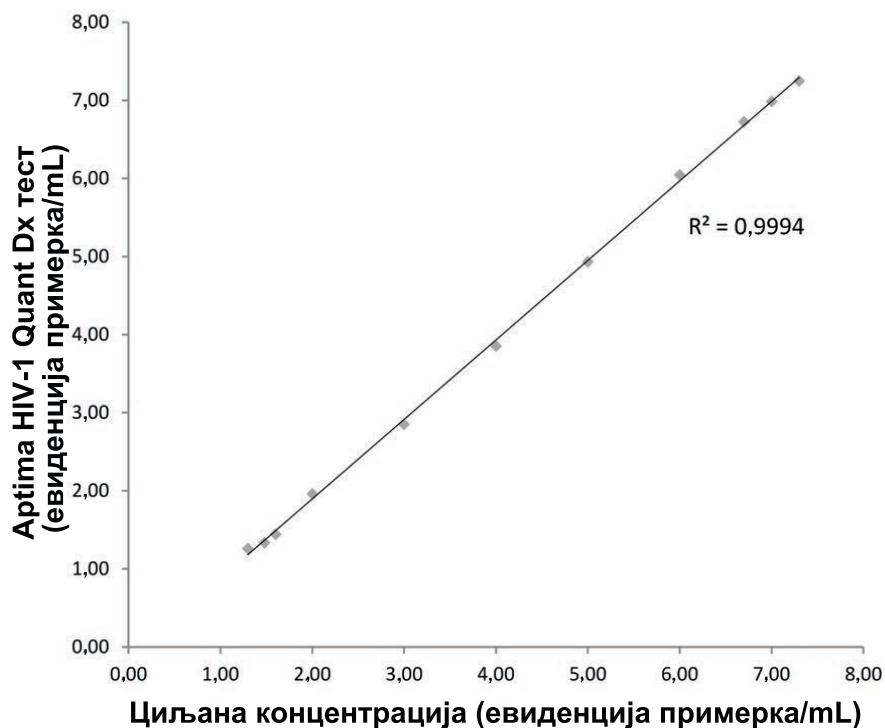
За HIV-1 групу М (под-типови А, С, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) и групе N и O, седам панела је креирано појачањем култивисаног HIV-1 вируса или позитивних клиничких узорака у HIV-1 негативне људске плазме (0 до 40 примерака/mL). Сваки члан панела је тестиран у 30 понављања са две серије реагенса за укупно 60 понављања по члану панела. Додељивање концентрације за клиничке узорке или култивисане залихе вируса је одређено коришћењем компараторног теста. Probit анализа је извршена да би се генерисале 50% и 95% предвиђених граница детекције. Према CLSI EP17-A2 (39), резултати из серије реагенса са највећом концентрацијом за предвиђену границу детекције су дефинисани као LoD и приказани су у Табела 4.

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

Подтип/Група	Предвиђена граница детекције	Концентрација (примерак/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

Линеарни опсег

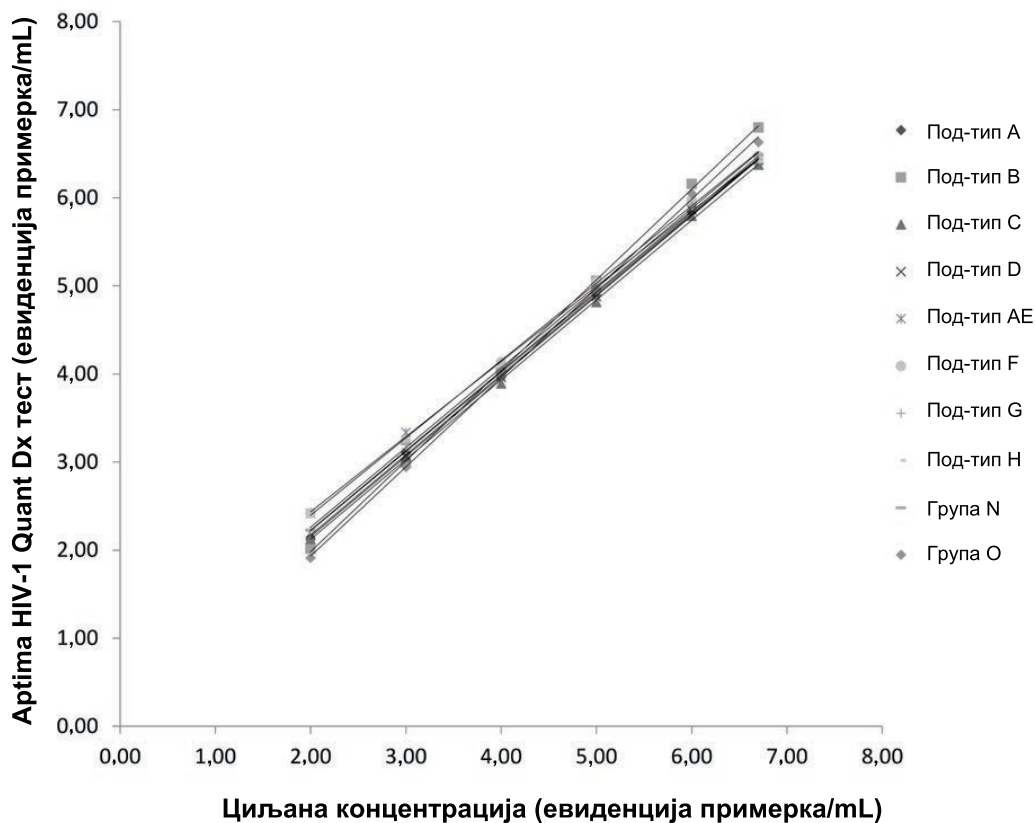
Линеарни опсег Aptima HIV-1 Quant Dx теста је успостављен тестирањем панела који се састоје од култивисаног HIV-1 вируса под-типа В разблаженог у HIV-1 негативној људској плазми у складу са CLSI EP06-A (40). Панели су се кретали у концентрацији од 1,30 до 7,30 записа примерака/mL. Тестирање је обављено на седам Panther система са две серије реагенса Aptima HIV-1 Quant Dx теста. Као што је приказано у Слика 6, Aptima Quant Dx тест је демонстрирао линеарност у опсегу тестирања.



Слика 6. Линеарност Aptima HIV-1 Quant Dx теста

Линеарност HIV-1 под-типова и група

Линеарна реакција за Aptima HIV-1 Quant Dx тест кроз групу М (под-типови А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE) и групе N и O потврђене су преко панела за тестирање који се састоје од HIV-1 транскрипта разблаженог у пуферу на концентрацијама у опсегу од 2,00 до 6,70 примерака записа/mL. Тестирање је обављено на четири Panther система и шест покушаја. Линеарност је демонстрирана у целом тестираном опсегу (Слика 7).



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

Доња граница квантификације коришћењем 3. међународног стандарда HIV-1 из WHO

Доња граница квантификације (LLoQ) је дефинисана као најнижа концентрација при којој се HIV-1 RNK поуздано квантификује у оквиру укупне грешке (TE), према CLSI EP17-A2 (39). TE је израчунат коришћењем Вестгардовог модела ($TE = |bias| + 2SD$). Да би се осигурала тачност и прецизност мерења, TE за Aptima HIV-1 Quant Dx тест је постављен на 1 запис примерка/mL (тј., на LLoQ, разлика између два мерења од више од 1 запис примерка/mL је статистички значајна).

LLoQ је одређен помоћу панела за тестирање који се састоје од разблаживача 3. HIV-1 WHO мешународног стандарда (под-тип Б, NIBSC код: 10/152) у HIV-1 негативној плазми. Према CLSI EP17-A2, панели су тестирани са три серије реагенса у понављањима од по 30 за сваку серију из 23 серије. Резултати су приказани у Табела 5. Највиши LLoQ за три серије тестирани на Aptima HIV-1 Quant Dx тесту коришћењем 3. HIV-1 међународног стандарда WHO је 15 записа примерка/mL (1,17 запис примерка/mL; 42,9 IU/mL) (Табела 6).

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

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

SD=стандардна девијација

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

Серија реагенса	LLoQ (евиденција примерка/mL)	LLoQ (примерка/mL)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Верификација LLoQ кроз HIV-1 подтипове и групе

LLoQ кроз HIV-1 под-типове и групе је потврђен у складу са CLSI EP17-A2 (39). Панели су направљени за сваку HIV-1 групу М (подтипови А, В, С, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) и групе N и O додавањем обједињене HIV-1 негативне људске плазме са било природно инфицираним клиничким узорцима или клинички изолати. Тестирање се састојало од укупно 30 понављања по члану панела. Подаци у Табела 7 показују најнижу концентрацију за сваки подтип или групу при којој је ТЕ био мањи од 1 евиденције примерка/mL. Највиши LLoQ за све под-типове и групе које су тестиране је био 30 примерака/mL; ова виша вредност, због тога, изабрана је као LLoQ за Aptima HIV-1 Quant Dx тест.

Табела 7: Верификација LLoQ преко HIV-1 под-тип или групу

Панел	LLoQ (примерка/mL)
Под-тип А	30
Под-тип CRF01_AE	10
Под-тип CRF02_AG	30
Под-тип В	10
Под-тип С	30
Под-тип D	15
Под-тип F	15
Под-тип G	30
Група N	10
Под-тип O	15

Прецизност

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

Табела 8: Прецизност Aptima HIV-1 Quant Dx теста

Број важећих реплика	Средња концентрација (евиденција примерака/mL)	Inter- Instrument		Inter-Operator		Inter-Lot		Inter-Run		Intra-Run		Укупно	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 ^a	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV=коэффициент варијације, SD=стандардна девијација

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

Напомена: Варијабилност од неких фактора може бити нумерички негативна, што може настати ако је варијабилност услед тих фактора веома мала. Када се ово догоди, SD=0 и CV=0%. Укупан број тестираних реплика био је 162 за сваки панел; анализиране су само реплике са нумеричком вредношћу.

Потенцијално ометајуће супстанце

Процењена је осетљивост Aptima HIV-1 Quant Dx теста на сметње повишених нивоа ендогених супстанци и лекова који се обично преписују особама зараженим HIV-1. Тестирани су HIV-1 негативни узорци људске плазме и узорци повећани до концентрације од 3 записа примерка/mL HIV-1 RNK.

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

Нису примећене сметње у Aptima HIV-1 Quant Dx тесту у присуству егзогених супстанци наведених у Табела 9 при концентрацијама које су бар три пута од C_{max} (људска плазма).

Табела 9: Егзогене супстанце

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

Клинички узорци плазме наведени у Табела 10 од пацијената са повишеним нивоима дефинисаних супстанци или пацијената са наведеним болестима тестирани су Aptima HIV-1 Quant Dx тестом са и без присуства 3 примерка копија HIV-1 RNK. Нису примећене сметње у перформансама.

Табела 10: Тестирани типови клиничких узорака

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

Специфичност

Специфичност за Aptima HIV-1 Quant Dx тест одређена је коришћењем 120 свежих и 510 замрзнутих HIV-1 негативних узорака плазме, и коришћењем 120 свежих и 510 замрзнутих HIV-1 негативних узорака серума. Сви резултати су били не-реактивни (специфичност од 100%; 95% CI: 99,4—100%).

Табела 11: Специфичност у узорцима плазме и серума

	Свежа плазма	Замрзнута плазма	Укупна плазма	Свежи серум	Замрзнути серум	Укупни серум
Валидне реплике (n)	120	510	630	120	510	630
Не-реактивно	120	510	630	120	510	630
Специфичност (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 = интервал поузданости

Аналитичка специфичност

Потенцијално унакрсно повезивање реактивности на патогене (Табела 12) било је процењено у Aptima HIV-1 Quant Dx тесту у присуству или одсуству 3 записа примерака/mL HIV-1 RNK у HIV-1 негативној плазми. У присуству патогена није примећено сметње у извођењу теста.

Табела 12: Патогени тестирани на аналитичку специфичност

Патоген	Концентрација
Хепатитис А вирус	100 000 PFU/mL ^a
Хепатитис В вирус	100 000 IU/mL ^b
Хепатитис С вирус	100 000 IU/mL
Хепатитис G вирус	100 000 примерка/mL
Херпес симплекс вирус 1 (HSV-1)	100 000 PFU/mL
Херпес симплекс вирус 2 (HSV-2)	75 000 PFU/mL
Хумани херпес вирус 6	100 000 примерка/mL
Хумани херпес вирус 8	42 000 PFU/mL
HIV-2	5 500 PFU/mL
Вирус лимфотропне хумане Т-ћелије (HTLV)	100 000 vp/mL ^c
Вирус западног Нила	100 000 примерка/mL
Паровирус В19	100 000 IU/mL
Cytomegalovirus	100 000 примерка/mL
Epstein-Barr virus	100 000 примерка/mL
Аденовирус тип 5	100 000 PFU/mL
Денга вирус	100 000 примерка/mL
Вирус грипа А	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 = Јединице за формирање плака по mL.

^bIU/mL = Међународне јединице по mL.

^cvp/mL = Виралне праксе по mL.

^dCFU/mL = Јединице које формирају колоније по mL.

^eIFU/mL = Јединице које формирају инклузију по mL.

Могућност понављања за клиничке узорке

Десет клиничких узорака плазме тестирани су у три репликата коришћењем Aptima HIV-1 Quant Dx теста. Просечна концентрација и стандардна девијација приказане су у Табела 13.

Табела 13: Могућност понављања за клиничке узорке

Узорак	Просечна концентрација (примерци записа/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

Разблаживање узорка коришћењем разблаживача узорка

За процену разблаживања узорка, панел који се састоји од 11 узорака са концентрацијама које се протежу у линеарном опсегу за Aptima HIV-1 Quant Dx тест и који се састоји од два узорка изнад горње границе теста који је тестиран уредно и разблажен (1:3 или 1:100 у раствору узорка) у трипликату (Табела 14).

Табела 14: Разблаживање узорка

Разблаживање	Просечна средња концентрација (евиденција примерка/mL)	Просечна пријављена концентрација ^a (евиденција примерка/mL)	Разлика
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 ^b	2,19	-0,27
1:100	> 7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1:100	> 7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

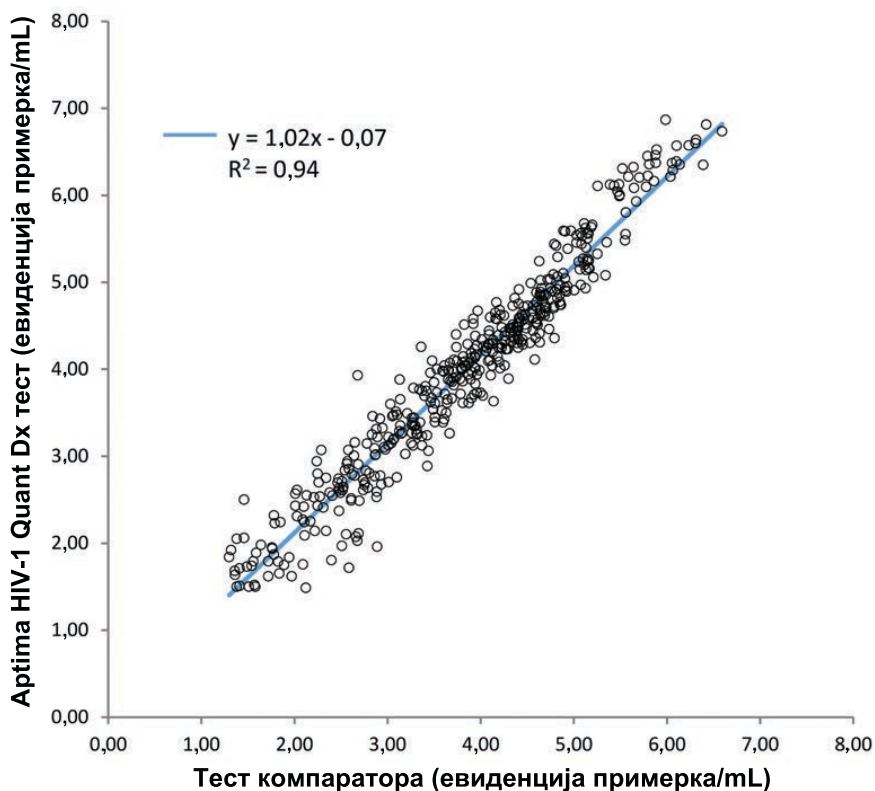
^aПријављена концентрација је вредност пријављена од стране Panther система након примене фактора разблаживања

^bПојачани примерак

^c Сви резултати > 7,00 записних примерака/mL процењени су помоћу додатне анализе

Корелација метода

Перформансе за Aptima HIV-1 Quant Dx тест процењене су према SE-означеном упоредном тесту тестирањем неразблажених узорака клиничке плазме од пацијената инфицираних са HIV-1 на четири Panther система са два губитка реагенса. Укупно 342 замрзнута и 108 свежих узорака плазме са квантификованим резултатима на Aptima HIV-1 Quant Dx тесту и тесту за поређење су употребљена за линеарну регресију (Слика 8). Узорци су укључивали HIV-1 групу М (под-типове А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).



Слика 8. Корелација између Aptima HIV-1 Quant Dx тест и упоредни тест

Дијагностички уговор

За приступ дијагностичком уговору, узорци од HIV-1 позитивних појединаца тестиране су помоћу Aptima HIV-1 Quant Dx теста у упоредног CE-означеног HIV-1 квалитативног теста: 414 узорака је имало валидне резултате (Табела 15). Резултати за оба теста су категоризовани на следећи начин. Било који резултат који даје квантитативни или детектабилни резултат је категоризован као „Detected” (Детектован). Било који резултат циља који није детектован је категоризован као „Target Not Detected” (Циљ није детектован).

Табела 15: Дијагностички уговор између Aptima HIV-1 Quant Dx теста и упоредног теста

		Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	
		Детектовано	Циљ није детектован
Упоредни тест	Детектовано	214	0
	Циљ није детектован	0	200

Пренос

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

Панел сероконверзије

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

Табела 16: Резиме података панела сероконверзије

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

^a Сва испуштања у овом панелу била су не-реактивна за Anti-HIV 1/2 антитело. Последњи дан испуштања је коришћен као „Days to First Reactive Result” (Број дана за први реактивни резултат).

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

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

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

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

Еквивалентна студија за серум, плазму

За процену еквиваленције, уклопљен комплет серума и плазме (25 HIV-1 позитивно и 25 HIV-1 негативно), и 40 узорача који су појачани са културом HIV-1 (50—1 000 000 примерака/mL са HIV-1 негативном плазмом и серумом) тестирани су са Aptima HIV-1 Quant Dx тестом. Негативни уговор био је 100,0% (95% CI: 97,0%-100,0%). Позитивни споразум је био 98,4% (95% CI: 95,4%-99,5%).

Библиографија

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 и L. Montagnier. 1983. Изаолација Т-лимфотропног ретровируса од пацијента са ризиком од синдрома стечене имунодефицијенције (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read и R. C. Gallo. 1984. Детекција, изолација и континуирана производња цитопатских ретровируса (HTLV-III) од пацијената са AIDS-ом и пред-AIDS-ом. *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 и P. D. Markham. 1984. Често откривање и изолација цитопатских ретровируса (HTLV III) код пацијената са AIDS-ом и ризиком од AIDS-а. *Science* **224**:500–503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J.-L. Lamboray, J. Chin и J. M. Mann. 1988. AIDS: Међународна перспектива. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach и R. C. Gallo. 1984. Антитела реактивна са хуманим Т-лимфотропним ретровирусима (HTLV-III) у серуму пацијената са AIDS-ом. *Science* **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton и 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 и 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 и 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 и L. V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B. и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 и 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 RNK Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704-712.
26. Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat и 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. и J. R. George, ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield и 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 и 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 и 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 и 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. и 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 Reve. 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

За техничку подршку и корисничку подршку за одређену земљу и број телефона, посетите www.hologic.com/support.

Hologic, Aptima, Panther, Panther/Panther Fusion, TMA и повезани логотипи су трговачки знаци и/или регистровани трговачки знаци компаније Hologic, Inc. и/или њене филијале у Сједињеним Америчким Државама и/или другим државама.

Armored RNA је трговачки знак компаније Asuragen, Inc.

Све остале робне марке које могу бити наведене у овом упутству унутар паковања припадају њиховим власницима.

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

© 2014—2024 Hologic, Inc. Сва права задржана.
AW-11853-3901 верз. 001
2024-09