

## Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

*In vitro* diagnosztikai használatra.

Kizárólag U.S. exportra.

<b>Általános tudnivalók</b> .....	<b>2</b>
Alkalmazási terület .....	2
A teszt összefoglalása és leírása .....	2
Az eljárás alapelvei .....	3
Figyelmeztetések és óvintézkedések .....	4
Reagenstárolási és -kezelési előírások .....	7
Mintavétel és -tárolás .....	7
Minták a Panther System fedélzetén .....	11
Vizsgálati minta szállítása .....	11
<b>Panther System</b> .....	<b>12</b>
Mellékelt reagensek és anyagok .....	12
Szükséges, de külön beszerezhető anyagok .....	14
Opcionális anyagok .....	15
A Panther System teszteljárás .....	15
Megjegyzések az eljáráshoz .....	19
<b>Minőségellenőrzés</b> .....	<b>20</b>
A vizsgálat kalibrálása .....	20
Negatív és pozitív kontrollok .....	20
Belső kalibrátor/belső kontroll .....	20
<b>Az eredmények értelmezése</b> .....	<b>21</b>
<b>Korlátozások</b> .....	<b>22</b>
<b>Teljesítőképeség</b> .....	<b>23</b>
Kimutatási határ (LoD) a WHO 3. HIV-1 nemzetközi szabványának alkalmazásával .....	23
Kimutatási határ a HIV-1 altípusok és csoportok között .....	24
Lineáris tartomány .....	25
Linearitás a HIV-1 altípusok és csoportok között .....	26
A mennyiségi meghatározás alsó határa a 3. HIV-1 WHO nemzetközi szabvány felhasználásával ...	26
A LLoQ ellenőrzése a HIV-1 altípusok és csoportok között .....	28
Pontosság .....	29
Potenciálisan interferáló anyagok .....	30
Specifitás .....	31
Analitikai specifitás .....	32
Klinikai minták ismételhősége .....	33
Minta hígítása mintahígítóval .....	34
Módszerkorreláció .....	35
Diagnosztikai egyezés .....	36
Átvitel .....	36
Szerokonverziós panel .....	37
Szérum, plazma egyenértékűségi vizsgálat .....	38
<b>Irodalomjegyzék</b> .....	<b>39</b>

## Általános tudnivalók

### Alkalmazási terület

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat egy *in vitro* nukleinsav-amplifikációs teszt az 1. típusú humán immundeficiencia vírus (HIV-1) M, N és O RNS-csoportjainak kimutatására és mennyiségi meghatározására a teljesen automatizált Panther™ rendszerben. A készítményt a HIV-1 fertőzés diagnózisának segítésére, a HIV-1 fertőzés megerősítésére és a HIV-1 fertőzött betegek klinikai kezelésének támogatására szánják.

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat a HIV-1 fertőzés diagnózisának segédeszközeként használható, beleértve az akut vagy elsődleges fertőzést is. A HIV-1 RNS jelenléte a HIV-1 elleni antitestek nélküli betegek plazmájában vagy szérumában akut vagy primer HIV-1 fertőzésre utal. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat kiegészítő tesztként használható olyan minták esetében, amelyeknél a jóváhagyott HIV-immunvizsgálatokkal ismételt reakтив eredményt kaptak. Ha a minta reagál az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálatban, a HIV-1 fertőzés megerősítést nyer.

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat a klinikai prezentációval és más laboratóriumi markerekkel együtt is használható a betegség előrejelzésére HIV-1 fertőzött egyéneknél. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat az antiretrovirális kezelés hatásának nyomon követésére használható a HIV-1 RNS plazmakoncentrációjában bekövetkező változások mérésével.

Amikor az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálatot a HIV-1 fertőzés diagnózisának segédeszközeként használják, a kvalitatív eredmények teljesítménye plazma- és szérumminták esetében egyaránt megállapítható.\* Az antiretrovirális terápia hatásának nyomon követését segítő eszközként használva a kvantitatív eredményekhez szükséges teljesítmény csak plazmamintákkal állapítható meg. A szérumminták nem használhatók kvantitatív eredményekhez.

Ez a vizsgálat nem alkalmas vér- vagy plazmadonorok szűrésére.

### A teszt összefoglalása és leírása

Az epidemiológiai vizsgálatok az 1-es típusú humán immundeficiencia-vírust (HIV-1) azonosították a szerzett immundeficiencia-szindróma (AIDS) kórokozójaként (1-7). A HIV szexuális érintkezés, fertőzött vérrel vagy vércsökkentvényekkel való érintkezés, illetve anyáról gyermekre történő átvitel útján terjedhet (8). A HIV-expozíciót követő 3-6 héten belül a fertőzötteknél általában rövid, akut szindróma alakul ki, amelyet influenzaszerű tünetek jellemeznek, és a perifériás vérben magas virémia-szintekkel jár együtt (9-12). A legtöbb fertőzött egyénnél ezt a korai szakaszt HIV-specifikus immunválasz és a plazma virémia csökkenése követi, általában a tünetek megjelenésétől számított 4-6 héten belül (13-14). A szerokonverziót követően a fertőzöttek általában klinikailag stabil, tünetmentes fázisba lépnek, amely évekig is eltarthat (15-17). A tünetmentes időszakot tartós, alacsony szintű plazmavirémia (18) és a CD4+ T-limfociták fokozatos csökkenése jellemzi. Ez a csökkenés súlyos immunhiányhoz, többszörös opportunista fertőzésekhez, malignus daganatokhoz és halálhoz vezet (19). Bár a vírusszint a perifériás vérben viszonylag alacsony a fertőzés tünetmentes szakaszában, a víruszaporodás és -űrités dinamikus folyamatnak tűnik, amelyben a vírusprodukciónak és a CD4+ sejtek fertőzésének magas arányát a vírusűrités, a fertőzött sejtek elhalála és a CD4+ sejtek újratermelődése ugyanolyan magas aránya ellensúlyozza, ami viszonylag stabil plazma-virémiát és CD4+ sejt szintet eredményez (20-22).

A HIV mennyiségi mérései a perifériás vérben kimutatták, hogy a magasabb vírusszintek korrelálhatnak a HIV-asszociált betegség klinikai progressziójának fokozott kockázatával, és kimutatták, hogy a plazma vírusszintjének csökkenése a klinikai progresszió csökkent

kockázatával járhat együtt (23-25). A perifériás vér vírusszintje a HIV p24 antigén mérésével a szérumban, a HIV kvantitatív tenyésztésével a plazmából, vagy a vírus RNS közvetlen mérésével a plazmában, nukleinsav-amplifikációs vagy jelamplifikációs technológiák alkalmazásával határozható meg (26-30).

A HIV-1 fertőzés jelenlegi kimutatása elsősorban az antitestek és/vagy a p24 antigén szerológiai vizsgálatán alapul immunvizsgálat segítségével. Az USA Járványvédelmi Intézete (Centers for Disease Control) az akut HIV-fertőzések diagnosztizálására antitest- és RNS-tesztet javasol (31). Bár a HIV-1 antitestek és a p24 antigén kimutatásának érzékenysége javult, a fertőzés időpontja és a szerológiai markerekkel történő kimutatás időpontja között még mindig van egy ablakidőszak. Ez az ablakidőszak az alkalmazott szerológiai teszt érzékenységétől függ. Egy becslés (32) szerint a 4. generációs p24 antigén/antitest vizsgálatok akkor mutathatják ki a fertőzést, amikor a HIV-1 RNS-koncentráció eléri a 14 000 másolat/mL értéket. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat kimutatási határa lényegesen alacsonyabb, mint 14 000 másolat/mL, és a HIV-1 jelenlétét hamarabb kimutathatja, mint a HIV-immunvizsgálatok.

Az olyan molekuláris technikákat, mint a transzkripciómediált amplifikáció (TMA), széles körben használják nukleinsavak amplifikálására (31). A TMA specifikus célmolekula-megkötést és izoterm erősítést alkalmaz több fertőző kórokozó nukleinsavainak kimutatására (32).

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat a TMA segítségével több hosszú primert használ, amelyek a HIV-1 genom több régióját célozzák meg, hogy kompenzálják a magas mutációs rátát és a célterület több lehetséges mutációját.

## Az eljárás alapelvei

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat három fő lépést foglal magában, amelyek mindegyike egyetlen csőben zajlik a Panther rendszerben: a célmolekula megkötése, a célmolekula amplifikációja transzkripciómediált amplifikációval (TMA), és az amplifikációs termékek (amplikon) kimutatása fluoreszcens jelölésű próbákkal (fáklyákkal).

A célmolekula megkötése során a vírusnukleinsavakat izolálják a mintákból. A mintát detergenssel kezelik a vírusburok szolubilizálása, a fehérjék denaturálása és a vírus genomi RNS felszabadítása érdekében. A megkötő oligonukleotidok a HIV-1 genom magasan konzervált régióihoz hibridizálódnak, ha azok jelen vannak a vizsgálati mintában. A hibridizált célmolekulát ezután mágneses mikrorészecskékre rögzítik, amelyeket mágneses térben választanak el a mintától. A mosási lépések eltávolítják az idegen komponenseket a reakciócsőből.

A célmolekula amplifikációja TMA-val történik, amely egy transzkripcióval mediált nukleinsav-amplifikációs módszer, amely két enzimet, az MMLV (Moloney egér leukémiavírus) reverz transzkriptázt és a T7 RNS-polimerázt használja. A reverz transzkriptáz segítségével létrehozzák a célszekvencia DNS-kópiáját (amely a T7 RNS-polimeráz promóterszekvenciáját tartalmazza). A T7 RNS-polimeráz a DNS kópia alapján több kópiát készít az RNS amplikonból. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat a TMA-módszert alkalmazza a HIV-1 RNS két régiójának (pol és LTR) amplifikálásához. E specifikus régiók amplifikációja specifikus primerekkel történik, amelyeket a HIV-1 M, N és O csoportjainak amplifikálására terveztek. A primertervezés és a kettős célpont-megközelítés biztosítja a HIV-1 pontos kimutatását és kvantitatív meghatározását.


A kimutatás egyszálú nukleinsav fáklyákkal történik, amelyek a célpont amplifikációja során jelen vannak, és amelyek valós időben specifikusan hibridizálódnak az amplikonhoz. Minden fáklya rendelkezik egy fluorofórral és egy kioltóval. Amikor a fáklya nem hibridizálódik az amplikonhoz, a kioltó a fluorofór közelében van, és elnyomja a fluoreszcenciát. Amikor a fáklya az amplikonhoz kötődik, a kioltó anyag távolabb kerül a fluorofortól, és az egy fényforrás által gerjesztve egy adott hullámhosszon jelet fog kibocsátani. Minél több fáklya

hibridizálódik az amplikonhoz, annál nagyobb fluoreszcens jel keletkezik. Az az idő, amely alatt a fluoreszcens jel eléri a meghatározott küszöbértéket, arányos a kiindulási HIV-1 koncentrációval. Minden reakció rendelkezik egy belső kalibrátorral/belső kontrollal (IC), amely ellenőrzi a minta feldolgozásában, az amplifikációban és a detektálásban előforduló eltéréseket. A minta koncentrációját a Panther rendszer szoftvere határozza meg az egyes reakciók HIV-1 és IC jeleinek felhasználásával és a kalibrációs adatokkal való összehasonlításával.

## Figyelmeztetések és óvintézkedések

- A. *In vitro* diagnosztikai használatra.
- B. Az érvénytelen eredmények kockázatának csökkentése érdekében a vizsgálat elvégzése előtt figyelmesen olvassa el a teljes használati utasítást és a *Panther System kezelői kézikönyvét*.

## Laboratóriumhoz kapcsolódó

-  C. VIGYÁZAT: A jelen vizsgálat kontrolljai humán plazmát tartalmaznak. A plazma negatív hepatitis B felszíni antigénre (HBsAg), HCV elleni antitestekre, HIV-1 és HIV-2 elleni antitestekre és HIV-antigénre, ha az USA Élelmiszer- és Gyógyszerügyi Hatósága (US Food and Drug Administration) által engedélyezett eljárásokkal vizsgálják. Ezenkívül a plazma nem reagál a HCV RNS-re és a HIV-1 RNS-re, amikor engedélyezett nukleinsav-tesztekkel, egyesített mintákon vizsgálják. Minden emberi vérből származó anyagot potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és az általános óvintézkedéseknek megfelelően kell kezelni (35-37).
- D. Ezt az eljárást csak az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat használatára és a potenciálisan fertőző anyagok kezelésére megfelelően kiképzett személyzet végezheti. Kiömlés esetén azonnal fertőtlenítsse a megfelelő helyszíni eljárások szerint.
- E. Kizárólag a gyártótól beszerzett vagy a gyártó által előírt egyszer használatos laboratóriumi eszközök használhatók.
- F. Tartsa be a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipettázzon szájon át. A kijelölt munkaterületeken tilos az étkezés, ivás vagy dohányzás. A minták és a készletek reagenseinek kezelése során viseljen egyszer használatos, púdermentes kesztyűt, védőszemüveget és laborköpenyt. A minták és a készletek reagenseinek kezelését követően a kezét alaposan meg kell mosni.
- G. A munkafelületeket, pipettákat és egyéb felszereléseket rendszeresen dekontaminálni kell 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal.
- H. A helyi, állami és szövetségi előírásoknak megfelelően ártalmatlanítson minden olyan anyagot, amely érintkezésbe került a mintákkal és a reagensekkel (35-38). Alaposan tisztítsa és fertőtlenítsse az összes munkafelületet.
- I. A kontrollok nátrium-azidot tartalmaznak tartósítószerként. Ne használjon fémcsövet a reagensek átviteléhez. Ha a nátrium-azidvegyületeket tartalmazó oldatokat vízvezetékrendszerben ártalmatlanítják, azokat hígítani kell, és bőséges mennyiségű folyóvízzel át kell öblíteni. Ezek az óvintézkedések a lerakódások felhalmozódásának elkerülése érdekében javasoltak a fémcsővezetékben, amelyekben robbanásveszélyes állapotok alakulhatnak ki.

- J. A molekuláris laboratóriumok helyes szabványos gyakorlatai közé tartozik a környezeti monitorozás. A laboratóriumi környezet ellenőrzésére a következő eljárás javasolt.
1. Vegyen egy vattapálcát, és párosítsa az Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) csővel.
  2. Címkézzen fel minden SAT eszközt megfelelően.
  3. Töltsön meg minden SAT-ot 1 mL Aptima mintahígítóval.
  4. A felületi minták gyűjtéséhez nedvesítsen meg enyhén egy tampont nukleázmentes deionizált vízzel.
  5. A kívánt felületet felülről lefelé irányuló függőleges mozdulatokkal törölje át. Forgassa el a pálcát körülbelül fél fordulatot, miközben a helyet áttörli.
  6. Azonnal helyezze a kenetmintát a csőbe, és óvatosan forgassa meg a pálcát a hígítóban, hogy kivonja a lehetséges felvett anyagokat. Nyomja a tampont a szállítócső oldalára, hogy a lehető legtöbb folyadékot kinyerje. Dobja ki a tampont, és zárja le a csövet.
  7. Ismételje meg a lépéseket a többi kenetmintával.
  8. Tesztelje a kenetet molekuláris vizsgálattal.

### Mintához kapcsolódó

- K. A minták fertőzőek lehetnek. A vizsgálat végzése során alkalmazzon általános óvintézkedéseket (35–37). A megfelelő kezelési és ártalmatlanítási módszereket a helyi előírásoknak megfelelően kell meghatározni (38). Ezt az eljárást csak az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat használatára megfelelően kiképzett és a fertőző anyagok kezelésében jártas személyzet végezheti.
- L. A minta épségének megőrzése érdekében a minta szállítása során tartsa fenn a megfelelő tárolási körülményeket. A minták stabilitását az ajánlottól eltérő szállítási körülmények között nem értékelték.
- M. A minták kezelési lépései során óvakodjon a keresztszennyezéstől. Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolak terjedése miatti szennyeződést, amikor a mintákat kilazítja vagy kinyitja. A minták rendkívül nagy mennyiségű organizmust tartalmazhatnak. Ügyeljen arra, hogy a mintatartályok ne érintkezzenek egymással, és ne vigye az elhasznált anyagokat a minták fölé, amikor kidobja azokat. Ha megérinti a vizsgálati mintát, cserélje le a kesztyűjét.

### Vizsgálathoz kapcsolódó

- N. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat kvantitatív eredményeit plazmával értékelték. A szérum nem használható kvantitatív eredmény eléréséhez. A kvalitatív eredményeket mind a plazma, mind a szérum esetében értékelték.
- O. Ne használja a reagenskészletet, a kalibrátort vagy a kontrollokat a lejárató idő után.
- P. Ne cserélje fel, ne keverje vagy kombinálja a különböző törzstételszámú készletekből származó vizsgálati reagenseket. A vizsgálati folyadékok különböző tételszámúak lehetnek. A kontrollok és a kalibrátor különböző tételszámúak lehetnek.
- Q. Kerülje a reagensek mikrobiális vagy nukleázzal történő szennyeződését.
- R. Zárja le és tárolja az összes vizsgálati reagenst a megadott hőmérsékleten. A nem az előírt módon tárolt vizsgálati reagensek befolyásolhatják a vizsgálat teljesítőképességét. További információkért lásd: *Reagenstárolási és -kezelési előírások* és *A Panther System teszteljárás*.

- S. Ne kombináljon semmilyen vizsgálati reagenst vagy folyadékot külön utasítás nélkül. Ne töltsse utána a reagenseket vagy folyadékokat. A Panther rendszer ellenőrzi a reagensek szintjét.
- T. A készletben lévő egyes reagensek R- és S-mondatokkal vannak ellátva.

**Megjegyzés:** A veszélyjelző mondatok megfelelnek az EU biztonsági adatlapokon (SDS) alkalmazott osztályoknak. Az Ön régiójában használt veszélyjelző információkat lásd a weboldalunkon – [www.hologicsts.com](http://www.hologicsts.com) – található biztonsági adatlap könyvtár régióspecifikus biztonsági adatlapján (SDS).

**HIV VL készlet kontrollok****Nátrium-azid 0,2%**

Humán szérum 95–100%

**FIGYELMEZTETÉS**

H312 - Bőrrel érintkezve ártalmas

H412 - Hosszan tartó ártalmas hatással van a vízi élővilágra.

P273 - Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását


P280 - Viseljen védőkesztyűt/védő ruházatot/szemvédőt/arcvédőt.

## Reagenstárolási és -kezelési előírások

- A. A következő táblázat a reagensek, a kontrollok és a kalibrátor tárolási körülményeit és stabilitását mutatja be.

Reagens	Bontatlan tárolás	Nyitott készlet (feloldott)	
		Tárolás	Stabilitás
qHIV-1 Amplification Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHIV-1 Amplification Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap <sup>a</sup>
qHIV-1 Enzyme Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHIV-1 Enzyme Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap <sup>a</sup>
qHIV-1 Promoter Reagent	2 °C és 8 °C között		
qHIV-1 Promoter Reconstitution Solution	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap <sup>a</sup>
qHIV-1 Target Capture Reagent	2 °C és 8 °C között	2 °C és 8 °C között	30 nap <sup>a</sup>
qHIV-1 NC CONTROL – (negatív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 20 órán belül felhasználandó
qHIV-1 LPC CONTROL + (alacsony pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 20 órán belül felhasználandó
qHIV-1 HPC CONTROL + (magas pozitív kontroll)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 20 órán belül felhasználandó
qHIV-1 PCAL (pozitív kalibrátor)	-15 °C és -35 °C között	15 °C és 30 °C között	Egyszer használatos üveg 20 órán belül felhasználandó

<sup>a</sup> Amikor a reagenseket kivesszük a Panther rendszerből, azonnal vissza kell helyezni őket a megfelelő tárolási hőmérsékletű helyre.

- B. A fel nem használt feloldott reagenseket és a célmolekula-megkötő reagenst (TCR) ki kell dobni 30 nap után vagy a törzstétel lejáratási ideje után, amelyik hamarabb következik be.
- C. A Panther rendszer fedélzetén tárolt reagensek 72 órás fedélzeti stabilitással rendelkeznek. A reagensek akár 5 alkalommal is betölthetők a Panther rendszerbe. A Panther rendszer minden egyes alkalommal naplózza a reagensek betöltését.
- D. A kalibrátor felolvasztása után az oldatnak tisztának kell lennie, azaz nem lehet zavaros és nem tartalmazhat csapadékot.
-  E. A promoter reagens és a feloldott promoter reagens fényérzékeny. A tárolás és a felhasználásra való előkészítés során védje ezeket a reagenseket a fénytől.

## Mintavétel és -tárolás

**Megjegyzés:** Minden mintát kezeljen úgy, mintha potenciálisan fertőző ágenseket tartalmazna. Alkalmazzon általános óvintézkedéseket.

**Megjegyzés:** A minta kezelési lépései során ügyeljen a keresztszennyezés elkerülésére. Például dobja ki a használt anyagot anélkül, hogy nyitott csöveken vinné át.

**Megjegyzés:** Csak műanyag másodlagos csövek tárolása ajánlott.

A következő üveg- vagy műanyag csövekbe levett teljes vérminták használhatók:

Kvantitatív mérésekhez:

- EDTA vagy savas citrát-dextróz (ACD) antikoagulánsokat tartalmazó csövek vagy
- Plazma előkészítő csövek (PPT-k).

Kvalitatív meghatározáshoz:

- EDTA vagy ACD antikoagulánsokat tartalmazó csövek vagy
- PPT-k, vagy
- Szérumcsövek, vagy
- Szérumszeparátor csövek (SST-k).

Szérum esetében a további feldolgozás előtt hagyja, hogy a vérrög kialakuljon.

#### A. Mintavétel

A teljes vér 2 °C és 30 °C között tárolható, és a mintavételt követő 24 órán belül centrifugálni kell. Válassza el a plazmát vagy szérumot a pelletált vörösvértestektől a gyártó által a használt csőre vonatkozóan megadott utasításokat követve. A plazma vagy szérum vizsgálható a Panther rendszerben egy elsődleges csőben, vagy átvihető egy másodlagos csőbe, például az Aptima minta alikvot csőbe. Az 500 µL-es reakciótér fogat eléréséhez a plazma vagy szérum minimális térfogata az elsődleges gyűjtőcsövek esetében legfeljebb 1200 µL, a másodlagos csövek esetében pedig 700 µL. A következő táblázat meghatározza az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusok holt térfogati követelményeit.

Cső (méret és típus)	Holt térfogat a Panther rendszeren
Aptima Sample Aliquot Tube (SAT)	0,2 mL
12x75 mm	0,5 mL
13x100 mm	0,5 mL
13x100 mm géllal	0,3 mL
16x100 mm géllal	0,7 mL

Ha nem tesztelik azonnal, a plazma és a szérum az alábbi előírásoknak megfelelően tárolható. Ha másodlagos csőbe helyezük át, a plazma -20 °C-on vagy -70 °C-on, a szérum pedig -20 °C-on fagyasztható. Az eredmény befolyásolásának elkerülése érdekében ne lépje túl a három fagyasztási-felolvasztási ciklust. Ne fagyassza le a mintákat az EDTA, ACD vagy szérum elsődleges gyűjtőcsövekben.

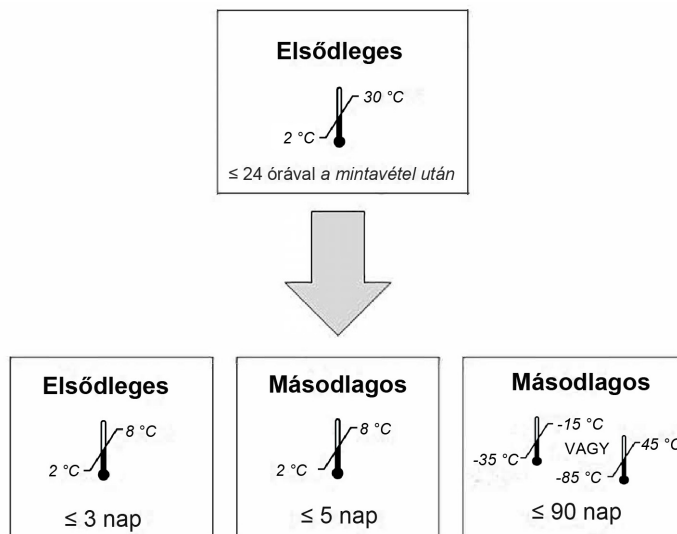
#### B. A minta tárolási feltételei

##### 1. EDTA és ACD plazmaminták

A centrifugált plazmát tartalmazó elsődleges csövek a mintavételt követően legfeljebb 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók (1. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a plazma hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (1. ábra, alsó dobozok):

- Az elsődleges gyűjtőcsőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 3 napig,
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on vagy -70 °C-on legfeljebb 90 napig.



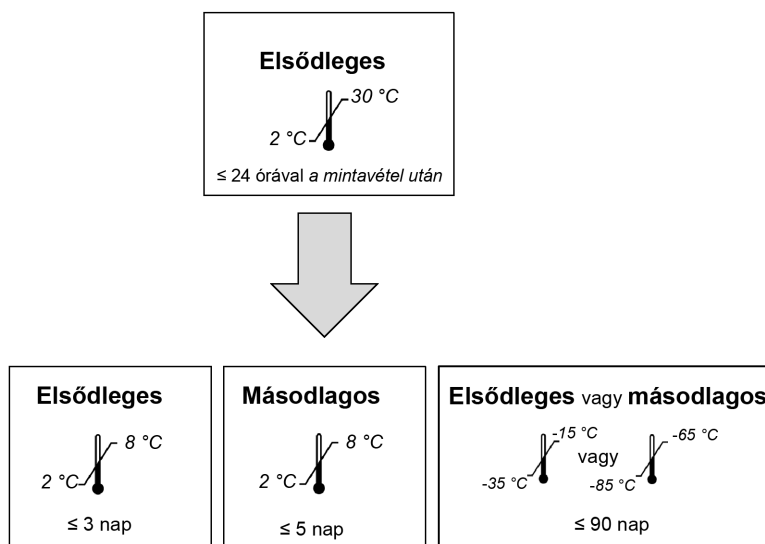


1. ábra. Az EDTA/ACD csövek tárolási körülményei

## 2. PPT minták

A centrifugált plazmát tartalmazó elsődleges csövek a mintavételt követően legfeljebb 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók (2. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a plazma hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (2. ábra, alsó dobozok):

- A PPT-ben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 3 napig, vagy
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A PPT-ben vagy a másodlagos csőben -20 °C-on vagy -70 °C-on legfeljebb 90 napig

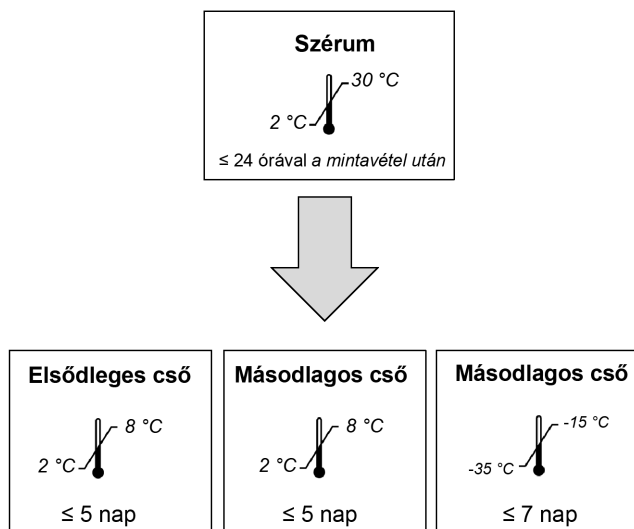


2. ábra. A PPT-k tárolási körülményei

## 3. Szérumcső minták

A centrifugált szérumot tartalmazó szérum csövek a mintavételt követően legfeljebb 24 órán át 2 °C és 30 °C között tárolhatók (3. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a szérum hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (3. ábra, alsó dobozok):

- A szérumban 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben -20 °C-on legfeljebb 7 napig.

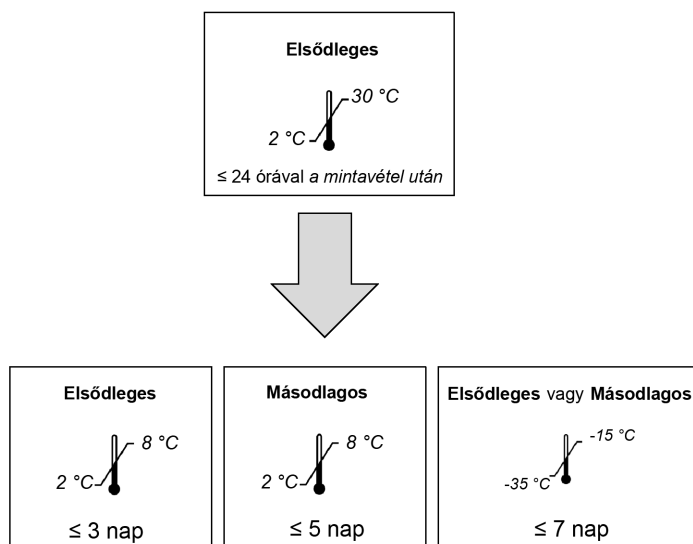


3. ábra. A szérumban tárolási körülményei

4. SST minták

A centrifugált szérumban tartalmazó szérumban csővek a mintavételt követően legfeljebb 24 óráig 2 °C és 30 °C között tárolhatók (4. ábra, felső doboz). 24 óra elteltével a szérumban hosszabb ideig tárolható az alábbi feltételek valamelyike mellett (4. ábra, alsó dobozok):

- A SST-ben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben 2 °C és 8 °C között legfeljebb 5 napig, vagy
- A másodlagos csőben vagy SST-ben -20 °C-on legfeljebb 7 napig.




4. ábra. SST-k tárolási körülményei

### C. A plazmaminták hígítása

A plazmamintát fel lehet hígítani a SAT vagy a másodlagos csőben a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz. További információkért lásd: *A Panther System teszteljárás*, E.6 lépés.

**Megjegyzés:** Ha a mintát hígítják, a hígítás után azonnal tesztelni kell. Ne fagyassza le a hígított mintát.

 A plazmaminták hígítása csak kvantitatív eredményekhez használható. Diagnosztikai eredményekhez ne hígítsa a plazmamintákat.

### Minták a Panther System fedélzetén

A mintákat a Panther rendszerben legfeljebb 8 órán keresztül lehet fedetlenül hagyni. A minták kivehetők a Panther rendszerből és tesztelhetők, amennyiben a fedélzetén töltött teljes idő nem haladja meg a 8 órát a minta Panther rendszer általi pipettázása előtt.

### Vizsgálati minta szállítása

Tartsa fenn a minták tárolási körülményeit a *Mintavétel és -tárolás* című fejezetben leírtak szerint.

**Megjegyzés:** A mintákat a vonatkozó nemzeti, nemzetközi és regionális szállítási előírásoknak megfelelően kell szállítani.

## Panther System

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálatához szükséges reagensek a Panther rendszerhez az alábbiakban találhatóak. A reagensek neve mellett a reagensazonosító szimbólumok is fel vannak tüntetve.

### Mellékelt reagensek és anyagok

**Megjegyzés:** A reagensekkel kapcsolatos esetleges veszélyekre és óvintézkedésekre vonatkozó információkért tekintse meg a [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds) oldalon található biztonsági adatlap-könyvtárat (Safety Data Sheet Library).

**Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Kit**, 100 teszt, Kat. PRD-03000 sz. (1 vizsgálati doboz, 1 kalibrátorkészlet és 1 kontrollkészlet)

További kalibrátorok és vezérlők külön rendelhetők. Lásd a megfelelő katalógusszámokat alább.

#### Aptima HIV-1 Quant Dx Assay Box

(kézhezvétel után 2 °C és 8 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
<b>A</b>	<b>qHIV-1 Amplification Reagent</b> <i>Pufferoldatban szárított, nem fertőző nukleinsavak.</i>	1 üveg
<b>E</b>	<b>qHIV-1 Enzyme Reagent</b> <i>Reverz transzkriptáz és RNS-polimeráz HEPES pufferoldatban szárítva.</i>	1 üveg
<b>PRO</b>	<b>qHIV-1 Promoter Reagent</b> <i>Pufferoldatban szárított, nem fertőző nukleinsavak.</i>	1 üveg
<b>AR</b>	<b>qHIV-1 Amplification Reconstitution Solution</b> <i>Glicerint és tartósítószeret tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 7,2 mL
<b>ER</b>	<b>qHIV-1 Enzyme Reconstitution Solution</b> <i>Felületaktív anyagot és glicerint tartalmazó, HEPES-sel pufferelt oldat.</i>	1 x 5,8 mL
<b>PROR</b>	<b>qHIV-1 Promoter Reconstitution Solution</b> <i>Glicerint és tartósítószeret tartalmazó vizes oldat.</i>	1 x 4,5 mL
<b>TCR</b>	<b>qHIV-1 Target Capture Reagent</b> <i>Nukleinsavak szilárd fázist, nem fertőző nukleinsavakat és belső kalibrátort tartalmazó pufferelt sóoldatban.</i>	1 x 72,0 mL
	<b>Rekonstitúciós feltétek</b>	3
	<b>Törzstétel vonalkódos lapja</b>	1 lap

**Aptima HIV-1 Quant Dx Calibrator Kit** (Kat. sz. PRD-03001)  
(kézhezvétel után -15 °C és -35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
PCAL	<b>qHIV-1 Positive Calibrator</b> <i>Transzkriptum puffereelt oldatban.</i>	5 x 2,5 mL
	<b>Kalibrátor vonalkódcímke</b>	—

**Aptima HIV-1 Quant Dx Controls Kit** (Kat. sz. PRD-03002)  
(kézhezvétel után -15 °C és -35 °C között kell tárolni)

Szimbólum	Összetevő	Mennyiség
NC	<b>qHIV-1 Negative Control</b> <i>HIV-1 negatív defibrinált humán plazma, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 1,5 mL
LPC	<b>qHIV-1 Low Positive Control</b> <i>Nem fertőző HIV-1 Armored RNS defibrinált emberi plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 1,5 mL
HPC	<b>qHIV-1 magas pozitív kontroll</b> <i>Nem fertőző HIV-1 Armored RNS defibrinált emberi plazmában, amely gentamicint és 0,2% nátrium-azidot tartalmaz tartósítószerként.</i>	5 x 1,5 mL
	<b>Kontroll vonalkódcímke</b>	—

**Szükséges, de külön beszerezhető anyagok**

**Megjegyzés:** Ellenkező megjegyzés hiányában a Hologic által értékesített anyagok mellett fel van tüntetve a katalógusszám.

<b>Anyag</b>	<b>Kat. sz.</b>
Panther System	—
Panther Run Kit for Real Time Assays (csak valós idejű vizsgálatokhoz)	PRD-03455 (5000 teszt)
<i>Aptima Assay Fluids Kit (más néven univerzális folyadékkészlet)</i> <i>tartalma: Aptima Wash Solution, Aptima Buffer for Deactivation Fluid és</i> <i>Aptima Oil Reagent</i>	303014 (1000 teszt)
<i>Többcsöves egységek (MTU-k)</i>	104772-02
<i>Panther Waste Bag Kit</i>	902731
<i>Panther Waste Bin Cover</i>	504405
vagy Panther System Run Kit	303096 (5000 teszt)
<i>(ha a nem valós idejű TMA vizsgálatokat valós idejű TMA vizsgálatokkal párhuzamosan végzik)</i> <i>MTU-kat, hulladékzsákokat, hulladékgyűjtő fedelet, automatikus érzékelőt és vizsgálati</i> <i>folyadékokat tartalmaz.</i>	
Hegyek, 1000 µL, vezetőképes, folyadékérzékelő	10612513 (Tecan)
Fehéritőszer, 5%–7%-os (0,7M–1,0M) nátrium-hipoklorit-oldat	—
Eldobható, púdermentes kesztyű	—
Nem átszűrhető cserekupakok	103036A
Reagens cserekupakok	
<i>Amplifikációs, enzim-, és promotor reagens rekonstitúciós palackok</i>	<i>CL0041 (100 kupak)</i>
<i>TCR palack</i>	<i>CL0040 (100 kupak)</i>
Műanyag hátlappal borított laboratóriumi terítő	—
Szöszmentes törölkendők	—
Pipettor	—
Hegyek	—
Elsődleges gyűjtőcső (ACD, EDTA, PPT, SST, szérum) opciók:	
<i>13 mm x 100 mm</i>	—
<i>13 mm x 75 mm</i>	—
<i>16 mm x 100 mm</i>	—
Centrifuga	—
Vortex keverő	—

## Opcionális anyagok

Anyag	Kat. sz.
Másodlagos cső opciók:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima Specimen Aliquot Tubes (SAT) (100-as csomag)</i>	503762
Szállítócső-kupak (100-as csomag)	504415
<i>kupak a SAT-hoz</i>	
Aptima Specimen Diluent	PRD-03003
Aptima Specimen Diluent Kit	PRD-03478
<i>vizsgálatiminta-hígítót, 100 SAT-ot és 100 kupakot tartalmaz</i>	
Transzferpipetták	—
A kereskedelembe kapható panelek például:	—
<i>HIV-1 a Quality Control for Molecular Diagnostics (Minőségellenőrzés a Molekuláris Diagnosztikában, QCMD) vagy a College of American Pathologists (Amerikai Patológusok Kollégiuma, CAP) HIV vírusterhelés felmérési paneljéből vagy a SeraCare ACCURUN HIV panelekből.</i>	
Vattapálcák	—
Csőbillegetető	—

## A Panther System teszteljárás

**Megjegyzés:** A további eljárásleírásokat lásd a Panther System kezelői kézikönyvében.

### A. A munkaterület előkészítése

1. Tisztítsa meg a reagensek készítéséhez használt munkafelületeket. Törölje le a munkafelületeket 2,5–3,5%-os (0,35–0,5 M) nátrium-hipoklorit oldattal. Hagyja, hogy a nátrium-hipoklorit oldat legalább 1 percig érintkezzen a felületekkel, majd öblítse le deionizált (DI) vízzel. Ne hagyja megszáradni a nátrium-hipoklorit oldatot. Takarja le a reagensek és minták készítéséhez használt munkafelületeket tiszta, műanyag hátlappal borított, nedvszívó laboratóriumi terítővel.
2. Tisztítson meg egy külön munkafelületet, ahol a minták előkészítése történik. A fent leírt eljárást alkalmazza (A.1. lépés).
3. Tisztítson meg minden pipettort. A fent leírt eljárást alkalmazza (A.1. lépés).

### B. Kalibrátor és kontrollok előkészítése

Hagyja, hogy a kalibrátor és a kontrollok elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet a feldolgozás előtt az alábbiak szerint:

1. Vegye ki a kalibrátort és a vezérlőket a tárolóból (-15 °C és -35 °C között), és helyezze 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletű helyre. A felolvasztás során óvatosan fordítsa meg az egyes kémcsöveket, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a kémcső tartalma teljesen felolvadt.

**Választási lehetőség.** A kalibrátort és a kontrollt tartalmazó csöveket egy csőbillegetetőre lehet helyezni, hogy alaposan összekeveredjenek. Használat előtt győződjön meg arról, hogy a kémcső tartalma teljesen felolvadt.

**Megjegyzés:** Kerülje a túlzott habképződést a kalibrátor és a kontrollok megfordításakor. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.

2. Amikor a kémcső tartalma felolvadt, törölje szárazra a kémcső külsejét egy tiszta, száraz, eldobható törlőkendővel.
3. A szennyeződés elkerülése érdekében ne nyissa ki a csöveket ekkor.

### C. Reagens feloldása/új készlet előkészítése

**Megjegyzés:** A reagens feloldását a Panther rendszeren végzett bármilyen munka megkezdése előtt el kell végezni.

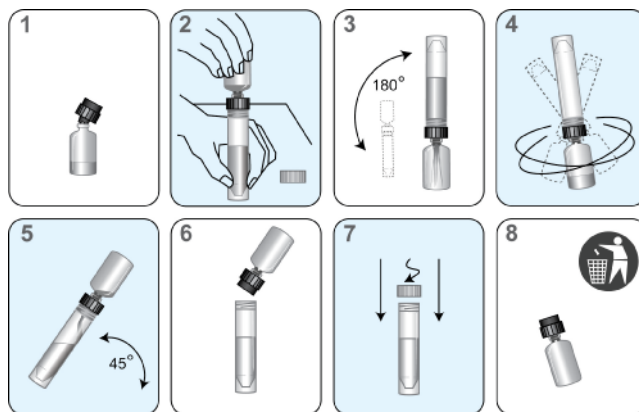
1. A célmolekula-megkötő reagens (TCR) elkészítéséhez hajtsa végre a következőket:
  - a. Vegye ki a TCR-t a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között). Ellenőrizze a TCR palackon lévő tételszámot, hogy az megegyezik-e a törzstétel vonalkód-lapján szereplő tételszámmal.
  - b. Azonnal rázza fel 10-szer erőteljesen a TCR palackot. Hagyja a TCR palackot legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni. Ez idő alatt legalább 10 percenként meg kell forgatni és fel kell fordítani a TCR palackot.

**Választási lehetőség.** A TCR palack az alábbi utasításokat követve készíthető el csőbilligetetővel: Vegye ki a TCR-t a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között), és azonnal rázza fel erőteljesen 10-szer. Helyezze a TCR-palackot egy csőbilligetetőre, és hagyja a TCR-t legalább 45 percig 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékleten melegedni.
  - c. Használat előtt győződjön meg arról, hogy az összes csapadék oldatban van, és a mágneses részecskék szuszpendálva vannak.
2. Az amplifikációs, enzim- és promoter reagens feloldásához végezze el a következőket:
  - a. Vegye ki a liofilizált reagenset és a megfelelő rekonstitúciós oldatokat a tárolóból (2 °C és 8 °C között). Párosítsa össze az egyes rekonstitúciós oldatokat a megfelelő liofilizált reagenssel.
  - b. Győződjön meg arról, hogy a rekonstitúciós oldat és a liofilizált reagens címkéje azonos színű. A törzstétel vonalkódos lapja segítségével ellenőrizze, hogy megfelelő reagenset párosított-e össze.
    - i. Nyissa ki a liofilizált reagenst tartalmazó üveget a fémtömítés és a gumidugó eltávolításával.
    - ii. Határozott mozdulattal illessze a rekonstitúciós feltét bevágott végét (fekete) az üvegre (5. ábra, 1. lépés).
    - iii. Nyissa fel a megfelelő rekonstitúciós oldatos palackot, és helyezze a kupakját tiszta, lefedett munkafelületre.
    - iv. Helyezze a rekonstitúciós oldatos palackot stabil felületre (pl. munkaasztalra). Ezután fordítsa meg a liofilizált reagenspalackot a rekonstitúciós oldatos üveg fölé, és erősítse a feloldó gallért a rekonstitúciós oldatos palackhoz (5. ábra, 2. lépés).
    - v. Lassan fordítsa meg az összeszerelt palackokat (az oldatos palackhoz csatlakoztatott üveg), hogy az oldat lefolyjon az üvegbe (5. ábra, 3. lépés).
    - vi. Vegye fel az összeszerelt palackokat, és legalább 10 másodpercig forgassa őket (5. ábra, 4. lépés).
    - vii. Várjon legalább 30 percet, amíg a liofilizált reagens oldatba kerül.
    - viii. Miután a liofilizált reagens oldatba került, legalább 10 másodpercig forgassa az összeállított palackokat, majd az üvegben lévő oldatot az alapos keverés érdekében enyhén hintáztassa előre-hátra.
  - c. Lassan döntse meg újra az összeszerelt palackokat, hogy az összes oldat vissza tudjon folyni a rekonstitúciós oldatos palackba (5. ábra, 5. lépés).



- d. Óvatosan vegye le a rekonstitúciós feltétet és a porüveget (5. ábra, 6. lépés).
- e. Helyezze vissza a palack kupakját. Írja fel a kezelő monogramját és a rekonstitúciós dátumot a címkére. (5. ábra, 7. lépés).
- f. Dobja ki a használt rekonstitúciós feltétet és porüveget (5. ábra, 8. lépés).

**Figyelmeztetés:** Reagensek feloldása során kerülje a túlzott habképződést. A hab zavarja a Panther rendszer szintérzékelő funkcióját.



5. ábra. Reagens rekonstitúciós eljárás

#### D. Reagensek elkészítése korábban elkészített reagensekhez

1. Vegye ki a korábban elkészített reagenst a tárolóhelyről (2 °C és 8 °C között).
2. Az előzőleg elkészített amplifikációs, enzim-, promoter reagenseknek és TCR reagenseknek a vizsgálat megkezdése előtt el kell érniük a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet.
3. Korábban elkészített TCR esetében a fenti C.1 lépést a rendszerbe töltés előtt hajtsa végre.
4. Az amplifikációs, enzim- és promoter reagenseket a rendszerbe töltés előtt alaposan keverje össze és fordítsa meg. A reagensek megfordításakor kerülje a túlzott habképződést.
5. A reagenspalackokat nem szabad utántölteni. A Panther rendszer felismeri és elutasítja az utántöltött palackokat.

#### E. Minta kezelése

1. Győződjön meg arról, hogy az elsődleges csövekben lévő feldolgozott mintákat vagy a másodlagos csövekben lévő hígítatlan mintákat megfelelően tárolták a következő rész szerint: "Mintavétel és -tárolás" 7. oldal.
2. Biztosítsa, hogy a fagyasztott minták alaposan felolvadjanak. A felolvasztott mintákat 3-5 másodpercig vortexelje, hogy alaposan összekeveredjenek.
3. Hagyja, hogy a minták a feldolgozás előtt elérjék a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet. További fedélzeti információkért lásd: *Minták a Panther System fedélzetén*.
4. Biztosítsa, hogy minden egyes elsődleges gyűjtőcső legfeljebb 1200 µL mintát, vagy minden egyes SAT legalább 700 µL mintát tartalmazzon. Az egyes elsődleges és másodlagos csőtípusokhoz szükséges holt térfogati követelmények meghatározásához tekintse meg a következő fejezetben található táblázatot: *Mintavétel*, 8. oldal. Ha a minta hígítása szükséges, további információkért lásd az alábbi E.6 lépést.
5. Közvetlenül a mintáknak a mintatartó állványba történő betöltése előtt centrifugálja az egyes mintákat 1000-3000 g-nél 10 percig. Ne távolítsa el a kupakokat. A csőben lévő buborékok megzavarhatják a Panther rendszer szintérzékelését.

Az állvány betöltésével és a kupakok eltávolításával kapcsolatos információkért lásd: *A rendszer előkészítése*, F.2 lépés.

6. Hígítsa a plazmamintát 1:3 arányban egy SAT-ban vagy 1:100 arányban egy másodlagos csőben.

A plazmamintát fel lehet hígítani egy másodlagos csőben a Panther rendszerrel történő vizsgálathoz.

- ⚠ A plazmaminták hígítása csak kvantitatív eredményekhez használható. Diagnosztikai eredményekhez ne hígítsa a plazmamintákat.

**Megjegyzés:** *Ha a mintát hígítják, a hígítás után azonnal tesztelni kell.*

- a. Kis térfogatú minták hígítása

A plazmaminták térfogata az Aptima Specimen Diluent segítségével növelhető a minimálisan szükséges térfogatra (700 µL). A legalább 240 µL plazmát tartalmazó mintákat két rész mintahígítóval (1:3) lehet hígítani az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 240 µL mintát a SAT-ba.
- ii. Adjon hozzá 480 µL Aptima Specimen Diluent mintahígítót.
- iii. Zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:3 arányban hígított minták a Panther rendszer 1:3 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther System kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezek a minták hígított mintaként lesznek megjelölve.

- b. Magas titerű minták hígítása

Ha egy minta eredménye a kvantitatív felső határérték felett van, a minta 99 rész Aptima Specimen Diluent mintahígítóval (1:100) hígítható az alábbiak szerint:

- i. Helyezzen 30 µL mintát a SAT-ba vagy egy másodlagos csőbe.
- ii. Adjon hozzá 2970 µL Aptima Specimen Diluent mintahígítót.
- iii. Zárja le a csövet.
- iv. Óvatosan fordítsa meg 5-ször, hogy összekeverje.

Az 1:100 arányban hígított minták a Panther rendszer 1:100 opciójával vizsgálhatók (további információkért lásd a *Panther System kezelői kézikönyvét*). A szoftver a hígítási tényező alkalmazásával automatikusan megadja a tiszta eredményt. Ezek a minták hígított mintaként lesznek megjelölve.

**Megjegyzés:** *Az ULoQ-nál nagyobb tiszta koncentrációjú hígított minták esetében az eredményeket tudományos jelöléssel kell közölni.*

## F. A rendszer előkészítése

1. Állítsa be a rendszert a *Panther System kezelői kézikönyv* és a *Megjegyzések az eljáráshoz* utasításai szerint. Ügyeljen arra, hogy megfelelő méretű reagensállványokat és TCR adaptereket használjanak.
2. Töltse be a mintákat a mintatartó állványba. Végezze el a következő lépéseket minden egyes mintacsövön (minta, és ha szükséges, kalibrátor és kontrollok):
  - a. Lazítsa meg az egyik mintacső kupakját, de még ne vegye le.

**Megjegyzés:** *Különösen ügyeljen arra, hogy elkerülje az aeroszolok terjedése miatti szennyeződést. Óvatosan lazítsa meg a minták kupakját.*

- b. Töltse be a mintatartó csövet a mintatartó állványba.
- c. Ismétlje meg a 2.a és 2.b lépést minden egyes fennmaradó minta esetében.
- d. Miután a mintákat betöltötte a mintatartó állványba, vegye le és dobja ki az egyes mintatartó állványokban lévő mintatartó csövek kupakjait. A szennyeződés elkerülése érdekében ne helyezzen kupakot más mintatartó állványokra vagy mintacsövekre.
- e. Ha szükséges, használjon új, eldobható transzferpipettát az esetleges buborékok vagy hab eltávolításához.
- f. Amikor az utolsó kupakot is eltávolította, töltse be a mintatartó állványt a mintabeviteli sorba.

**Megjegyzés:** Ha egyidejűleg más vizsgálatokat és mintatípusokat is futtat, rögzítse a mintarögzítőt, mielőtt a mintatartó állványt betöltené a mintabeviteli sorba.

- g. Ismétlje meg a 2.a–2.f lépéseket a következő mintatartó állványhoz.

## Megjegyzések az eljáráshoz

### A. Kalibrátor és kontrollok

1. A qHIV-1 pozitív kalibrátor, a qHIV-1 alacsony pozitív kontroll, a qHIV-1 magas pozitív kontroll és a qHIV-1 negatív kontroll csövek a Panther rendszerben a mintatartó állvány bármelyik pozíciójába és bármelyik mintabeviteli sorba betölthetők. A minták pipettázása akkor indul el, ha az alábbi feltételek egyike teljesül:
  - a. A kalibrátort és a kontrollokat jelenleg feldolgozza a rendszer.
  - b. A kalibrátorra és a kontrollokra vonatkozó érvényes eredményeket a rendszer regisztrálja.
2. Miután a kalibrátor- és kontrollcsöveket pipettázták és az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálati reagenskészlethez feldolgozták, a mintákat a kapcsolódó, feloldott készlettel legfeljebb 24 órán keresztül lehet vizsgálni, **kivéve, ha:**
  - a. A kalibrátor vagy a kontroll eredmények érvénytelenek.
  - b. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészletet eltávolítják a rendszerből.
  - c. A kapcsolódó vizsgálati reagenskészlet meghaladta a stabilitási határértékeket.
3. A kalibrátor és minden egyes kontrollcső egyszer használható. A cső többszöri használatára tett kísérletek feldolgozási hibákhoz vezethetnek.

### B. Púderes kesztyűk

Mint más reagensrendszerek esetében, az egyes típusú kesztyűkön található túlzott mennyiségű púder a felnyitott csövek szennyeződéséhez vezethet. Púdermentes kesztyűk használata javasolt.

## **Minőségellenőrzés**

A futtatást vagy a minta eredményét a kezelő érvénytelenítheti, ha a vizsgálat elvégzése során technikai, kezelői vagy műszeres nehézségeket észlelnek, és ezeket dokumentálják. Ebben az esetben a mintákat újra kell tesztelni.

### **A vizsgálat kalibrálása**

Az érvényes eredmények előállításához el kell végezni a vizsgálat kalibrálását. Minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe, egyetlen pozitív kalibrátort futtatnak le háromszorosan. Ha a kalibrálás megtörtént, az legfeljebb 24 óráig érvényes. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kalibrációra van szükség. A kezelő beolvassa a kalibrációs együtthatót, amely a reagenskészletekhez mellékelt törzstétel vonalkódos lapján található.

A feldolgozás során a kalibrátor elfogadásának kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Ha a kalibrátori ismétlések közül kettőnél kevesebb érvényes, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell tesztelni.

### **Negatív és pozitív kontrollok**

Érvényes eredmények előállításához egy sor vizsgálati kontrollt kell tesztelni. A negatív kontroll, az alacsony pozitív kontroll és a magas pozitív kontroll egy-egy példányát kell tesztelni minden alkalommal, amikor egy reagenskészletet betöltenek a Panther rendszerbe. Miután ez megtörtént, a kontrollok legfeljebb 24 óráig érvényesek. A Panther rendszer szoftvere figyelmezteti a kezelőt, ha kontrollokra van szükség.

A feldolgozás során a kontrollok elfogadásának kritériumait a Panther rendszer szoftvere automatikusan ellenőrzi. Az érvényes eredmények előállításához a negatív kontrollnak „Nem észlelt” eredményt, a pozitív kontrolloknak pedig az előre meghatározott paramétereken belüli eredményeket kell adniuk. Ha a kontrollok bármelyike érvénytelen eredményt ad, a szoftver automatikusan érvényteleníti a futtatást. Az érvénytelenített futtatásban lévő mintákat frissen készített kalibrátor és frissen készített kontrollok felhasználásával újra kell tesztelni.

### **Belső kalibrátor/belső kontroll**

Minden minta tartalmaz egy belső kalibrátort/belső kontrollt (IC). A feldolgozás során az IC elfogadási kritériumokat a Panther rendszer szoftver automatikusan ellenőrzi. Ha egy IC-eredmény érvénytelen, a mintaeredmény érvénytelenné válik. Minden érvénytelen IC-eredménnyel járó mintát újra kell vizsgálni, hogy érvényes eredmény szülessen.

A Panther rendszer szoftverét úgy tervezték, hogy pontosan ellenőrizze a folyamatokat, amikor az eljárásokat az ebben a használati utasításban és a *Panther System kezelői kézikönyvében megadott utasítások szerint hajtják végre*.

## Az eredmények értelmezése

**Megjegyzés:** Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat kvantitatív eredményeit plazmával értékelték. A szérum nem használható kvantitatív eredmény eléréséhez. A kvalitatív eredményeket mind a plazma, mind a szérum esetében értékelték.

A Panther rendszer automatikusan meghatározza a minták és a kontrollok HIV-1 RNS-koncentrációját az eredmények kalibrációs görbével való összehasonlításával. A HIV-1 RNS-koncentrációk másolat/mL-ben és  $\log_{10}$  másolat/mL-ben vannak megadva. Az eredmények értelmezését az 1. táblázat tartalmazza. Ha a hígított minták esetében az 1:3 vagy 1:100 hígítást használják, a Panther rendszer automatikusan kiszámítja a tiszta minta HIV-1 koncentrációját a hígított koncentráció és a hígítási tényező szorzatával, és a hígított mintákat hígítottként jelöli meg.

**Megjegyzés:** Hígított minták esetében a „Nem érzékelt” vagy „<30 érzékelt” eredmények a LoD (kimutatási határ) vagy LLoQ (mennyiségi meghatározás alsó határa) feletti, de ahhoz közeli koncentrációjú minta hígításával keletkezhetnek. Ha nem születik mennyiségi eredmény, ajánlott egy másik tiszta mintát levenni és megvizsgálni.

A Panther rendszer nem ad minőségi eredményt (azaz „reaktív” vagy „nem reaktív”) diagnosztikai célokra. A kezelőnek a bejelentett HIV-1 RNS-koncentrációt kvalitatív eredményként kell értelmeznie (1. táblázat). A „Nem érzékelt” eredményt mutató minták nem reagálnak a HIV-1 RNS-re. A „<30 érzékelt” eredményt tartalmazó minták vagy a lineáris tartományon belüli eredményeket tartalmazó minták azt jelzik, hogy a HIV-1 RNS-t kimutatták, és ezek a minták reaktívak a HIV-1 RNS-re.

1: táblázat: Eredmény értelmezése

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat jelentett eredménye		A HIV-1 RNS koncentráció értelmezése	Felhasználói diagnosztikai minőségi értelmezés <sup>c</sup>
másolat/mL <sup>a</sup>	Log <sub>10</sub> érték <sup>b</sup>		
Nem érzékelt	Nem érzékelt	HIV-1 RNS nem érzékelhető.	Nem reagál a HIV-1 RNS-re
<30 érzékelt <sup>e</sup>	<1,47	A HIV-1 RNS kimutatható, de a LLoQ alatti szinten.	Reagál a HIV-1 RNS-re
30 és 10 000 000 között	1,47 és 7,00 között	A HIV-1 RNS-koncentráció a 30 és 10 000 000 másolat/mL közötti lineáris tartományban van.	Reagál a HIV-1 RNS-re
>10 000 000	>7,00	A HIV-1 RNS-koncentráció a felső mennyiségi határérték (ULoQ) felett van.	Reagál a HIV-1 RNS-re
Érvénytelen <sup>d</sup>	Érvénytelen <sup>d</sup>	Az eredmény generálásában hiba történt. A mintát újra kell tesztelni.	Érvénytelen

<sup>a</sup> A HIV-1 RNS-re vonatkozó 3. nemzetközi szabvány (10/152) esetében a kópiák nemzetközi egységre (NE) történő átváltási tényezője 0,35 kópia/ NE.

<sup>b</sup> Az érték két tizedesjegyre van kerekítve.

<sup>c</sup> A diagnosztikus értelmezés nem hígított szérum- vagy plazmamintákból végezhető el.

<sup>d</sup> Az érvénytelen eredmények kék színű betűtípussal jelennek meg.

<sup>e</sup> A szoftver legalacsonyabb jelenthető értéke 30 másolat/mL. A vizsgálat legmagasabb LoD értéke 17,5 másolat/mL a G altípus esetében. Az összes altípus LoD-értékét lásd a 3. táblázatban. A WHO 3. Nemzetközi Szabvány (International Standard, B altípus) szerinti LoD a HIV-1 RNS-re 12,1 másolat/mL (lásd a 2. táblázatot).

**Korlátozások**

- A. Ezt a vizsgálatot csak az eljárásra kiképzett személyzet használhatja. A használati utasításban szereplő utasítások be nem tartása hibás eredményeket eredményezhet.
- B. A megbízható eredmények a megfelelő mintavétel, szállítás, tárolás és feldolgozás függvényei.
- C. Ezt a vizsgálatot kizárólag humán plazmával végzett kvantitatív vizsgálatra validálták.
- D. Ezt a vizsgálatot humán plazmával és szérummal végzett kvalitatív vizsgálatra validálták.
- E. Bár ritkán, de az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat primerei és/vagy próbái által lefedett, erősen konzervált vírusgenom régiókban bekövetkező mutációk a vírus alulkvantifikálását vagy kimutathatlanságát eredményezhetik.

## Teljesítőkéesség

### **Kimutatási határ (LoD) a WHO 3. HIV-1 nemzetközi szabványának alkalmazásával**

A kimutatási határ (LoD) a HIV-1 RNS azon koncentrációja, amely a CLSI EP17-A2 szerint 95%-os vagy nagyobb valószínűséggel kimutatható. (39). A LoD a WHO 3. HIV-1 nemzetközi standardjának (B altípus, NIBSC-kód: 10/152) HIV-1 negatív plazmában lévő hígításaiból álló vizsgálati panelek segítségével került meghatározásra. Minden hígításból harminc ismétlés került lefuttatásra három Panther rendszeren, három reagens tétel felhasználásával, így hígításonként összesen 90 ismétlés készült. A CLSI EP17-A2 szerint az előre jelzett kimutatási határhoz tartozó legmagasabb koncentrációjú reagenstétel eredményei LoD-ként vannak meghatározva, és a 2. táblázat mutatja be. A Probit-analízis alapján az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat LoD értéke 12 másolat/mL (35 NE/mL; 0,35 másolat = 1 NE).

2: táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat kimutatási határa a WHO 3. HIV-1 nemzetközi szabványának alkalmazásával

<b>Előre jelzett kimutatási határ</b>	<b>Koncentráció (másolat/mL)</b>
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

**Kimutatási határ a HIV-1 altípusok és csoportok között**

A HIV-1 M csoport (A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG altípusok), valamint az N és O csoport esetében hét panel került létrehozásra tenyésztett HIV-1 vírus vagy pozitív klinikai minták HIV-1 negatív emberi plazmába (0-40 másolat/mL) történő adalékolásával. Minden egyes paneltag 30 ismétlésben, két reagens-tétellel, összesen 60 ismétléssel került tesztelésre paneltagonként. A klinikai minták vagy tenyésztett víruskészletek koncentrációja összehasonlító vizsgálattal került meghatározásra. Probit-analízisre került sor az 50%-os és 95%-os előre jelzett kimutatási határértékek létrehozásához. A CLSI EP17-A2 (39) szerint az előre jelzett kimutatási határhoz tartozó legmagasabb koncentrációjú reagenstétel eredményei LoD-ként vannak meghatározva, és a 3. táblázat mutatja be őket.

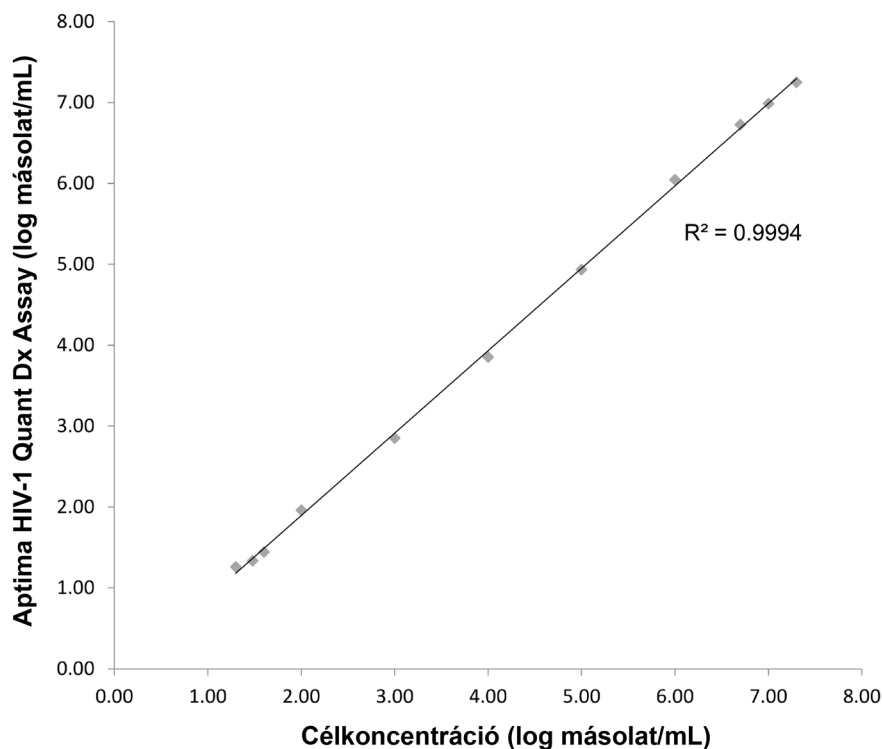
3: táblázat: Kimutatási határ a HIV-1 altípusok és csoportok között

Altípus/csoport	Előre jelzett kimutatási határ	Koncentráció (másolat/mL)
<b>A</b>	50%	3,0
	95%	12,3
<b>CRF01_AE</b>	50%	1,8
	95%	6,2
<b>CRF02_AG</b>	50%	3,4
	95%	15,4
<b>C</b>	50%	2,0
	95%	10,7
<b>D</b>	50%	3,7
	95%	14,0
<b>F</b>	50%	2,1
	95%	8,3
<b>G</b>	50%	3,1
	95%	17,5
<b>N</b>	50%	1,2
	95%	7,8
<b>O</b>	50%	1,8
	95%	8,0



## Lineáris tartomány

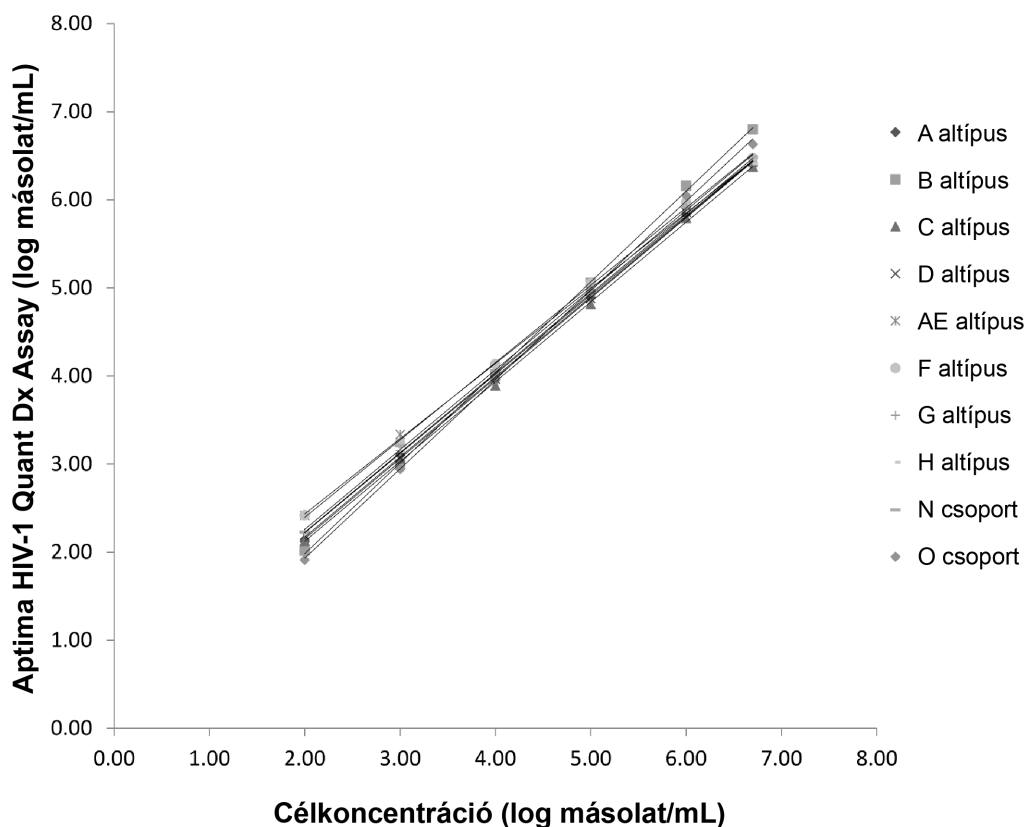
Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat lineáris tartományát a CLSI EP06-A szabványnak megfelelően HIV-1 negatív humán plazmában hígított, tenyésztett HIV-1 B altípusú vírusból álló panelek vizsgálatával állapították meg (40). A panelek koncentrációja 1,30 és 7,30 log másolat/mL között változott. A vizsgálatot hét Panther rendszerrel és az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat két reagens tételével végezték. Amint a 6. ábra szemlélteti, az Aptima Quant Dx vizsgálat linearitást mutatott a vizsgált tartományban.



**6. ábra. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat linearitása**

## Linearitás a HIV-1 altípusok és csoportok között

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat lineáris válasza az M csoportban (A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE altípusok), valamint az N és O csoportban az olyan panelek vizsgálatával nyert igazolást, amelyek 2,00 és 6,70 log másolat/mL közötti koncentrációjú pufferben hígított HIV-1 transzkriptumból álltak. A tesztelést négy Panther rendszeren és hat futtatáson végezték el. A linearitás a teljes vizsgált tartományban igazolódott (7. ábra).



7. ábra. Linearitás az M csoportban (A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE altípusok) valamint az N és O csoportban

## A mennyiségi meghatározás alsó határa a 3. HIV-1 WHO nemzetközi szabvány felhasználásával

A mennyiségi meghatározás alsó határa (LLoQ) a CLSI EP17-A2 szerint az a legalacsonyabb koncentráció, amelynél a HIV-1 RNS megbízhatóan, teljes hibán belül (TE) határozható meg (39). A TE kiszámítása a Westgard-modell segítségével történt ( $TE = |eltérés| + 2SD$ ). A mérések pontosságának és precizitásának biztosítása érdekében az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat meghatározott TE értéke 1 log másolat/mL volt (azaz LLoQ-nál a két mérés közötti 1 log másolat/mL-nél nagyobb különbség statisztikailag szignifikáns).

A LLoQ-t a WHO 3. HIV-1 nemzetközi standardjának (B altípus, NIBSC-kód: 10/152) HIV-1 negatív plazmában lévő hígításaiból álló vizsgálati panelek segítségével határozták meg. A CLSI EP17-A2 szerint a paneleket három reagenstétellel tesztelték, minden egyes tétel esetében 30 ismétlésben, 23 futtatásból. Az eredményeket a 4. táblázat mutatja. A legmagasabb LLoQ az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálattal tesztelt három tétel esetében a 3. HIV-1 WHO nemzetközi standardot alkalmazva 15 másolat/mL (1,17 log másolat/mL). (5. táblázat).

4: táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat LLoQ-jának meghatározása a WHO 3. HIV-1 nemzetközi szabványának alkalmazásával

Reagenstétel	Célkoncentráció (log másolat/mL)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log másolat/mL)	SD (log másolat/mL)	Eltérés  (log másolat/mL)	Számított TE (log másolat/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
1,24		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
	1,24	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=standard deviáció

5: táblázat: A LLoQ összefoglalása a 3. HIV-1 WHO nemzetközi szabvány felhasználásával (3 reagenstétel)

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

## A LLoQ ellenőrzése a HIV-1 altípusok és csoportok között

Az LLoQ-t a HIV-1 altípusok és csoportok esetében a CLSI EP17-A2 szerint ellenőriztük (39). Az egyes HIV-1 M csoportokra (A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG altípusok), valamint az N és O csoportokra vonatkozó panelek úgy készültek, hogy az egyesített HIV-1 negatív emberi plazmát természetes úton fertőzött klinikai mintákkal vagy klinikai izolátumokkal adalékolták. A vizsgálat paneltagonként összesen 30 ismétlésből állt. A 6. táblázat adatai az egyes altípusok vagy csoportok legalacsonyabb koncentrációját mutatják, amelynél a TE kevesebb mint 1 log másolat/mL volt. Az összes vizsgált altípus és csoport esetében a legmagasabb LLoQ 30 másolat/mL volt; ezért ez a magasabb érték került kiválasztásra az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat LLoQ-jának.

6: táblázat: Az LLoQ ellenőrzése HIV-1 altípus vagy csoport szerint

Panel	LLoQ (másolat/mL)
A altípus	30
CRF01_AE altípus	10
CRF02_AG altípus	30
B altípus	10
C altípus	30
D altípus	15
F altípus	15
G altípus	30
N csoport	10
O csoport	15

## Pontosság

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat pontosságának felmérése érdekében három kezelő három reagenstétel felhasználásával három Panther rendszeren 20 napon keresztül tesztelt egy olyan panelt, amelyet tenyésztett HIV-1 B altípusú vírus HIV-1 negatív plazmába történő adalékolásával állítottak elő (7. táblázat). A panel egy HIV-1 negatív és nyolc HIV-1 pozitív tagból állt. A klinikai minták vagy tenyésztett víruskészletek koncentrációja összehasonlítható vizsgálattal került meghatározásra.

7: táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat pontossága

Érvényes ismétlések száma	Átlagos koncentráció (log másolat/mL)	Műszerek között		Kezelők között		Tételek között		Futtatások között		Futáson belül		Összesen	
		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 = variációs együttható, SD = standard deviáció

<sup>a</sup>Ez a paneltag 1:3 arányban lett hígítva a minta hígítójával, és a hígított minta pontosságának értékelése céljából tesztelve.

**Megjegyzés:** Az egyes tényezőkből eredő változékonyság számszerűen negatív lehet, ami akkor fordulhat elő, ha az e tényezőkből eredő változékonyság nagyon kicsi. Ilyenkor SD=0 és CV=0%. A vizsgált ismétlések száma minden panel esetében 162 volt; csak a numerikus értékkel rendelkező ismétlések kerültek elemzésre.

## Potenciálisan interferáló anyagok

Értékelésre került az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat érzékenysége az endogén anyagok emelkedett szintje és a HIV-1 fertőzöttek számára gyakran felírt gyógyszerek által okozott interferenciával szemben. HIV-1 negatív humán plazmaminták és 3 log másolat/mL HIV-1 RNS-koncentrációig adalékolt minták vizsgálatára került sor.

Albumin (90 mg/mL), hemoglobin (5 mg/mL), trigliceridek (30 mg/mL) vagy nem konjugált bilirubin (0,2 mg/mL) jelenléte nem okozott interferenciát az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat teljesítményében.

A 8. táblázat által felsorolt exogén anyagok jelenlétében, a  $C_{max}$  (humán plazma) legalább háromszorosát elérő koncentrációban nem volt megfigyelhető interferencia az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat teljesítményében.

8: táblázat: Exogén anyagok

Exogén anyagkészlet	Tesztelt exogén anyagok
1	Lopinavir, indinavir, szakinavir, ritonavir, nelfinavir-mezilát, darunavir, amprenavir, atazanavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, klaritromicin, amfotericin B
3	Tenofovir-diszoproxil-fumarát, adefovir-dipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavir-szulfát, didanozin, zidovudin, lamivudin, sztavudin, entekavir, telbivudin, emtricitabin
5	Paroxetin HCl, fluoxetin, szertralin
6	Ganciklovir, valaciklovir, aciklovir, rifampin/rifampicin, etambutol
7	Ciprofloxacin, azitromicin, amoxicillin, cefalexin, ampicillin, trimethoprim
8	Valganciklovir-hidroklorid, boceprevir, telaprevir, szimeprevir, szofoszbuvir
9	Pegilált interferon alfa -2b, interferon alfa -2a, interferon alfa -2b
10	Heparin, EDTA, nátrium-citrát
11	Tipranavir
12	Izonazid

A 9. táblázat tartalmazza a meghatározott anyagok emelkedett szintjével rendelkező vagy a felsorolt betegségekben szenvedő betegektől származó klinikai plazmamintákat, amelyeket az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálattal teszteltünk 3 log RNS-kópia jelenlétével és anélkül. A teljesítményben nem észleltünk interferenciát.

9: táblázat: Tesztelt klinikai mintatípusok

Klinikai mintatípusok	
1	Reumafaktor (RF)
2	Antinukleáris antitest (ANA)
3	Anti-Jo-1 antitest (JO-1)
4	Szisztémás lupus erythematosus (SLE)
5	Reumatoid artritisz (RA)
6	Szklerózis multiplex (MS)
7	Hiperglobulinémia )
8	Emelkedett alanin-aminotranszferáz (ALT)
9	Alkoholos cirrózis (AC)
10	Mielóma multiplex (MM)
11	Lipémiás (emelkedett lipid)
12	Ikterikus (emelkedett bilirubin)
13	Hemolizált (emelkedett hemoglobin)
14	Emelkedett fehérje albumin
15	HCV antitestek
16	HBV antitestek
17	HIV-2 antitestek

## Specifititás

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat specifictása 120 friss és 510 fagyasztott HIV-1 negatív plazmaminta, valamint 120 friss és 510 fagyasztott HIV-1 negatív szérumminta felhasználásával került meghatározásra. Minden eredmény nem reaktív volt (100%-os specifititás; 95%-os KI: 99,4-100%).

10: táblázat: Specifititás plazma és szérummintákban

	Friss plazma	Fagyasztott plazma	Plazma összesen	Friss szérum	Fagyasztott szérum	Szérum összesen
<b>Érvényes ismétlések (n)</b>	120	510	630	120	510	630
<b>Nem reaktív</b>	120	510	630	120	510	630
<b>Specifititás (95%-os KI)</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)

KI = konfidenciaintervallum

## Analitikai specifitás

A kórokozókkal szembeni potenciális keresztreaktivitás (11. táblázat) értékelése az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálatban történt 3 log másolat/mL HIV-1 RNS jelenlétében vagy hiányában HIV-1 negatív plazmában. A kórokozók jelenlétében nem észleltek interferenciát a vizsgálat teljesítményében.

11: táblázat: Az analitikai specifitás szempontjából vizsgált kórokozók

Kórokozó	Koncentráció
Hepatitis A vírus	100 000 PFU/mL <sup>a</sup>
Hepatitis B vírus	100 000 IU/mL <sup>b</sup>
Hepatitis C vírus	100 000 IU/mL
Hepatitis G vírus	100 000 másolat/mL
Herpes simplex vírus 1 (HSV-1)	100 000 PFU/mL
Herpes simplex vírus 2 (HSV-2)	75 000 PFU/mL
Humán herpeszvírus 6	100 000 másolat/mL
Humán herpeszvírus 8	42 000 PFU/mL
HIV-2	5 500 PFU/mL
Humán T-sejtes limfotróp vírus (HTLV)	100 000 vp/mL <sup>c</sup>
Nyugat-nílusi vírus	100 000 másolat/mL
Parvovírus B19	100 000 IU/mL
Cytomegalovírus	100 000 másolat/mL
Epstein-Barr vírus	100 000 másolat/mL
5. típusú adenovírus	100 000 PFU/mL
Dengue vírus	100 000 másolat/mL
Influenza A vírus	100 000 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CFU/mL <sup>d</sup>
<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 <sup>e</sup>
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CFU/mL

<sup>a</sup>PFU/mL = Plakk-képző egységek mL-enként.

<sup>b</sup>IU/mL = Nemzetközi egységek mL-enként.

<sup>c</sup>vp/mL = Vírusrészecskék mL-enként.

<sup>d</sup>CFU/mL = Kolóniaképző egységek mL-enként.

<sup>e</sup>IFU/mL = Zárványképző egységek mL-enként.



**Klinikai minták ismételhetősége**

Tíz klinikai plazmaminta három ismétlésben került tesztelésre az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat segítségével. Az átlagos koncentrációt és a standard deviációt a 12. táblázat mutatja.

12: táblázat: Klinikai minták ismételhetősége

Minta	Átlagos koncentráció (log másolat/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

### Minta hígítása mintahígítóval

A minta hígításának értékeléséhez az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat lineáris tartományát felölelő koncentrációjú 11 mintából álló panelt, amely két, a vizsgálat felső mennyiségi határértékét meghaladó mintából állt, háromszorosára hígítva (1:3 vagy 1:100 mintahígítóban) vizsgálták (13. táblázat).

13: táblázat: Mintahígítás

Hígítás	Átlagos tiszta koncentráció (log másolat/mL)	Átlagos jelentett koncentráció <sup>a</sup> (log másolat/mL)	Különbség
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

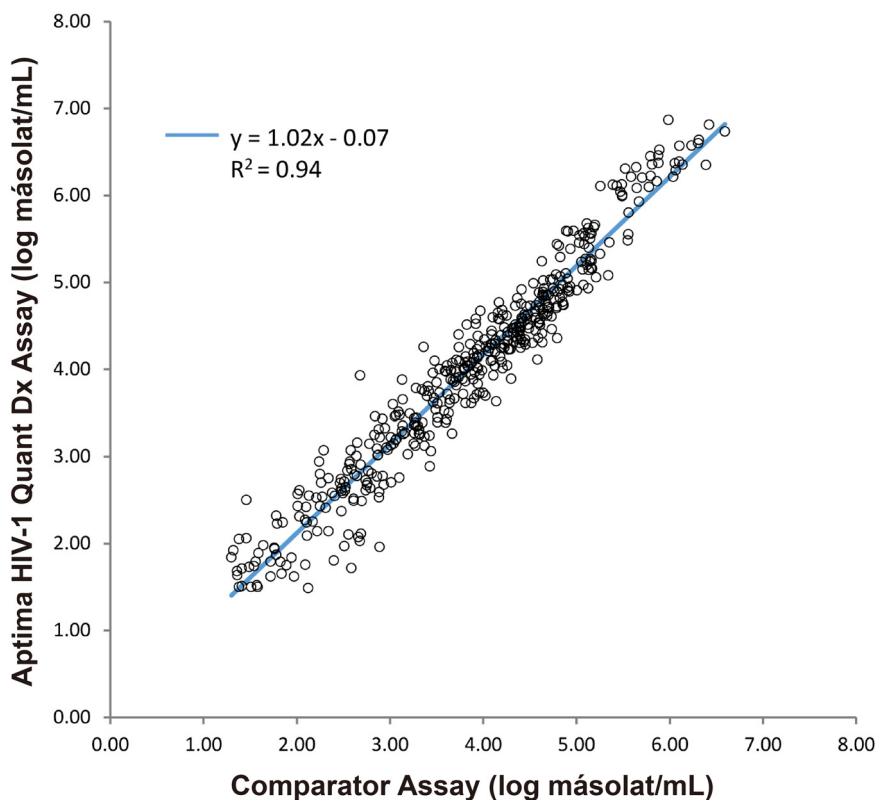
<sup>a</sup>A jelentett koncentráció a Panther rendszer által a hígítási tényező alkalmazása után jelentett érték.

<sup>b</sup>Adalékolt minta

<sup>c</sup>Minden 7,00 log-másolat/mL feletti eredmény további elemzéssel került becslésre.

## Módszerkorreláció

Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat teljesítménye egy CE-jelzéssel ellátott összehasonlító vizsgálattal szemben került értékelésre HIV-1 fertőzött betegekből származó hígítatlan klinikai plazmaminták tesztelésével négy Panther rendszerrel és két reagens-tétellel. A lineáris regresszióhoz összesen 342 fagyasztott és 108 friss plazmaminta került felhasználásra, amelyek mind az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálatban, mind az összehasonlító vizsgálatban számszerűsíthető eredményt adtak (8. ábra). A minták HIV-1 M csoportot (A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE, CRF02\_AG altípusok) tartalmaztak.



8. ábra. Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay és a Comparator Assay közötti korreláció

## Diagnosztikai egyezés

A diagnosztikai egyezés értékeléséhez HIV-1 pozitív egyénekből származó minták vizsgálata történt az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálattal és egy összehasonlító CE-jelzéssel ellátott kvalitatív HIV-1 vizsgálattal: 414 mintának volt érvényes eredménye (14. táblázat). Mindkét vizsgálat eredményeit a következőképpen osztályozták. Minden olyan eredményt, amely számszerűsíthető vagy kimutatható eredményt adott, az „Érzékelt” kategóriába sorolták. A nem észlelt célpontok eredményét a „Nem érzékelt cél” kategóriába sorolták.

14: táblázat: Az Aptima HIV-1 Quant Dx Assay és a Comparator Assay közötti diagnosztikai egyezés

		Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat	
		Érzékelt	Nem érzékelt cél
Comparator Assay	Érzékelt	214	0
	Nem érzékelt cél	0	200

## Átvitel

Annak megállapítása érdekében, hogy a Panther rendszer minimalizálja az átvitelből eredő hamis pozitív eredmények kockázatát, egy többszöri analitikai vizsgálatra került sor két Panther rendszerrel, adalékolt panelek felhasználásával. Az átvitel értékelése magas titerű HIV-1 adalékolt minták (7 log másolat/mL) felhasználásával történt, amelyek közé HIV-1 negatív mintákat helyeztek el sakkasztás mintázatban. A tesztelés öt futtatáson keresztül zajlott. A teljes átviteli arány 0% volt (n=469).

## Szerokonverziós panel

Tizenkilenc, 204 mintából álló HIV-1 szerokonverziós panelkészlet került tesztelésre az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat segítségével. A HIV-1 RNS kimutatása összehasonlításra került a p24 antigén tesztekkel és a HIV-1/2 antitest tesztekkel történő kimutatással. A p24 antigéntesztek, az anti-HIV 1/2 antitest tesztek és az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat esetében az első reaktív eredményig eltelt napok számát a 15. táblázat tartalmazza. Az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálat átlagosan 5,58 és 11,16 nappal a p24 antigén és az anti-HIV 1/2 antitest tesztek előtt mutatta ki a HIV-1 RNS-t.

15. táblázat: A szerokonverziós panel adatainak összefoglalása

Panel azonosító	A vizsgált paneltagok száma	A reaktív paneltagok száma			Az első reaktív eredményig eltelt napok			Az első reaktív eredményig eltelt napok különbsége (a vérvétel időpontja alapján)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigén	Anti-HIV 1/2 antitest	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24 antigén	Anti-HIV 1/2 antitest	A HIV p24 antigén és az annál korábbi érzékelés közötti napok száma	Az anti-HIV 1/2 antitest és az annál korábbi érzékelés közötti napok száma
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>Összesen</b>	<b>204</b>	<b>82</b>	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>Átlag</b>			<b>5,58</b>	<b>11,16</b>
					<b>Medián</b>			<b>7</b>	<b>12</b>

<sup>a</sup>Az összes vérvétel ebben a panelben nem reaktív volt az anti-HIV 1/2 antitestre. Az utolsó vérvétel napját használták az "Első reaktív eredményig eltelt napok" értékeként.

Az Anti-HIV-1/2 antitest tesztelését az Abbott Anti-HIV 1/2 antitesttel végezték el, a következő kivételekkel:

<sup>b</sup>A PRB974, PRB975 és PRB978 paneleket Siemens Anti-HIV 1/2 teszttel tesztelték.

A HIV-1 p24 antigén tesztelését a Coulter HIV-1 p24 Ag-val végezték el, a következő kivételekkel:

<sup>b</sup>A PRB974, PRB975 és PRB978 panelt a BioMérieux p24 Ag teszttel tesztelték.

**Szérum, plazma egyenértékűségi vizsgálat**

Az egyenértékűség értékeléséhez a szérum és a plazma (25 HIV-1 pozitív és 25 HIV-1 negatív), valamint 40 tenyésztett HIV-1-gyel (50–1 000 000 másolat/mL a HIV-1 negatív plazmában és szérumban) adalékolt mintát teszteltek az Aptima HIV-1 Quant Dx vizsgálattal. A negatív egyezés 100,0% volt (95%-os KI: 97,0%-100,0%). A pozitív egyezés 98,4% volt (95%-os KI: 95,4%-99,5%).

## Irodalomjegyzék

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. Streiner, M. Kaplan, D. F. Haynes, 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 1 RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, 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. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **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 immunofluorescence assay 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

Ügyféltámogatás: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
Műszaki támogatás: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

További elérhetőségekért látogasson el [www.hologic.com](http://www.hologic.com) oldalra.



**Hologic BVBA**  
Da Vinciiaan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

A Hologic, Aptima és Panther, valamint a kapcsolódó logók a Hologic, Inc. vállalatnak és/vagy leányvállalatainak a védjegyei és/vagy bejegyzett védjegyei az Amerikai Egyesült Államokban és/vagy más országokban.

Az Armored RNA az Asuragen, Inc. védjegye.

A jelen használati utasításban esetlegesen megjelenő minden további védjegy a mindenkori tulajdonosok tulajdonát képezi.

Ezt a terméket egy vagy több, a [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents) címen felsorolt egyesült államokbeli szabadalom védheti.

© 2014-2019 Hologic, Inc. Minden jog fenntartva.  
AW-11853-2801 Rev. 009  
2019-04