

Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Предназначено для *in vitro* диагностики.

Только для экспорта из США.

Общая информация	2
Назначение	2
Краткое описание и характеристика тест-системы	2
Принципы методики	3
Предостережения и меры предосторожности	4
Требования к хранению и обращению с реагентами	7
Сбор и хранение образцов	7
Образцы, оставленные в системе Panther System	12
Транспортировка образцов	12
Panther System	13
Предоставляемые реактивы и материалы	13
Необходимые материалы, доступные отдельно	15
Дополнительные материалы	16
Методика тестирования с использованием системы Panther System	16
Примечания к методике	20
Контроль качества	22
Калибровка анализа	22
Отрицательный и положительный контроли	22
Внутренний калибратор / Внутренний контроль	22
Интерпретация результатов	23
Ограничения	24
Эффективность	25
Предел обнаружения (LoD) с использованием 3-го международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1 ..	25
Предел обнаружения по подтипам и группам ВИЧ-1	26
Линейный диапазон	27
Линейность по подтипам и группам ВИЧ-1	28
Нижний предел количественного определения с использованием (LLOQ) с 3-го Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1	29
Проверка нижнего предела количественного определения (LLOQ) по подтипам и группам ВИЧ-1	30
Прецизионность	31
Потенциальные интерференты	32
Специфичность	34
Аналитическая специфичность	35
Повторяемость клинических образцов	36
Разбавление образца с использованием разбавителя образца	37
Корреляция метода	38
Диагностическая согласованность	39
Перенос загрязнения	39
Сероконверсионная панель	40
Исследование эквивалентности в сыворотке, плазме	41
Список использованной литературы	42

Общая информация

Назначение

Диагностическая тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx assay представляет собой тест-систему для амплификации нуклеиновых кислот для *in vitro* детекции и количественного определения РНК групп М, N и О вируса иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) в полностью автоматизированной системе Panther System™. Она предназначена для использования в для диагностики и подтверждения ВИЧ-1-инфекции, для подтверждения ВИЧ-1-инфекции и в качестве содействия при клиническом наблюдении за пациентами, инфицированными ВИЧ-1.

Диагностическая тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx assay может использоваться для диагностики ВИЧ-1-инфекции, включая острую или первичную инфекцию. Наличие РНК ВИЧ-1 в плазме или сыворотке пациентов без антител к ВИЧ-1 свидетельствует об острой или первичной инфекции ВИЧ-1. Тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx assay может использоваться в качестве дополнительного анализа образцов, для которых получены повторные реактивные результаты с помощью одобренных иммуноанализов на ВИЧ. Если образец является реактивным в Aptima HIV-1 Quant Dx assay, инфекция ВИЧ-1 подтверждается при наличии реакции образца в диагностической системе.

Тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx assay может также использоваться в сочетании с клинической картиной и другими лабораторными показателями для прогнозирования заболевания у людей, инфицированных ВИЧ-1. Тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx assay можно использовать в качестве содействия в мониторинге эффекта антиретровирусного лечения путем определения изменений концентрации РНК ВИЧ-1 в плазме.

Если Aptima HIV-1 Quant Dx assay используется для диагностики ВИЧ-1-инфекции, характеристики качественных результатов устанавливаются как для образцов плазмы, так и для образцов сыворотки.* При использовании в для наблюдения за эффектом антиретровирусной терапии характеристики количественных результатов устанавливаются только для образцов плазмы. Образцы сыворотки нельзя использовать для получения количественных результатов.

Данная тест-система не предназначена для скрининга доноров крови или плазмы.

Краткое описание и характеристика тест-системы

Эпидемиологические исследования выявили, что вирус иммунодефицита человека типа 1 (ВИЧ-1) является этиологическим фактором синдрома приобретенного иммунодефицита (СПИД) (1–7). ВИЧ может передаваться половым путем, при контакте с зараженной кровью или продуктами крови либо передается от матери ребенку (8). В течение 3–6 недель после заражения ВИЧ у инфицированных людей обычно развивается короткий острый синдром, характеризующийся симптомами, подобными вирусу гриппа и сопровождающийся высоким уровнем вирусемии в периферической крови (9–12). У большинства инфицированных людей за этой ранней фазой следует специфический для ВИЧ иммунный ответ и снижение уровня вирусемии в плазме, обычно в течение 4–6 недель после появления симптомов (13–14). После сероконверсии инфицированные люди обычно переходят в клинически стабильную бессимптомную фазу, которая может длиться годами (15–17). Бессимптомный период характеризуется устойчивой незначительной вирусемией в плазме (18) и постепенным снижением уровня Т-лимфоцитов CD4+. Такое снижение уровня лимфоцитов приводит к тяжелому иммунодефициту, множественным оппортунистическим инфекциям, злокачественным новообразованиям

*Примечание. Для Aptima HIV-1 Quant Dx assay также можно использовать образцы сухой капли крови (Dried blood spot, DBS). Полное описание предполагаемого использования и информация об образцах DBS приведена в приложении по сухой капле крови к листку-вкладышу для Aptima HIV-1 Quant Dx assay (AW-17780).

и смерти (19). Хотя уровни вируса в периферической крови относительно низки во время бессимптомной фазы инфекции, репликация и клиренс вируса, по-видимому, являются динамическими процессами, в которых высокие показатели производства вируса и инфицирования клеток CD4+ уравниваются одинаково высокими показателями клиренса вируса, гибелью инфицированных клеток и пополнением клеток CD4+, что приводит к относительно стабильным уровням как вiremии в плазме, так и клеток CD4+ (20–22).

Количественные измерения ВИЧ в периферической крови продемонстрировали, что более высокие уровни вируса могут коррелировать с повышенным риском клинического прогрессирования заболевания, связанного с ВИЧ, и подтвердили, что снижение уровня вируса в плазме может быть связано со сниженным риском клинического прогрессирования (23–25). Уровни вируса в периферической крови можно определить количественно путем измерения антигена p24 ВИЧ в сыворотке, количественного культивирования ВИЧ, выделенного из плазмы, или путем прямого определения вирусной РНК в плазме с использованием технологий амплификации нуклеиновых кислот или технологии амплификации сигналов (26–30).

В данное время детекция ВИЧ-1-инфекции преимущественно основана на серологическом анализе на антитела и/или определении антигена p24 с помощью иммуноанализа. Центры контроля заболеваний (CDC) США рекомендуют для диагностики острых ВИЧ-инфекций использовать анализ на антитела и РНК (31). Несмотря на то, что чувствительность детекции антител к ВИЧ-1 и антигена p24 улучшилась, все еще существует промежуток времени между моментом инфицирования и временем детекции с помощью серологических маркеров. Этот промежуток времени зависит от чувствительности используемого серологического анализа. Согласно одной оценке (32), анализы 4-го поколения на антитела/антиген p24 могут обнаружить инфекцию, когда концентрация РНК ВИЧ-1 достигает 14 000 копий/мл. Предел обнаружения для тест-системы Aptima HIV-1 Quant Dx assay значительно ниже, чем 14 000 копий/мл, и данный анализ может обнаружить ВИЧ-1 раньше, чем иммуноанализы на ВИЧ.

Молекулярные методы, такие как транскрипционно-опосредованная амплификация (transcription mediated amplification, TMA), широко используются для амплификации нуклеиновых кислот (31). TMA использует специфический захват мишени и изотермическую амплификацию для обнаружения нуклеиновых кислот у множества инфекционных патогенов (32).

В тест-системе Aptima HIV-1 Quant Dx assay с помощью TMA используются множественные длинные праймеры, которые нацелены на несколько областей генома ВИЧ-1, чтобы компенсировать высокую частоту мутаций и множественные потенциальные мутации в целевой области.

Принципы методики

Тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx assay включает в себя три основных этапа, выполняемых в одной пробирке в системе Panther System: захват мишени, амплификация мишени с помощью транскрипционно-опосредованной амплификации и детекция продуктов амплификации (ампликон) с помощью флуоресцентных меченых зондов (факелов).

Во время захвата мишени из образцов выделяются нуклеиновые кислоты вируса. Образец обрабатывается детергентом для растворения вирусной оболочки, денатурации белков и высвобождения вирусной геномной РНК. Олигонуклеотиды, предназначенные для захвата мишени, гибридизируются сильноконцентрированными участками генома ВИЧ-1 при наличии их в тестируемом образце. Затем гибридизированная мишень захватывается

магнитными микрочастицами, которые отделяются от образца в магнитном поле. На этапе очистки посторонние компоненты удаляются из реакционной пробирки.

Амплификация мишени происходит с помощью метода транскрипционно-опосредованной амплификации нуклеиновых кислот ТМА (transcription-mediated amplification), где используются два фермента — обратная транскриптаза MMLV (вируса мышиной лейкемии Молони) и РНК-полимеразы Т7. Обратная транскриптаза используется для генерации ДНК-копии (содержащей промоторную последовательность для РНК-полимеразы Т7) геномной последовательности мишени. РНК-полимераза Т7 продуцирует множество копий РНК-ампликона из матрицы ДНК-копии. Тест-система Aptima HIV-1 Quant Dx использует метод ТМА для амплификации двух участков РНК ВИЧ-1 (pol и LTR). Амплификация этих специфических участков достигается с использованием специфических праймеров, которые предназначены для амплификации групп М, N и О ВИЧ-1. Конструкция праймеров и подход с двумя мишенями обеспечивают точную детекцию и количественное определение ВИЧ-1.

Детекция происходит с помощью одноцепочных нуклеиновых кислот – факелов (torches), которые присутствуют во время амплификации мишени и специфически гибридизуются с ампликоном в режиме реального времени. Каждый факел содержит флуорофор и гаситель люминесценции. Когда факел не гибридизуется с ампликоном, гаситель находится в непосредственной близости от флуорофора и подавляет флуоресценцию. При связывании факела с ампликоном, гаситель удаляется от флуорофора, который начинает излучать сигнал на определенной длине волны при возбуждении источником света. По мере того, как большее количество факелов гибридизируются ампликоном, генерируется все более интенсивный флуоресцентный сигнал. Время, необходимое флуоресцентному сигналу для достижения установленного порога, пропорционально исходной концентрации ВИЧ-1. Каждая реакция имеет внутренний калибратор/внутренний контроль, который контролирует отклонения в процессе обработки, амплификации и детекции образца. Концентрация образца определяется системным программным обеспечением Panther System, используя сигналы ВИЧ-1 и сигналы внутреннего контроля для каждой реакции и сравнивая их с калибровочной информацией.

Предостережения и меры предосторожности

- A. Для использования при диагностике *in vitro*.
- B. Для снижения риска получения недостоверных результатов перед выполнением тестирования, внимательно прочитайте весь вкладыш в упаковку и руководство по эксплуатации Panther System.

Для лабораторий

-  C. **ВНИМАНИЕ!** Контроли для диагностической системы содержат человеческую плазму. Плазма является отрицательной относительно поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), антител к вирусу гепатита С (ВГС), антител к ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и антигена ВИЧ при тестировании с использованием лицензированных процедур Управления по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных средств США. Кроме того, плазма не реагирует на РНК ВГС и РНК ВИЧ-1 при тестировании с помощью лицензированных тест-систем для нуклеиновых кислот с использованием объединенных образцов. Все материалы, полученные из крови человека, следует считать потенциально заразными и обращаться с ними с использованием общепринятых мер предосторожности (35–37).

- D. Данный анализ должен проводиться только персоналом, прошедшим соответствующую подготовку по проведению анализа с использованием тест-системы Aptima HIV-1 Quant Dx assay и обращению с потенциально заразными материалами. В случае разлития образца на поверхность немедленно продезинфицируйте место разлития, следуя соответствующим лабораторным процедурам.
- E. Используйте только поставляемую или специальную одноразовую лабораторную посуду.
- F. Используйте приемы стандартной техники безопасности работы в лаборатории. Не пипетируйте ртом. Не ешьте, не пейте и не курите в рабочей зоне. При работе с образцами и набором реактивов используйте одноразовые неопудренные перчатки, защитные очки и лабораторные халаты. Тщательно мойте руки после работы с образцами и реактивами из комплекта тест-системы.
- G. Рабочие поверхности, пипетки и другое оборудование необходимо регулярно дезактивировать раствором гипохлорита натрия с концентрацией от 2,5 % до 3,5 % (от 0,35 М до 0,5 М).
- H. Утилизируйте все материалы, соприкасающиеся с образцами и реактивами, в соответствии с местными, региональными и федеральными нормативными требованиями (35–38). Тщательно очищайте и дезинфицируйте все рабочие поверхности.
- I. Контроли содержат азид натрия в качестве консерванта. Не используйте металлические пробирки для переноса реагента. Если растворы, содержащие соединения азиды натрия, утилизируются в водопроводную систему, их следует предварительно разбавить и промыть большим количеством проточной воды. Эти меры предосторожности рекомендуются во избежание накопления отложений в металлических трубопроводах с возникновением взрывоопасных условий.
- J. Надлежащая стандартная практика для молекулярных лабораторий включает мониторинг окружающей среды. Для мониторинга среды лаборатории предлагается следующая процедура.
1. Возьмите зонд-тампон и введите в аликвотную пробирку Aptima (SAT - Specimen Aliquot Tube).
 2. Промаркируйте каждую аликвотную пробирку (SAT) соответственно.
 3. Заполните каждую аликвотную пробирку (SAT) 1 мл разбавителем образцов Aptima.
 4. Для отбора проб с поверхности слегка смочите зонд-тампон деионизированной водой без нуклеаз.
 5. Протрите испытуемую поверхность, выполняя вертикальное движение сверху вниз. Поверните зонд-тампон примерно на половину оборота во время протирания.
 6. Немедленно поместите зонд-тампон, содержащий образец, в пробирку и осторожно прокрутите его в разбавителе, для извлечения потенциального образца. Прижмите зонд-тампон стенке транспортной пробирки, чтобы извлечь как можно больше жидкости. Выбросьте зонд-тампон и закройте пробирку.
 7. Повторите те же шаги для оставшихся зонд-тампонов, содержащих образцы.
 8. Протестируйте образец при помощи молекулярной диагностической системы анализа.

Относительно образцов

- K. Образцы могут быть заразными. При выполнении этого анализа применяйте общепринятые меры предосторожности (35–37). Надлежащие методы обращения и утилизации должны устанавливаться в соответствии с местными нормативными

актами (38). Только специально обученный персонал, имеющий опыт работы с инфекционно зараженными материалами, и прошедший тренинг по использованию тест-системы Aptima HIV-1 Quant Dx assay должен выполнять данное тестирование.

- L. Оценивалась только плазма с антикоагулянтами EDTA и ACD.
- M. При транспортировке образцов соблюдайте надлежащие условия хранения для обеспечения их целостности. Стабильность образцов в условиях, отличных от рекомендованных, не оценивалась.
- N. Избегайте перекрестного загрязнения на этапах обработки образцов. Будьте особенно осторожны, при откручивании или снятии крышек с образцов для избежания загрязнения аэрозолями. Образцы могут содержать чрезвычайно высокие уровни микроорганизмов. Убедитесь, что контейнеры для образцов не соприкасаются друг с другом, и утилизируйте использованные материалы, не открывая контейнеры. Поменяйте перчатки в случае соприкосновения с образцом.

Относительно анализа

- O. Количественные результаты Aptima HIV-1 Quant Dx assay оценивались при использовании плазмы с EDTA и ACD. **Сыворотка не может быть использована для получения количественных результатов.** Качественные результаты оценивались как для плазмы, так и для сыворотки.
- P. Не используйте набор реагентов, калибратор или контроли после истечения срока годности.
- Q. Не меняйте, не смешивайте и не комбинируйте реагенты тест-системы анализа из наборов с разными номерами мастер-лотов. Жидкости анализа могут быть из разных лотов. Контроли и калибратор могут быть из разных лотов.
- R. Не допускайте загрязнения реагентов микроорганизмами и нуклеазами.
- S. Закрывайте и храните все реагенты анализа при установленной температуре. На эффективность анализа может повлиять использование неправильно хранящихся реагентов анализа. См. *Требования к хранению и обращению с реагентами и Методика тестирования с использованием системы Panther System* для дополнительной информации.
- T. Не комбинируйте реагенты или жидкости анализа без специальных инструкций. Не доливайте емкости с реагентами и жидкостями. Panther System верифицирует уровни реагентов.
- U. Некоторые реактивы в этом наборе маркированы символами риска и безопасности.

Примечание. Информирование об опасности соответствует классификации паспортов безопасности веществ ЕС (Safety Data Sheet, SDS). Информирование об опасности, относящееся к вашему региону, см. в SDS для конкретного региона в Библиотеке SDS на www.hologicds.com.



Набор контролей HIV VL

Азид натрия 0,2 %
Человеческая сыворотка 95–100 %



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

H312 — вредно при контакте с кожей
H412 — вредно для водных организмов с долгосрочными последствиями
P273 — избегать попадания в окружающую среду
P280 — пользоваться защитными перчатками/защитной одеждой/средствами защиты глаз/лица

Требования к хранению и обращению с реагентами

А. В следующей таблице приведены условия хранения и стабильность реагентов, контролей и калибратора.

Реагент	Хранение в закрытом состоянии	Открытый набор (восстановленный)	
		Хранение	Стабильность
Реагент для амплификации qHIV-1	от 2 °С до 8 °С		
Раствор для восстановления при амплификации qHIV-1	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С	30 дней ^а
Ферментный реактив qHIV-1	от 2 °С до 8 °С		
Разбавитель для фермента qHIV-1	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С	30 дней ^а
Реактив для активации qHIV-1	от 2 °С до 8 °С		
Раствор для восстановления при активации qHIV-1	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С	30 дней ^а
Реагент захвата мишени qHIV-1	от 2 °С до 8 °С	от 2 °С до 8 °С	30 дней ^а
qHIV-1 NC CONTROL – (отрицательный контроль)	от -15 °С до -35 °С	от 15 °С до 30 °С	Одноразовый флакон Использовать в течение 20 часов
qHIV-1 LPC CONTROL + (слабый положительный контроль)	от -15 °С до -35 °С	от 15 °С до 30 °С	Одноразовый флакон Использовать в течение 20 часов
qHIV-1 HPC CONTROL + (сильный положительный контроль)	от -15 °С до -35 °С	от 15 °С до 30 °С	Одноразовый флакон Использовать в течение 20 часов
qHIV-1 PCAL (положительный калибратор)	от -15 °С до -35 °С	от 15 °С до 30 °С	Одноразовый флакон Использовать в течение 20 часов

^а При удалении реагентов Panther System, их следует немедленно поместить в условия с надлежащей температурой хранения.

- В. Утилизируйте любые неиспользованные, разбавленные реактивы и реагенты захвата мишени (TCR) в течение 30 дней но не позднее истечения срока действия основной серии, в зависимости от того, что наступит раньше.
- С. Реагенты, хранящиеся в системе Panther System, стабильны в течение 72 часов. Реагенты можно загружать в Panther System до 5 раз. Panther System регистрирует каждую загрузку реагента.
- Д. После размораживания калибратора раствор должен быть прозрачным, то есть не мутным и без осадка.
- ⚠ Е. Реагент для активации и восстановленный реагент для активации являются светочувствительными. Защищайте эти реагенты от света во время хранения и подготовки к применению.

Сбор и хранение образцов

Примечание. Обращайтесь со всеми образцами как с потенциально заразными. Используйте общепринятые предосторожности.

Примечание. Применяйте меры предосторожности для избежания перекрестного загрязнения при обработке образцов. Например, при удалении использованных материалов, не проносите их над открытыми пробирками.

Примечание. Для хранения рекомендуются только вторичные пластиковые пробирки. Допускается использование образцов цельной крови, собранных в ниже перечисленные стеклянные или пластиковые пробирки:

Для количественных измерений:

- пробирки, содержащие антикоагулянты, такие как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) или цитрат декстрозы (АЦД),
- пробирки для подготовки плазмы (РРТ).

Для качественного определения:

- пробирки, содержащие антикоагулянты ЭДТА или АЦД либо
- РРТ, или
- пробирки для сыворотки, или
- пробирки для отделения сыворотки (SST).

Перед обработкой сыворотки необходимо дождаться появления сгустка.

А. Сбор образцов

Цельная кровь может храниться при температуре от 2 до 30 °С и должна быть центрифугирована в течение 24 часов после сбора образцов. Отделите плазму или сыворотку крови от сгустка эритроцитов, следуя инструкциям производителя для используемой пробирки. Плазму или сыворотку можно тестировать в системе Panther System в первичной пробирке или переносить во вторичную пробирку, такую как аликвотная пробирка Aptima (SAT). Для получения реакционного объема 500 мкл, минимальный объем плазмы или сыворотки крови для пробирок первичного отбора должен составлять до 1200 мкл, а для вторичных пробирок минимальный объем должен составлять 700 мкл. В следующей таблице указаны требования к мертвому объему для каждого типа первичной и вторичной пробирки.

Пробирка (размер и тип)	Мертвый объем в Panther System
Аликвотная пробирка (SAT) Aptima	0,2 мл
12 x 75 мм	0,5 мл
13 x 100 мм	0,5 мл
13 x 100 мм с гелем	0,3 мл
16 x 100 мм с гелем	0,7 мл

Непротестированные сразу плазму и сыворотку можно хранить в соответствии с приведенными ниже спецификациями. При переносе во вторичную пробирку плазму можно замораживать при -20 °С или -70 °С, а сыворотку можно замораживать при -20 °С. Не превышайте разморозку и повторную заморозку более 3-х раз чтобы это не повлияло на результаты тестирования. Не замораживайте образцы в пробирках с ЭДТА, АЦД или первичных пробирках для сбора сыворотки крови.

В. Условия хранения образцов

1. Образцы в плазме с ЭДТА или АЦД

В течение 24 часов после забора образцов первичные пробирки, содержащие центрифугированную плазму, могут храниться при температуре от 2 °С до 30 °С (Рисунок 1, верхнее поле). Через 24 часа плазму можно хранить в течение более длительного периода времени при одном из следующих условий (Рисунок 1, нижние поля):

- в пробирках первичного отбора при температуре от 2 °С до 8 °С до 3 дней, или
- во вторичных пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С до 5 дней, или
- во вторичных пробирках при температуре -20 °С или -70 °С до 90 дней.

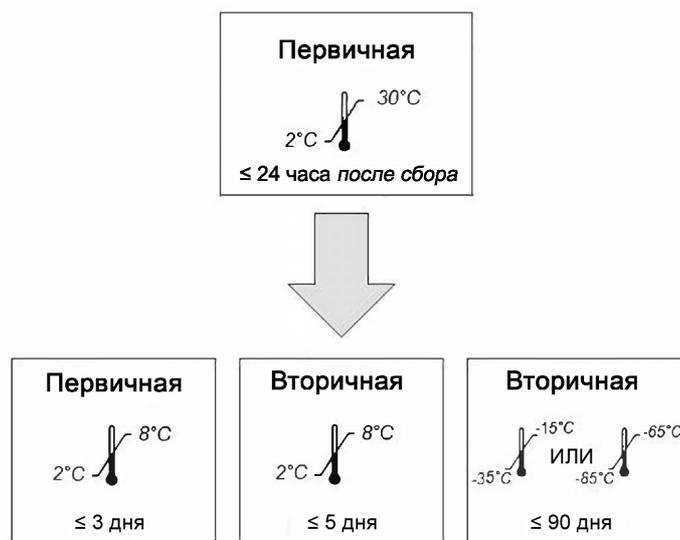


Рисунок 1. Условия хранения пробирок с ЭДТА/АЦД

2. Образцы в пробирках PPT

В течение 24 часов после забора образцов PPT, содержащие центрифугированную плазму, могут храниться при температуре от 2 °С до 30 °С (Рисунок 2, верхнее поле). Через 24 часа плазму можно хранить в течение более длительного периода времени при одном из следующих условий (Рисунок 2, нижние поля):

- в PPT при температуре от 2 °С до 8 °С до 3 дней,
- во вторичных пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С до 5 дней, или
- в PPT или вторичных пробирках при температуре -20 °С или -70 °С до 90 дней

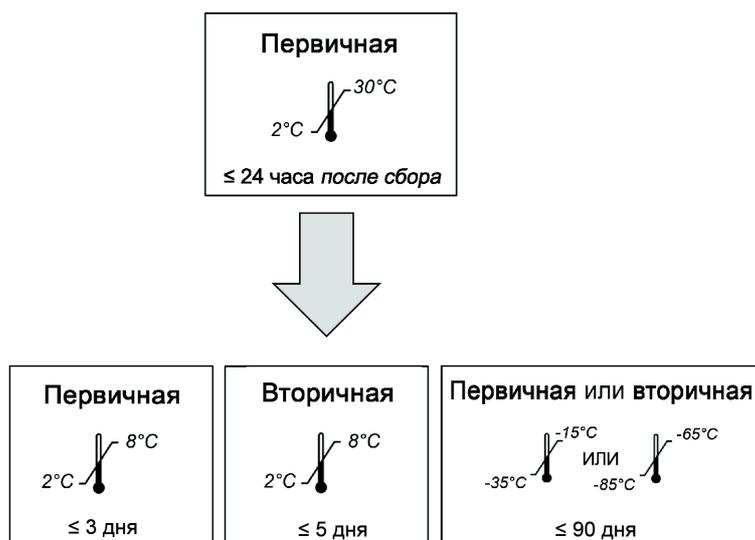


Рисунок 2. Условия хранения пробирок PPT

3. Пробирки с образцами сыворотки крови

В течение 24 часов после забора образцов пробирки для сыворотки, содержащие центрифугированную сыворотку, могут храниться при температуре от 2 °С до 30 °С (Рисунок 3, верхнее поле). Через 24 часа сыворотку можно хранить в течение более длительного периода времени при одном из следующих условий (Рисунок 3, нижние поля):

- в пробирках для сыворотки при температуре от 2 °С до 8 °С до 5 дней,
- во вторичных пробирках при температуре от 2 °С до 8 °С до 5 дней, или
- во вторичных пробирках при температуре -20 °С до 7 дней.

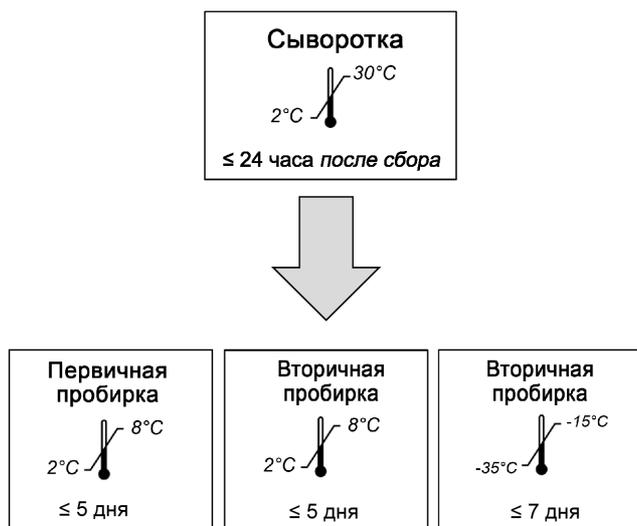


Рисунок 3. Условия хранения пробирок с сывороткой крови

4. Образцы в пробирках для отделения сыворотки (SST)

В течение 24 часов после забора образцов SST, содержащие центрифугированную сыворотку, могут храниться при температуре от 2 °C до 30 °C (Рисунок 4, верхнее поле). Через 24 часа сыворотку можно хранить в течение более длительного периода времени при одном из следующих условий (Рисунок 4, нижние поля):

- в SST при температуре от 2 °C до 8 °C до 5 дней,
- во вторичных пробирках при температуре от 2 °C до 8 °C до 5 дней, или
- во вторичных пробирках или SST при температуре -20 °C до 7 дней.

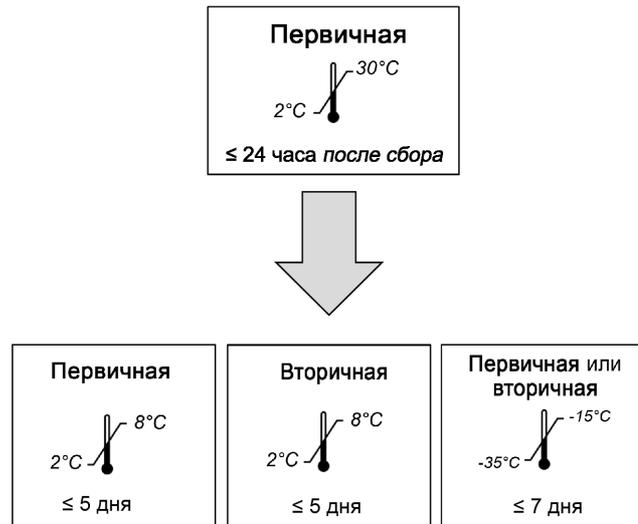


Рисунок 4. Условия хранения пробирок SST

С. Разведение образцов плазмы

Образец плазмы можно разводить в аликвотных пробирках Aptima (SAT) или вторичных пробирках для анализа в Panther System. Для получения дополнительной информации ниже приведенный раздел *Методика тестирования с использованием системы Panther System*, этап Е.6.

Примечание. Если образец разбавлен, его следует тестировать сразу же после разбавления. Не замораживайте разбавленный образец.

- ⚠ Разведение образцов плазмы можно использовать только для количественных результатов. Не разбавляйте образцы плазмы для диагностических результатов.

Образцы, оставленные в системе Panther System

Пробы можно оставить в Panther System без крышки на срок до 8 часов. Образцы можно удалить из Panther System и протестировать, если общее время нахождения в системе не превышало 8 часов до пипетирования образца системой Panther System.

Транспортировка образцов

Поддерживайте условия хранения образцов, как описано в разделе *Сбор и хранение образцов*.

Примечание. Образцы должны поставляться в соответствии с применимыми национальными, международными и региональными транспортными регуляторными требованиями.

Panther System

Ниже перечислены реактивы для Aptima HIV-1 Quant Dx assay для системы Panther System. Кроме того, рядом с названием реактива указаны символы идентификации реактива.

Предоставляемые реактивы и материалы

Примечание. Информацию обо всех опасностях и мерах предосторожности, которые могут быть связаны с реактивами, см. в библиотеке паспортов безопасности на веб-сайте www.hologic.com/sds.

Набор для Aptima HIV-1 Quant Dx assay, 100 тест-систем, номер по каталогу PRD-03000 (1 коробка диагностическая система (assay), 1 набор калибраторов, 1 набор контролей)

Дополнительные калибраторы и контроли можно заказать отдельно. Смотрите соответствующие номера по каталогу ниже.

Коробка для Aptima HIV-1 Quant Dx assay

(хранить при температуре от 2 °С до 8 °С по получении)

Символ	Компонент	Количество
A	Реагент для амплификации qHIV-1 <i>Неинфекционные нуклеиновые кислоты, высушенные в забуференном растворе.</i>	1 флакон
E	Ферментный реактив qHIV-1 <i>Обратная транскриптаза и РНК-полимераза, высушенные в забуференном растворе HEPES.</i>	1 флакон
PRO	Реактив для активации qHIV-1 <i>Неинфекционные нуклеиновые кислоты, высушенные в забуференном растворе.</i>	1 флакон
AR	Раствор для восстановления при амплификации qHIV-1 <i>Водный раствор, содержащий глицерин и консерванты.</i>	1 x 7,2 мл
ER	Разбавитель для фермента qHIV-1 <i>Забуференный раствор HEPES, содержащий поверхностно-активное вещество и глицерин.</i>	1 x 5,8 мл
PROR	Раствор для восстановления при активации qHIV-1 <i>Водный раствор, содержащий глицерин и консерванты.</i>	1 x 4,5 мл
TCR	Реагент захвата мишени qHIV-1 <i>Нуклеиновые кислоты в забуференном солевом растворе, содержащем твердую фазу, неинфекционные нуклеиновые кислоты и внутренний калибратор.</i>	1 x 72,0 мл
	Манжеты для разбавления	3
	Лист штрих-кодов основного лота	1 лист

Набор калибраторов Aptima HIV-1 Quant Dx (номер по каталогу PRD-03001)
(хранить при температуре от -15 °С до -35 °С по получении)

Символ	Компонент	Количество
PCAL	Положительный калибратор qHIV-1 <i>Транскрипт в забуференном растворе.</i>	5 x 2,5 мл
	Этикетка штрих-кода калибратора	—

Набор контролей Aptima HIV-1 Quant Dx (номер по каталогу PRD-03002)
(хранить при температуре от -15 °С до -35 °С по получении)

Символ	Компонент	Количество
NC	Отрицательный контроль qHIV-1 <i>ВИЧ-1-отрицательная дефибринированная плазма человека, содержащая гентамицин и 0,2 % азида натрия в качестве консервантов.</i>	5 x 1,5 мл
LPC	Слабый положительный контроль qHIV-1 <i>Неинфекционная армированная РНК ВИЧ-1 в дефибринированной плазме человека, содержащая гентамицин и 0,2 % азида натрия в качестве консервантов.</i>	5 x 1,5 мл
HPC	Сильный положительный контроль qHIV-1 <i>Неинфекционная армированная РНК ВИЧ-1 в дефибринированной плазме человека, содержащая гентамицин и 0,2 % азида натрия в качестве консервантов.</i>	5 x 1,5 мл
	Этикетка штрих-кода контроля	—

Необходимые материалы, доступные отдельно

Примечание. Материалы, поставляемые компанией Hologic, имеют унижеказанные номера в каталогу, если не указано иное.

Материал	Номер по каталогу №
Panther System	—
Набор Panther Run для анализа в режиме реального времени (только для тестирования в режиме реального времени)	PRD-03455 (5000 тестов)
Набор жидкостей для анализа Aptima (также известный как универсальный набор жидкостей) содержит промывающий раствор Aptima, буфер для приготовления раствора деактивации Aptima и масляный реактив Aptima	303014 (1000 тестов)
Многопробирочные блоки (MTU - Multi-tube units)	104772-02
Пакеты для утилизации Panther	902731
Емкость для утилизации Panther	504405
Или Panther System Run Kit (при проведении тестирования ТМА не в режиме реального времени параллельно с тестированием ТМА в режиме реального времени) содержит MTU, пакеты для утилизации, емкости для утилизации, реактив Auto Detect и жидкости для тестирования	303096 (5000 тестов)
Наконечники, проводящие 1000 мкл, чувствительные к жидкости	10612513 (Tecan)
Отбеливатель, от 5 % до 7 % (от 0,7 М до 1,0 М) раствора гипохлорита натрия	—
Перчатки одноразовые, неопудренные	—
Крышки сменные, непроницаемые	103036A
Крышки для замены реагентов Флаконы с разбавителями реагентов для амплификации, активации и ферментного реагента Флакон TCR	CL0041 (100 крышек) CL0040 (100 крышек)
Пластиковые покрытия для лабораторного стола	—
Безворсовые салфетки	—
Дозатор	—
Наконечники	—
Варианты пробирок первичного отбора (АЦД, ЭДТА, PPT, SST, для сыворотки):	
13 мм x 100 мм	—
13 мм x 75 мм	—
16 мм x 100 мм	—
Центрифуга	—
Вихревая мешалка	—

Дополнительные материалы

Материал	Номер по каталогу №
Варианты вторичных пробирок:	
12 мм x 75 мм	—
13 мм x 100 мм	—
16 мм x 100 мм	—
Аликвотная пробирка (SAT) Aptima (100 штук)	503762
Крышка транспортной пробирки (100 штук) крышка для SAT	504415
Разбавитель образцов Aptima	PRD-03003
Набор разбавителя образцов Aptima содержит разбавитель образцов, 100 SAT и 100 крышек	PRD-03478
Пипетки для переноса	—
Коммерчески доступные панели, например: Панель для ВИЧ-1 от компании Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) или панель для изучения вирусной нагрузки ВИЧ Американской коллегии патологоанатомов (CAP) или панели SeraCare ACCURUN HIV	—
Ватные зонд-тампоны	—
Шейкер для пробирок	—

Методика тестирования с использованием системы Panther System

Примечание. См. Panther System Operator's Manual (Руководство оператора Panther System) для получения дополнительной информации относительно методики.

A. Подготовка рабочей зоны

1. Очистите рабочие поверхности, где будут готовиться реагенты. Протрите рабочие поверхности раствором гипохлорита натрия с концентрацией от 2,5 % до 3,5 % (от 0,35 М до 0,5 М). Оставьте раствор гипохлорита натрия на поверхностях не менее 1 минуты, а затем промойте их деионизированной водой. Не допускайте высыхания раствора гипохлорита натрия. Накройте поверхность стола, на которой будут готовиться реактивы и пробы, чистым гигроскопическим покрытием для лабораторных столов на пластиковой подложке.
2. Очистите отдельную рабочую поверхность, где будут подготовлены образцы. Используйте методику, описанную выше (пункт А.1).
3. Очищают все пипетки. Используют методику, описанную выше (пункт А.1).

B. Калибратор и приготовление контролей

Дайте калибратору и контролям нагреться от 15 °С до 30 °С перед обработкой следующим образом:

1. Извлеките калибратор и контроли из морозильника (от -15 °С до -35 °С) и держите при температуре от 15 °С до 30 °С. На протяжении всего процесса размораживания аккуратно переворачивайте каждую пробирку для тщательного перемешивания. Перед использованием проверьте, что содержимое пробирки полностью разморозилось.

Вариант. Калибратор и контрольные пробирки можно поместить на шейкер для пробирок для тщательного перемешивания. Перед использованием проверяют, что содержимое пробирки полностью разморозилось.

Примечание. Избегают чрезмерного образования пены при переворачивании калибратора и контролей. Пена нарушает восприятие уровня системой Panther System.

2. Когда содержимое пробирки разморозится, высушивают наружную поверхность пробирки чистой, сухой одноразовой салфеткой.
3. Чтобы избежать контаминации, пробирку в это время не открывают.

C. Разбавление реагентов / Приготовление нового набора

Примечание. Разбавление реагентов должно быть выполнено до начала любой работы на Panther System.

1. Для приготовления реагента захвата мишени (TCR), выполните следующие действия:
 - a. Извлеките TCR из холодильника (от 2 °C до 8 °C). Проверьте номер лота на флаконе TCR, чтобы убедиться, что он совпадает с номером лота на листе штрих-кода мастер-лота.
 - b. Немедленно энергично встряхните флакон TCR 10 раз. Оставьте флакон TCR при температуре от 15 °C до 30 °C, чтобы он нагревался не менее 45 минут. В течение этого периода взбалтывайте и переворачивайте флакон TCR не реже одного раза в 10 минут.

Вариант. Флакон TCR можно приготовить на шейкере для пробирок, следуя следующим инструкциям: Извлеките TCR из хранилища (от 2 °C до 8 °C) и немедленно энергично встряхните 10 раз. Поместите флакон TCR на шейкер для пробирок и оставьте при температуре от 15 °C до 30 °C, чтобы он нагревался не менее 45 минут.

- c. Перед использованием убедитесь, что весь осадок находится в растворе и магнитные частицы суспендированы.
2. Для разбавления реагентов для амплификации и активации, и ферментных реагентов, выполните следующие действия:
 - a. Выньте лиофилизированные реагенты и соответствующие разбавители из холодильника (от 2 до 8 °C). Подберите для каждого разбавителя соответствующий лиофилизированный реагент.
 - b. Убедитесь, чтобы разбавитель и лиофилизированный реагент имели совпадающие цвета этикеток. Проверьте номера лотов на листе штрих-кода мастер-лота, чтобы убедиться, что сопоставлены соответствующие реагенты.
 - i. Откройте флакон с лиофилизированным реагентом, сняв металлическую крышку и резиновую пробку.
 - ii. Плотно наденьте зазубренный конец манжеты для разбавления (черного цвета) на флакон с реагентом (Рисунок 5, пункт 1).
 - iii. Откройте соответствующий флакон с разбавителем и установите крышку на чистую, покрытую рабочую поверхность.
 - iv. Поместите флакон с разбавителем на устойчивую поверхность (например, стол). Затем переверните флакон с лиофилизированным реагентом над флаконом с разбавителем и плотно прикрепите манжету к флакону с разбавителем (Рисунок 5, пункт 2).
 - v. Медленно проверните собранные флаконы (флакон с реагентом, прикрепленный к флакону с раствором), чтобы дать раствору стечь в стеклянный флакон (Рисунок 5 пункт 3).

- vi. Собранные флаконы поднимают и переверните несколько раз в течение не менее 10 секунд (Рисунок 5 пункт 4).
- vii. Подождите не менее 30 минут, пока лиофилизированный реагент не растворится.
- viii. После растворения лиофилизированного реагента, взболтните собранные флаконы не менее 10 секунд, а затем слегка покачайте раствор в стеклянном флаконе взад и вперед для тщательного перемешивания.
- c. Снова медленно наклоните собранные флаконы, чтобы весь раствор стек обратно во флакон с разбавителем (Рисунок 5, пункт 5).
- d. Осторожно удалите манжету для разбавления и стеклянный флакон (Рисунок 5, пункт 6).
- e. Закройте флакон. Запишите инициалы оператора и дату разбавления на этикетке (Рисунок 5 пункт 7).
- f. Утилизируйте манжету для разбавления и стеклянный флакон (Рисунок 5, пункт 8).

Предупреждение! Избегайте чрезмерного образования пены при разбавлении реагентов. Пена искажает измерение уровня системой Panther System.

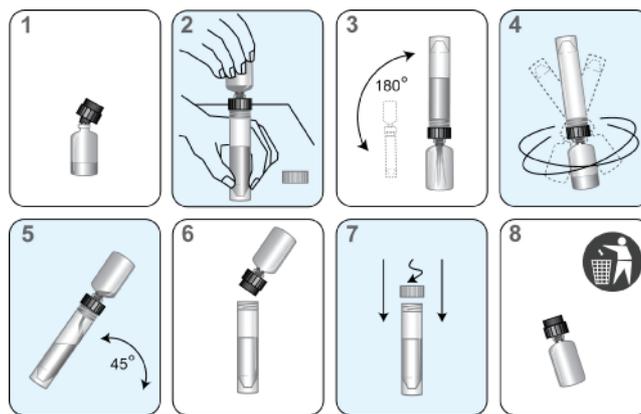


Рисунок 5. Процесс разбавления реагентов

D. Приготовление реагентов для предварительно приготовленных реагентов

1. Извлеките предварительно приготовленные реагенты из холодильника (от 2 °C до 8 °C).
2. Предварительно подготовленные реагенты для амплификации, активации, ферментные реагенты и реагенты захвата мишени (Target Capture Reagent, TCR) должны нагреться до температуры от 15 до 30 °C перед тестированием.
3. Для предварительно подготовленного TCR выполните пункт C.1 выше до загрузки в систему.
4. Взболтните и переверните реагенты для амплификации, активации и ферментные реагенты, чтобы тщательно перемешать перед загрузкой в систему. Избегайте чрезмерного образования пены при перемешивании реагентов.
5. Не доливайте реагенты во флаконы. Флаконы с долитыми реагентами будут опознаны и отклонены системой Panther System.

E. Обработка образцов

1. Убедитесь, что обработанные образцы в первичных пробирках или неразбавленные образцы во вторичных пробирках хранились надлежащим образом в соответствии пунктом с «Сбор и хранение образцов» на стр. 7.
2. Убедитесь, что замороженные образцы окончательно разморозились. Встряхивают размороженные образцы в течение 3-5 секунд, чтобы тщательно перемешать.
3. Позвольте образцам нагреться от 15 °C до 30 °C перед обработкой. См. *Образцы, оставленные в системе Panther System* для более детальной информации.
4. Убедитесь, что каждая пробирка первичного отбора содержит до 1200 мкл образца или каждая SAT содержит не менее 700 мкл образца. См. таблицу, приведенную в пункте *Сбор образцов* на стр. 8, чтобы определить требования к мертвому объему для каждого типа первичной и вторичной пробирки. Если необходимо разбавление образца, см. пункт E.6 ниже для дополнительной информации.
5. Непосредственно перед загрузкой образцов в штатив для проб, отцентрифугируйте каждый образец 1000–3000 *g* в течение 10 минут. Не снимайте Крышки. Пузырьки в пробирке могут исказить измерение уровня системой Panther System.

См. *Подготовка системы*, пункт F.2 ниже, для информации о загрузке штатива и снятии крышек.

6. Разбавьте образец плазмы 1:3 в SAT или 1:100 во вторичной пробирке. Образец плазмы можно разводить во вторичных пробирках для анализа в Panther System.

⚠ Разведение образцов плазмы можно проводить только для количественных результатов. Не разбавляйте образцы плазмы для диагностических результатов.

Примечание. Если образец разбавлен, его следует тестировать сразу же после разбавления.

a. Разбавление образцов малого объема

Объем образцов плазмы можно увеличить до минимально необходимого объема (700 мкл) с помощью разбавителя образцов Aptima. Образцы, содержащие не менее 240 мкл плазмы, можно разбавить двумя частями разбавителя образцов (1:3) следующим образом:

- i. Поместите 240 мкл образца в SAT.
- ii. Добавьте 480 мкл разбавителя образцов Aptima.
- iii. Закройте пробирку.
- iv. Аккуратно проверните 5 раз для перемешивания.

Образцы, разведенные 1:3, могут быть протестированы с использованием варианта 1:3 в системе Panther (дополнительную информацию см. в *Panther System Operator's Manual* (руководстве оператора Panther System)).

Программное обеспечение автоматически сообщит точный результат, применив коэффициент разбавления. Эти образцы будут помечены как разведенные.

b. Разбавление образцов с высоким титром

Если результат образца превышает верхний предел количественного определения, его можно разбавить 99 частями разбавителя образцов Aptima (1:100) следующим образом:

- i. Поместите 30 мкл образца в SAT или вторичную пробирку.

- ii. Добавьте 2970 мкл разбавителя образцов Aptima.
- iii. Закройте пробирку.
- iv. Аккуратно проверните пробирку 5 раз для перемешивания.

Образцы, разведенные 1:100, могут быть протестированы с использованием варианта 1:100 в системе Panther System (дополнительную информацию см. в *Panther System Operator's Manual* (Руководстве оператора Panther System)). Программное обеспечение автоматически сообщит точный результат, применив коэффициент разбавления. Эти образцы будут помечены как разведенные.

Примечание. Для разведенных образцов с концентрациями в чистом виде, превышающими ULoQ, результаты будут указываться с использованием научных обозначений.

F. Подготовка системы

1. Настройте систему в соответствии с инструкциями в *Panther System Operator's Manual* (руководстве по эксплуатации Panther System) и *Примечания к методике*. Убедитесь, что используются штативы для реагентов и адаптеры TCR соответствующего размера.
2. Загрузите образцы в штатив для проб. Выполните следующие шаги для каждой пробирки (образец, и, при необходимости, калибратор и контроли):
 - a. Ослабьте крышку пробирки, при этом не снимая ее.

Примечание. Будьте особенно осторожными, чтобы избежать загрязнения аэрозолями при раскрытии или распечатывании образцов. Аккуратно раскручивайте крышки на образцах.

- b. Загрузите пробирку с пробой в штатив для проб.
- c. Повторите шаги 2.a и 2.b для каждого оставшегося образца.
- d. После загрузки проб в штатив снимают и утилизируют каждую крышку пробирок для проб. Чтобы не допустить загрязнения, не переносите эти крышки над другими штативами и пробирками для проб.
- e. При необходимости используют новую одноразовую пипетку для переноса, чтобы удалить пузырьки или пену.
- f. Когда последняя крышка снята, загрузите пробирку с образцом в отсек для образцов.

Примечание. Если одновременно проводятся другие анализы и используются другие типы образцов, установите фиксатор проб перед загрузкой штатива для проб в отсек.

- g. Повторяют шаги 2.a к 2.f для следующего штатива для проб.

Примечания к методике

A. Калибратор и контроли

1. Пробирки с положительным калибратором qHIV-1, низким положительным контролем qHIV-1, высоким положительным контролем qHIV-1 и отрицательным контролем qHIV-1 можно загружать в любую позицию в штативе для проб и в любой полосе отделения проб в Panther System. Образцы будут пипетированы в случае выполнения одного из следующих двух условий:

- a. Калибратор и контроли в данный момент обрабатываются системой.
 - b. В системе зарегистрированы достоверные результаты для данного комплекта калибраторов и контролей.
2. После того, как калибратор и контрольные пробирки пипетированы и обрабатываются с помощью набора реагентов Aptima HIV-1 Quant Dx assay, образцы можно анализировать с помощью соответствующего разбавленного набора в течение до 24 часов, **за исключением случаев, если:**
- a. Результаты калибровки или контроля недостоверны.
 - b. Соответствующий набор реагентов анализа удален из системы.
 - c. Превышен предел стабильности соответствующего набора реагентов анализа.
3. Калибратор и каждую контрольную пробирку можно использовать один раз. Попытки использовать пробирку более одного раза могут привести к ошибкам обработки.

В. Пудра для перчаток

Как и в любой системе реагентов, избыток пудры на некоторых перчатках может вызвать загрязнение открытых пробирок. Рекомендуется использовать неопудренные перчатки.

Контроль качества

Результат цикла или анализа образца может быть признан оператором недостоверным, если во время анализа обнаружены технические, операторские или инструментальные проблемы и они задокументированы. В этом случае образцы должны быть протестированы повторно.

Калибровка анализа

Для получения достоверных результатов необходимо выполнить калибровку анализа. Единый положительный калибратор запускается в трех репликах каждый раз, когда в Panther System загружается набор реагентов. После установки, калибровка действительна до 24 часов. Программное обеспечение в Panther System предупреждает оператора, когда требуется калибровка. Оператор сканирует калибровочный коэффициент, найденный на листе штрих-кода мастер-лота, поставляемом с каждым набором реагентов.

Во время обработки, критерии приемлемости контролей автоматически проверяются программным обеспечением в Panther System. Если достоверны менее двух реплик калибратора, программа автоматически обозначает тест недостоверным. Образцы в недостоверном тесте должны быть повторно протестированы с использованием свежеприготовленного калибратора и свежеприготовленных контролей.

Отрицательный и положительный контроли

Для получения достоверных результатов необходимо протестировать набор контролей анализа. Одна реплика отрицательного контроля, низкого положительного контроля и высокого положительного контроля должна тестироваться каждый раз, когда в Panther System загружается набор реагентов. После установки контроли действительны до 24 часов. Программное обеспечение в системе Panther System предупреждает оператора, когда требуется калибровка.

Во время обработки, критерии приемлемости контролей автоматически проверяются программным обеспечением в Panther System. Чтобы получить достоверные результаты, отрицательный контроль должен давать результат «Не обнаружено», а положительный контроль должен давать результаты в рамках предварительно определенных параметров. Если какой-либо из контролей показывает недостоверный результат, программа автоматически указывает, что тест недостоверный. Образцы в недостоверном тесте должны быть повторно протестированы с использованием свежеприготовленного калибратора и свежеприготовленных контролей.

Внутренний калибратор / Внутренний контроль

Каждый образец содержит внутренний калибратор / внутренний контроль (IC). Во время обработки, критерии приемлемости внутреннего контроля автоматически проверяются программным обеспечением системы Panther System. Если результат внутреннего контроля является недостоверным, результат тестирования образца считается недостоверным. Каждый образец с недостоверным результатом внутреннего контроля должен быть повторно протестирован, чтобы получить достоверный результат.

Системное программное обеспечение Panther предназначено для точной верификации процессов методик выполнения в соответствии с инструкциями, содержащимися в данном вкладыше и *Panther System Operator's Manual* (Руководстве Руководстве оператора Panther System.)

Интерпретация результатов

Примечание. Количественные результаты Aptima HIV-1 Quant Dx assay оценивались при использовании плазмы. Сыворотку нельзя использовать для получения количественных результатов. Качественные результаты оценивались как для плазмы, так и для сыворотки.

Panther System автоматически определяет концентрацию РНК ВИЧ-1 для образцов и контролей, сравнивая результаты с калибровочной кривой. Концентрации РНК ВИЧ-1 указаны в копиях/мл и \log_{10} копий/мл. Интерпретация результатов приведена в Таблице 1. Если для разбавленных образцов используется разведение 1:3 или 1:100, Panther System автоматически рассчитывает концентрацию ВИЧ-1 для образца в чистом виде путем умножения разбавленной концентрации на коэффициент разбавления, и разбавленные пробы помечаются как разбавленные.

Примечание. Для разбавленных образцов результаты, перечисленные как «не обнаружено» или «обнаружено < 30», могут быть получены путем разбавления образца до вышеуказанной концентрации, но близкой к LoD (предел обнаружения) или LLoQ (нижний предел количественного определения). Рекомендуется отобрать и протестировать другую чистую пробу, если количественный результат не получен.

Panther System не дает качественного результата (т.е. «есть реакция» или «нет реакции») для диагностического использования. Оператор должен перевести сообщенную концентрацию РНК ВИЧ-1 в качественный результат (Таблица 1). Образцы с результатами, указанными как «не обнаружено», являются нереактивными в отношении РНК ВИЧ-1. Образцы с результатами, указанными как «обнаружено < 30», или образцы с результатами, перечисленными в линейном диапазоне, указывают на обнаружение РНК ВИЧ-1, и эти образцы являются реактивными в отношении РНК ВИЧ-1.

Таблица 1: Интерпретация результатов

Полученные результаты Aptima HIV-1 Quant Dx assay		Интерпретация концентрации РНК ВИЧ-1	Диагностическая качественная интерпретация пользователем ^c
Копий/мл ^a	Log ₁₀ Значение ^b		
Не обнаружено	Не обнаружено	РНК ВИЧ-1 не обнаружена.	Нереактивные в отношении РНК ВИЧ-1
обнаружено < 30 ^e	< 1,47	РНК ВИЧ-1 обнаружена, но на уровне ниже LLoQ.	Реактивные в отношении РНК ВИЧ-1
30–10 000 000	1,47–7,00	Концентрация РНК ВИЧ-1 находится в линейном диапазоне от 30 до 10 000 000 копий/мл.	Реактивные в отношении РНК ВИЧ-1
> 10 000 000	> 7,00	Концентрация РНК ВИЧ-1 выше верхнего предела количественного определения (ULoQ).	Реактивные в отношении РНК ВИЧ-1
Недействительный ^d	Недействительный ^d	Произошла ошибка при генерации результата. Образец должен быть исследован повторно.	Недействительный

^a Коэффициент преобразования копий в Международные единицы (МЕ) 3-го Международного стандарта для РНК ВИЧ-1 (10/152) составляет 0,35 копий/МЕ.

^b Значение округляется до двух десятичных знаков.

^c Диагностическая интерпретация может быть сделана из образцов сыворотки или плазмы, которые не разводились.

^d Недействительные результаты отображаются синим цветом.

^e Наименьшее регистрируемое значение программного обеспечения составляет 30 копий/мл. Самый высокий уровень LoD в анализе составляет 17,5 копий/мл для подтипа G. Значения LoD для всех подтипов см. в таблице 3. LoD с использованием 3-го Международного стандарта ВОЗ (подтип B) для РНК ВИЧ-1 составляет 12,1 копий/мл (см. таблицу 2).

Ограничения

- A. Использование этого анализа ограничено персоналом, который обучен этой методике. Невыполнение инструкций, приведенных в данном вкладыше, может привести к ошибочным результатам.
- B. Надежные результаты зависят от адекватного отбора, транспортировки, хранения и обработки образцов.
- C. Этот анализ был утвержден для использования как количественный анализ только с плазмой человека с EDTA и ACD.
- D. Этот анализ был утвержден для использования как качественный анализ с плазмой и сывороткой человека с EDTA и ACD.
- E. В редких случаях, мутации в высоко консервативных участках вирусного генома, охватываемых праймерами и/или зондами в тест-системе Aptima HIV-1 Quant Dx assay, могут привести к недостоверному количественному определению или невозможности обнаружения вируса.

Эффективность**Предел обнаружения (LoD) с использованием 3-го международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1**

Предел обнаружения (LoD) определяется как концентрация РНК ВИЧ-1, которая обнаруживается с вероятностью 95 % или более в соответствии с CLSI EP17-A2 (39). LoD определяли с помощью тестирования панелей, которые состояли из разведений 3-го Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1 (подтип В, код NIBSC: 10/152) в плазме, отрицательной в отношении ВИЧ-1. Тридцать реплик каждого разведения определяли на трех системах Panther с использованием трех партий реактивов, всего 90 реплик для каждого разведения. Согласно CLSI EP17-A2, результаты для партии реактивов с наивысшей концентрацией для прогнозируемого предела обнаружения определяются как LoD и показаны в Таблице 2. Согласно пробит-анализу, LoD для Aptima HIV-1 Quant Dx assay составляет 12 копий/мл (35 МЕ/мл; 0,35 копий = 1 МЕ).

Таблица 2: Предел обнаружения Aptima HIV-1 Quant Dx assay с использованием 3^о Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1

Прогнозируемый предел детекции	Концентрация (копий/мл)
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

Предел обнаружения по подтипам и группам ВИЧ-1

Для группы М ВИЧ-1 (подтипы А, С, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) и групп N и O были созданы семь панелей путем внесения либо культивированного вируса ВИЧ-1, либо положительных клинических образцов в плазму человека, отрицательную в отношении ВИЧ-1 (от 0 до 40 копий/мл). Каждый элемент панели был проанализирован в 30 репликах с двумя партиями реактивов — в общей сложности 60 реплик для каждого элемента панели. Назначение концентрации для клинических образцов или культивируемого вируса определяли с использованием сравнительного анализа. Пробит-анализ был выполнен, чтобы сформировать предсказанные пределы детекции 50 % и 95 %. Согласно CLSI EP17-A2 (39), результаты для партии реактивов с наивысшей концентрацией для прогнозируемого предела обнаружения определяются как LoD и показаны в Таблице 3.

Таблица 3: Предел обнаружения по подтипам и группам ВИЧ-1

Подтип/группа	Прогнозируемый предел детекции	Концентрация (копий/мл)
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

Линейный диапазон

Линейный диапазон Aptima HIV-1 Quant Dx assay был установлен с помощью тестирования панелей, которые состояли из культивируемого вируса ВИЧ-1 подтипа В, разведенного в плазме человека, отрицательной в отношении ВИЧ-1, в соответствии с CLSI EP06-A (40). Панели отличались по концентрации в пределах от 1,30 до 7,30 log копий/мл. Тестирование проводилось на семи системах Panther с двумя партиями реактивов для Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Как показано на Рисунке 6, анализ Aptima Quant Dx продемонстрировал линейность во всем протестированном диапазоне.

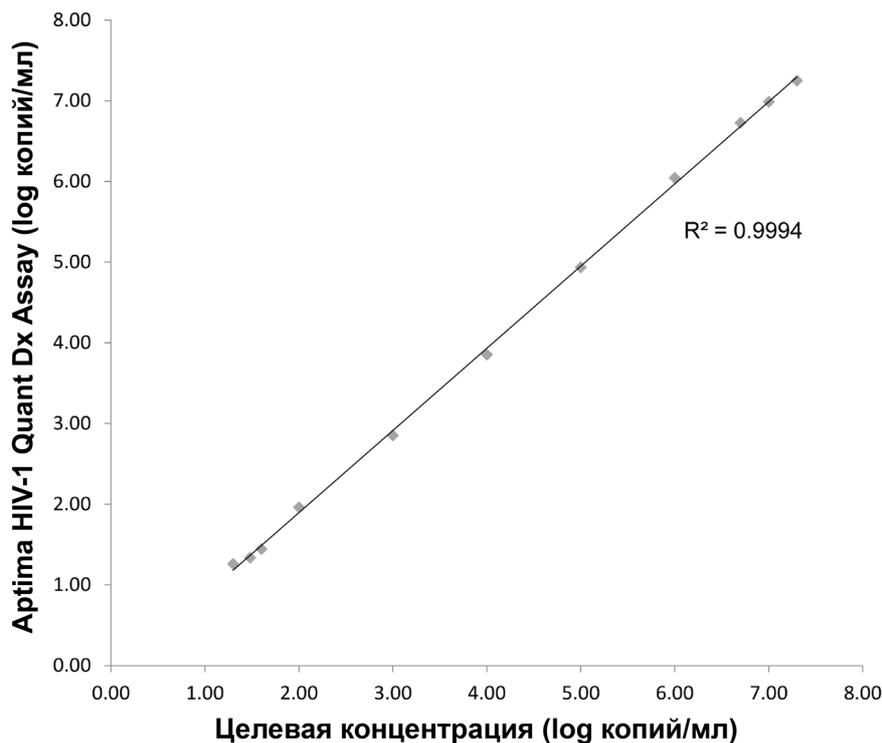


Рисунок 6. Линейность Aptima HIV-1 Quant Dx assay

Линейность по подтипам и группам ВИЧ-1

Линейный результат Aptima HIV-1 Quant Dx assay по группе М (подтипы А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE) и по группам N и O был подтвержден тестированием панелей, состоящих из транскрипта ВИЧ-1, разведенного в буфере в концентрациях от 2,00 до 6,70 log копий/мл. Тестирование проводилось на четырех системах Panther и в шести циклах. Линейность была продемонстрирована во всем протестированном диапазоне (Рисунок 7).

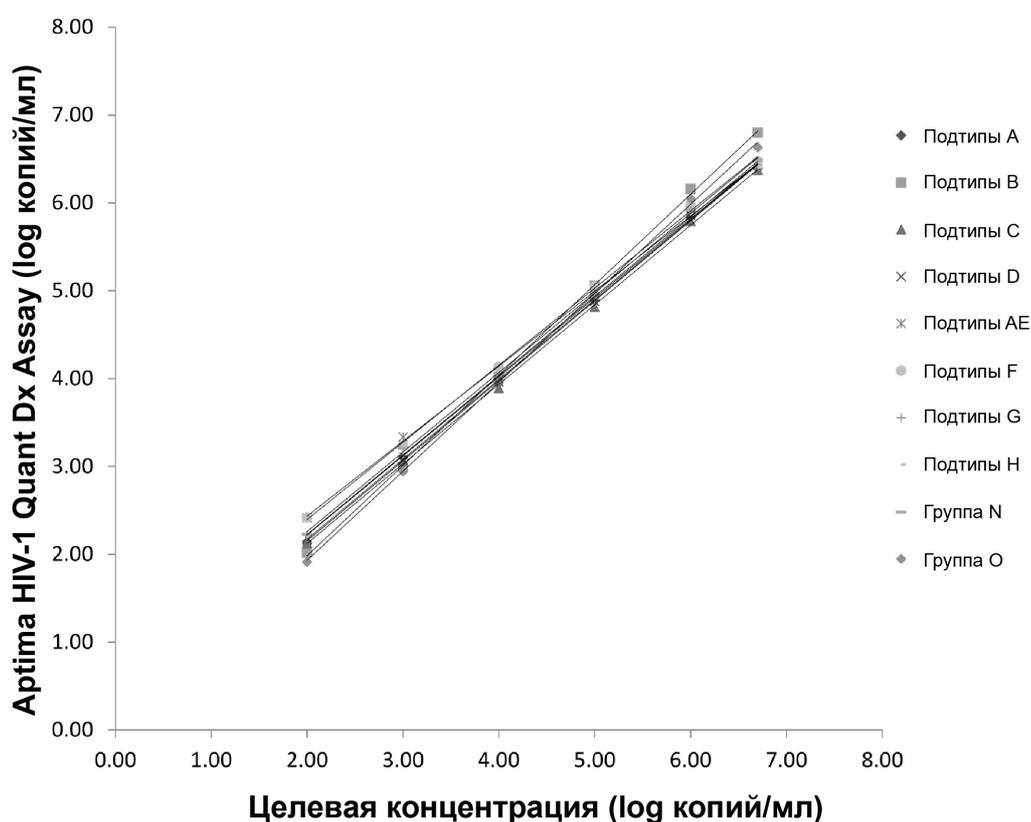


Рисунок 7. Линейность для группы М (подтипы А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE) и группы N и O

Нижний предел количественного определения с использованием (LLOQ) с 3-го Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1

Согласно CLSI EP17-A2 (39), нижним пределом количественного определения (LLOQ) считают минимальную концентрацию, при которой РНК ВИЧ-1 надежным образом количественно определяется в пределах общей ошибки (ОО). ОО рассчитывали с использованием модели Вестгарда ($ОО = |ошибка| + 2СО$). Для обеспечения точности и прецизионности измерений, ОО тест-системы Aptima HIV-1 Quant Dx assay была установлена на уровне 1 log копий/мл (т.е., при LLOQ разница между двумя измерениями более 1 log копий/мл является статистически значимой).

LLOQ определяли с помощью тестирования панелей, которые состояли из разведений 3^{го} Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1 (подтип В, код NIBSC: 10/152) в плазме, отрицательной в отношении ВИЧ-1. Согласно CLSI EP17-A2, панели тестировались с тремя партиями реактивов по 30 реплик для каждой партии из 23 циклов. Результаты показаны в Таблице 4. Наивысший LLOQ для трех протестированных партий в рамках Aptima HIV-1 Quant Dx assay с использованием 3^{го} Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1 составляет 15 копий/мл (1,17 log копий/мл; 42,9 МЕ/мл) (Таблица 5).

Таблица 4: Определение LLOQ для Aptima HIV-1 Quant Dx assay с использованием 3^{го} Международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1

Лот реагентов	Целевая концентрация (log копий/мл)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log копий/мл)	СО (log копий/мл)	ошибка (log копий/мл)	Расчетная ОО (log копий/мл)
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

СО = стандартное отклонение

Таблица 5: Суммарные результаты нижнего предела количественного определения (LLoQ) с использованием 3-го международного стандарта ВОЗ для ВИЧ-1 (3 набора реагентов)

Лот реагентов	LLoQ (log копий/мл)	LLoQ (копий/мл)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Проверка нижнего предела количественного определения (LLoQ) по подтипам и группам ВИЧ-1

Значение LLoQ по подтипам и группам ВИЧ-1 было подтверждено в соответствии со стандартом CLSI EP17-A2 (39). Панели были приготовлены для каждой группы М ВИЧ-1 (подтипы А, В, С, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) и групп N и O путем добавления смешанной ВИЧ-1-отрицательной плазмы крови человека с либо естественно инфицированными клиническими образцами, либо с клиническими изолятами. Тестирование состояло из 30 реплик на каждого члена панели. Данные в Таблице 6 показывают самую низкую концентрацию для каждого подтипа или группы, при которой общая ошибка (ОО) составила менее 1 log копий/мл. Самый высокий LLoQ для всех исследованных подтипов и групп составил 30 копий/мл; поэтому это более высокое значение было выбрано в качестве LLoQ для Aptima HIV-1 Quant Dx assay.

Таблица 6: Проверка LLoQ по подтипу или группе ВИЧ-1

Панель	LLoQ (копий/мл)
Подтип А	30
Подтип CRF01_AE	10
Подтип CRF02_AG	30
Подтип В	10
Подтип С	30
Подтип D	15
Подтип F	15
Подтип G	30
Группа N	10
Группа O	15

Прецизионность

Чтобы оценить прецизионность Aptima HIV-1 Quant Dx assay, панель, созданная путем добавления культивируемого вируса ВИЧ-1 подтипа В в ВИЧ-1-негативную плазму, была протестирована тремя операторами с использованием трех партий реагентов на трех системах Panther в течение 20 дней (Таблица 7). Панель состояла из одного ВИЧ-1-негативного члена панели, и восьми ВИЧ-1-позитивных членов панели. Назначение концентраций для клинических образцов или запасов культивируемого вируса определяли с использованием сравнительного анализа.

Таблица 7: Прецизионность количественного Aptima HIV-1 Quant Dx assay

Количество действительных реплик	Средняя концентрация (log копий/мл)	Между приборами		Между операторами		Между партиями		Между циклами		Внутри цикла		Всего	
		СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)	СО	КВ (%)
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

КВ = коэффициент вариации, СО = стандартное отклонение

^a Этот член панели разбавляли в концентрации 1:3 разбавителем образца и тестировали для оценки прецизионности разбавленного образца.

Примечание. Вариабельность вызванная некоторыми факторами может быть численно отрицательной, что может иметь место, если вариабельность из-за этих факторов очень мала. В таком случае СО = 0 и КВ = 0%. Общее количество протестированных реплик составило 162 для каждой панели; анализировались только реплики с числовым значением.

Потенциальные интерференты

Была оценена восприимчивость Aptima HIV-1 Quant Dx assay к интерференции повышенных уровней эндогенных соединений и лекарственных средств, часто назначаемых людям, инфицированным ВИЧ-1. Были протестированы образцы плазмы крови человека с отрицательной реакцией на ВИЧ-1 и образцы с концентрацией 3 log копий/мл РНК ВИЧ-1.

Никакого влияния на результаты Aptima HIV-1 Quant Dx assay не наблюдалось в присутствии альбумина (90 мг/мл), гемоглобина (5 мг/мл), триглицеридов (30 мг/мл) или неконъюгированного билирубина (0,2 мг/мл).

При проведении Aptima HIV-1 Quant Dx assay в присутствии экзогенных веществ, перечисленных в Таблице 8, в концентрациях, по крайней мере, в три раза превышающих C_{max} (плазма крови человека), интерференций не наблюдалось.

Таблица 8: Экзогенные вещества

Пул экзогенных веществ	Испытанные экзогенные вещества
1	Лопинавир, индинавир, саквинавир, ритонавир, нелфинавир мезилат, дарунавир, ампренавир, атазанавир
2	Невирапин, эфавиренц, рилпивирин, кларитромицин, амфотерицин В
3	Тенофовир дизопроксилфумарат, адефовир дипивоксил, рибавирин, энфувиртид, маравирок, ралтегравир, долутегравир
4	Абакавир сульфат, диданозин, зидовудин, ламивудин, ставудин, энтекавир, телбивудин, эмтрицитабин
5	Пароксетина гидрохлорид, флуоксетин, сертралин
6	Ганцикловир, валацикловир, ацикловир, рифампин/рифампицин, этамбутол
7	Ципрофлоксацин, азитромицин, амоксициллин, цефалексин, ампициллин, триметоприм
8	Валганцикловир гидрохлорид, боцепревир, телапревир, симепревир, софосбувир
9	Пегилированный интерферон альфа -2b, интерферон альфа -2a, интерферон альфа -2b
10	Гепарин, ЭДТА, натрия цитрат
11	Типранавир
12	Изониазид

Клинические образцы плазмы, перечисленные в Таблице 9, отобранные у пациентов с повышенными уровнями определенных веществ или у пациентов с перечисленными заболеваниями, были протестированы с помощью Aptima HIV-1 Quant Dx assay в присутствии и без присутствия 3 log-копий РНК ВИЧ-1. Никакого влияния на результаты не наблюдалось.

Таблица 9: Типы протестированных клинических образцов

Типы клинических образцов	
1	Ревматоидный фактор (РФ)
2	Антядерное антитело (АНА)
3	Антитело к антигену Jo-1 (JO-1)
4	Системная красная волчанка (СКВ)
5	Ревматоидный артрит (РА)
6	Рассеянный склероз (РС)
7	Гиперглобулинемия
8	Повышенный уровень аланинаминотрансферазы (АЛТ)
9	Алкогольный цирроз (АЦ)
10	Множественная миелома (ММ)
11	Липемический (повышенный уровень липидов)
12	Иктерический (повышенный уровень билирубина)
13	Гемолизированный (повышенный уровень гемоглобина)
14	Повышенный уровень белка альбумина
15	Антитела к ВГС
16	Антитела к ВГВ
17	Антитела к ВИЧ-2

Специфичность

Специфичность Aptima HIV-1 Quant Dx assay определяли с использованием 120 свежих и 510 замороженных ВИЧ-1-отрицательных образцов плазмы и с использованием 120 свежих и 510 замороженных ВИЧ-1-отрицательных образцов сыворотки. Все результаты были нереактивными (специфичность 100 %; 95 % ДИ: 99,4–100 %).

Таблица 10: Специфичность в образцах плазмы и сыворотки

	Свежая плазма	Замороженная плазма	Вся плазма	Свежая сыворотка	Замороженная сыворотка	Вся сыворотка
Достоверные реплики (n)	120	510	630	120	510	630
Нереактивные	120	510	630	120	510	630
Специфичность (95 % ДИ)	100 % (97,0–100)	100 % (99,3–100)	100 % (99,4–100)	100 % (97,0–100)	100 % (99,3–100)	100 % (99,4–100)

ДИ = доверительный интервал

Аналитическая специфичность

Потенциальную перекрестную реактивность к патогенам (Таблица 11) оценивали с Aptima HIV-1 Quant Dx assay в присутствии или в отсутствие 3 log копий/мл РНК ВИЧ-1 в ВИЧ-1-отрицательной плазме. В присутствии патогенных микроорганизмов интерференция в рабочих характеристиках анализа не наблюдалась.

Таблица 11: Патогенные микроорганизмы, проверенные на аналитическую специфичность

Патогенный микроорганизм	Концентрация
Вирус гепатита А	100 000 БОЕ/мл ^а
Вирус гепатита В	100 000 МЕ/мл ^б
Вирус гепатита С	100 000 МЕ/мл
Вирус гепатита G	100 000 копий/мл
Вирус простого герпеса типа 1 (ВПГ-1)	100 000 БОЕ/мл
Вирус простого герпеса типа 2 (ВПГ-2)	75 000 БОЕ/мл
Вирус герпеса человека типа 6	100 000 копий/мл
Вирус герпеса человека типа 8	42 000 БОЕ/мл
ВИЧ-2	5 500 БОЕ/мл
Т-лимфотропный вирус человека (HTLV)	100 000 вирусных частиц/мл ^с
Вирус Западного Нила	100 000 копий/мл
Парвовирус В19	100 000 МЕ/мл
Цитомегаловирус	100 000 копий/мл
Вирус Эпштейна-Барра	100 000 копий/мл
Аденовирус типа 5	100 000 БОЕ/мл
Вирус денге	100 000 копий/мл
Вирус гриппа А	100 000 БОЕ/мл
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 КОЕ/мл ^д
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 КОЕ/мл
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 КОЕ/мл
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 КОЕ/мл
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 БОЕ/мл ^е
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 КОЕ/мл

^а БОЕ/мл = бляшкообразующие единицы на мл.

^б МЕ/мл = международные единицы на мл.

^с вирусные частицы/мл = вирусные частицы на мл.

^д КОЕ/мл = колониеобразующие единицы на мл.

^е БОЕ/мл = включениеобразующие единицы на мл.

Повторяемость клинических образцов

Десять клинических образцов плазмы были протестированы в трех репликах с использованием Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Средняя концентрация и стандартное отклонение указаны в Таблице 12.

Таблица 12: Повторяемость клинических образцов

Образец	Средняя концентрация (log копий/мл)	CO
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

Разбавление образца с использованием разбавителя образца

Для оценки разбавления образца панель, состоящая из 11 образцов с концентрациями, которые охватывали линейный диапазон Aptima HIV-1 Quant Dx assay, и которая включала два образца выше верхнего предела количественного анализа, была протестирована в чистом виде и в разбавленном виде (1 : 3 или 1 : 100 в разбавителе образца) в трех репликах (Таблица 13).

Таблица 13: Разведение образца

Разбавление	Средняя концентрация в чистом виде (log копий/мл)	Средняя зарегистрированная концентрация ^a (log копий/мл)	Разница
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

^a Зарегистрированная концентрация — это значение, сообщаемое системой Panther System после применения коэффициента разбавления.

^b Образец с добавкой

^c Все результаты >7,00 log копий/мл были оценены с использованием дополнительного анализа

Корреляция метода

Эффективность Aptima HIV-1 Quant Dx assay оценивали по сравнению с СЕ-маркированным сравнительным методом путем тестирования неразбавленных клинических образцов плазмы ВИЧ-1-инфицированных пациентов в четырех системах Panther с двумя партиями реагентов. Для линейной регрессии было использовано в общей сложности 342 замороженных и 108 свежих образцов плазмы с результатами, поддающимися количественному измерению как в Aptima HIV-1 Quant Dx assay, так и в сравнительном методе (Рисунок 8). Образцы включали группу М ВИЧ-1 (подтипы А, В, С, D, F, G, H, CRF01_AE, CRF02_AG).

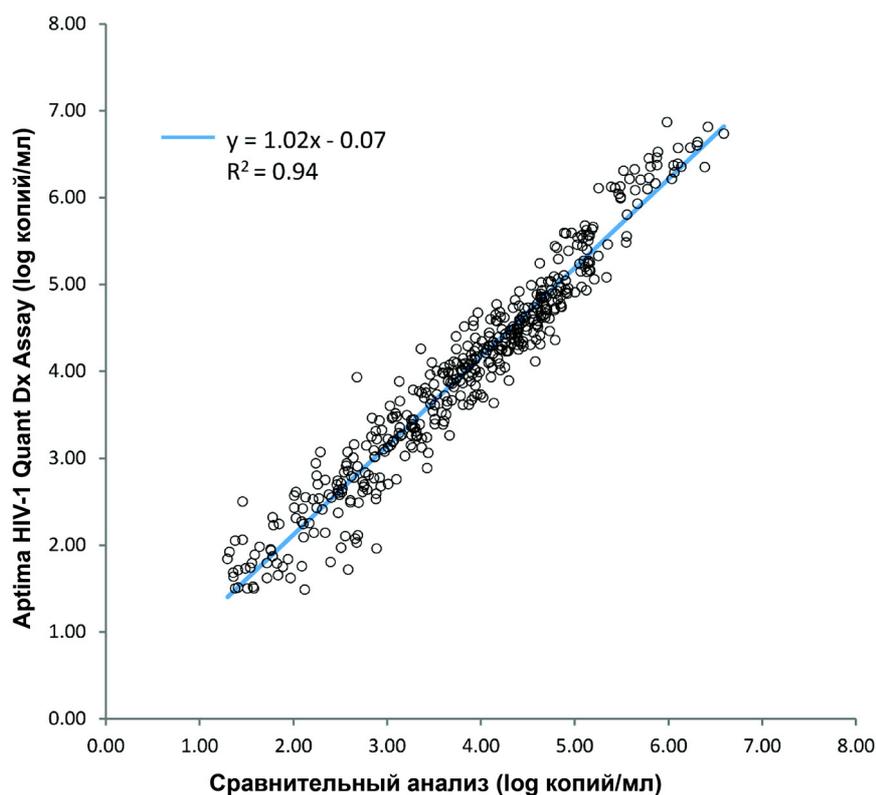


Рисунок 8. Корреляция между Aptima HIV-1 Quant Dx assay и сравнительным анализом

Диагностическая согласованность

Чтобы оценить диагностическую согласованность, образцы от ВИЧ-1-положительных людей были протестированы с использованием Aptima HIV-1 Quant Dx assay и сравнительного качественного анализа на ВИЧ-1, отмеченного знаком СЕ: 414 образцов имели действительные результаты (Таблица 14). Результаты обоих анализов были классифицированы следующим образом. Любой результат, дающий обнаруживаемый результат или результат, поддающийся количественной оценке, был классифицирован как «Обнаружено» Любой результат необнаруженной цели был отнесен к категории «Цель не обнаружена».

Таблица 14: Диагностическая согласованность между Aptima HIV-1 Quant Dx assay и сравнительным анализом

		Aptima HIV-1 Quant Dx assay	
		Обнаружено	Цель не обнаружена
Сравнительный анализ	Обнаружено	214	0
	Цель не обнаружена	0	200

Перенос загрязнения

Чтобы установить, сводит ли система Panther System к минимуму риск ложноположительных результатов, связанных с загрязнением при переносе, было проведено многократное аналитическое исследование с использованием панелей с добавкой в двух системах Panther System. Перенос был оценен с использованием образцов с добавкой высокого титра ВИЧ-1 (7 log копий/мл), распределенных между отрицательными образцами ВИЧ-1 в шахматном порядке. Тестирование проводилось в течение пяти циклов. Общий коэффициент переноса составил 0 % (n = 469).

Сероконверсионная панель

Девятнадцать наборов сероконверсионной панели ВИЧ-1, состоящих из 204 образцов, были протестированы с использованием Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Выявление РНК ВИЧ-1 сравнивали с выявлением с помощью тестов на антиген р24 и тестов на антитела к ВИЧ-1/2. Количество дней до появления первого реактивного результата с использованием тестов на антиген р24, тестов на антитела к ВИЧ 1/2 и Aptima HIV-1 Quant Dx assay указано в Таблице 15. Aptima HIV-1 Quant Dx assay обнаружил РНК ВИЧ-1 в среднем за 5,58 и 11,16 дней до тестов на антиген р24 и антитела к ВИЧ 1/2.

Таблица 15: Сводка данных сероконверсионной панели

ID панели	Количество протестированных членов панели	Количество реактивных членов панели			Дни до появления первого реактивного результата			Разница в днях до первого реактивного результата (на основе даты забора крови)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	Антиген ВИЧ р24	Антитело к ВИЧ 1/2	Aptima HIV-1 Quant Dx	Антиген ВИЧ р24	Антитело к ВИЧ 1/2	На ... дней раньше обнаружения антигена ВИЧ р24	На ... дней раньше обнаружения антител к ВИЧ 1/2
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
Всего	204	82	51	20	Среднее значение			5,58	11,16
					Медиана			7	12

^a Все заборы крови в этой панели не были реактивными в отношении антител к ВИЧ 1/2. Последний день забора крови указан как «Дни до первого реактивного результата».

Тестирование антител к ВИЧ-1/2 было завершено с использованием Abbott Anti-HIV 1/2, за следующими исключениями:

^b Панели PRB974, PRB975 и PRB978 были протестированы с помощью теста Siemens Anti-HIV 1/2.

Тестирование антигена ВИЧ-1 р24 было завершено с использованием Coulter HIV-1 р24 Ag, за следующими исключениями:

^b Панели PRB974, PRB975 и PRB978 были протестированы с помощью теста BioMerieux р24 Ag.

Исследование эквивалентности в сыворотке, плазме

Для оценки эквивалентности были подобраны подходящие наборы сыворотки и плазмы (25 ВИЧ-1-положительных и 25 ВИЧ-1-отрицательных) и 40 образцов, в которые был добавлен культивируемый ВИЧ-1 (50–1 000 000 копий/мл в ВИЧ-1-отрицательной плазме и сыворотке) были протестированы с помощью Aptima HIV-1 Quant Dx assay. Отрицательная согласованность составила 100,0 % (95 % ДИ: 97,0–100,0 %). Положительная согласованность составила 98,4 % (95 % ДИ: 95,4–99,5 %).

Список использованной литературы

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, and L. Montagnier. 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo. 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann. 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo. 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey. 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier. 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
9. Gaines, H., M. A. von Sydow, and L. V. von Stedingk. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. Tindall, B., and D. A. Cooper. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo. 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci. 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H. C. Lane. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. Coffin, J. M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton. 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker. 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type 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*, 2nd ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. 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 immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639–2642.
33. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
34. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert 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

Поддержка пользователя: +1 800 442 9892
customersupport@hologic.com

Техническая поддержка: +1 888 484 4747
molecularsupport@hologic.com

Для получения дополнительной контактной информации посетите вебсайт www.hologic.com.



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Hologic, Aptima, Panther, а также соответствующие логотипы являются товарными знаками и (или) зарегистрированными товарными знаками компании Hologic, Inc. и (или) ее дочерних компаний в США и других странах.

Armored RNA является товарным знаком компании Asuragen, Inc.

Все остальные товарные знаки, которые могут присутствовать в этом вкладыше, являются собственностью их соответствующих владельцев.

Данное изделие может подпадать под действие одного или нескольких патентов США, которые можно найти на сайте: www.hologic.com/patents.

©Hologic, Inc., 2014–2020. Все права защищены.
AW-11853-201 Ред. 010
2020-11