

# COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, version 2.0

**cobas**

## SKIRTAS *IN VITRO* DIAGNOSTIKAI.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®  
HIV-1 Test, v2.0

**HI2CAP**

48 Tests

P/N: 05212294 190

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®  
Wash Reagent

**PG WR**

5.1 Liters

P/N: 03587797 190

### PASKIRTIS

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, 2.0 versija (v2.0), yra *in vitro* nukleorūgščių amplifikacijos tyrimas, skirtas kiekybiškai įvertinti 1 tipo žmogaus imunodeficitu viruso (ŽIV-1) RNR žmogaus EDTA plazmoje arba iš **cobas**® plazmos atskyrimo kortelės (**PSC**) sausos plazmos lašo, naudojant COBAS® AmpliPrep automatinio mėginių apdorojimo instrumentą ir COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 automatinės amplifikacijos ir aptikimo analizatorių. Atliekant šį tyrimą galima kiekybiškai įvertinti ŽIV-1 RNR nuo 20 iki 10 000 000 kopijų viename ml (nuo 33 iki 1,67 x 10<sup>7</sup> tarptautinių vienetų [TV]/ml EDTA plazmoje ir nuo 738 iki 10 000 000 kopijų viename ml (nuo 1230 iki 1,67 x 10<sup>7</sup> tarptautinių vienetų [TV]/ml) **PSC** sausos plazmos laše). Viena ŽIV-1 RNR kopija atitinka 1,67 TV pagal PSO 1-ąjį ŽIV-1 RNR nukleino rūgšties metodų (NAT) tarptautinį standartą (NIBSC 97/656)<sup>36</sup>.

Šis tyrimas skirtas naudoti ŽIV-1 infekuotų pacientų grupių M ir O klinicinei priežiūrai, atsižvelgiant į klinikinę situaciją ir kitus laboratorinius ligos progreso žymenis. Tyrimą galima naudoti paciento būklės prognozei įvertinti matuojant pradinį ŽIV-1 RNR lygį arba antiretrovirusinei terapijai stebėti matuojant ŽIV-1 RNR lygį pokyčius antiretrovirusinio gydymo kurso metu.

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) nėra skirtas patikrinti, ar kraujyje ir jo produktuose yra ŽIV-1, taip pat jis nėra skirtas naudoti kaip diagnostinis tyrimas, kuris patvirtintų ŽIV-1 infekcijos buvimą.**

### TYRIMO SANTRAUKA IR PAAIŠKINIMAS

Žmogaus imunodeficitu virusas (ŽIV) yra etiologinis įgyto imunodeficitu sindromo (AIDS) agentas<sup>1-3</sup>. ŽIV infekcija gali būti perduodama per lytinį kontaktą, per užkrėstą kraują ar kraujo produktus arba iš motinos vaisiui<sup>4</sup>. Per 3–6 savaites po infekavimo ŽIV infekuotų asmenų organizme pastebimas trumpas ūmus sindromas, kuriam būdingi gripo simptomai ir kuris susijęs su aukštu viremijos lygiu periferiniame kraujyje<sup>5-8</sup>. Daugumai infekuotų asmenų vėliau pasireiškia ŽIV būdinga imuninė reakcija ir plazmos viremijos lygio sumažėjimas, dažniausiai vykstantis per 4–6 savaites nuo simptomų pradžios<sup>9, 10</sup>. Po serokonversijos infekuotų asmenų būklė pasiekia kliniškai stabilią, besimptomę fazę, kuri gali trukti kelerius ar daugiau metų<sup>11-13</sup>. Besimptomis laikotarpis apibūdinamas kaip nuolatinė žemo lygio plazmos viremija<sup>14</sup> ir laipsniškas CD4<sup>+</sup> T limfocitų išsekimas, sukeliantis sunkų imunodeficitą, įvairias oportunistines infekcijas, piktybinius auglius ir mirtį<sup>15</sup>. Nors periferiniame kraujyje viruso lygis per besimptomę infekcijos fazę santykinai žemas, viruso replikacija ir pašalinimas yra dinamiški procesai, per kuriuos aukštus viruso gamybos ir CD4<sup>+</sup> ląstelių infekavimo lygius tolygiai kompensuoja aukšti viruso pašalinimo, infekuotų ląstelių žūtis ir CD4<sup>+</sup> ląstelių atkūrimo lygiai, palaikantys santykinai stabilius plazmos viremijos ir CD4<sup>+</sup> ląstelių lygius<sup>16-18</sup>.

Kiekybiniai ŽIV viremijos periferiniame kraujyje matavimai parodė, kad aukštesni viruso lygiai gali būti susiję su padidėjusia klinikinio ŽIV progresavimo rizika ir kad plazmos viruso lygio sumažėjimas gali būti susijęs su sumažėjusia klinikinio progresavimo rizika<sup>19-21</sup>. Periferiniame kraujyje virusų lygį galima kiekybiškai įvertinti matuojant ŽIV p24 antigeną serume pagal kiekybinę ŽIV kultūrą iš plazmos arba tiesiogiai matuojant viruso RNR plazmoje, naudojant nukleino rūgšties amplifikacijos arba signalinės amplifikacijos technologijas<sup>22-28</sup>.

Dabar Pasaulinė sveikatos organizacija taip pat rekomenduoja naudoti sauso lašo mėginius, norint išplėsti virusų kiekio tyrimų prieinamumą esant ribotiems ištekliams, kai nėra tiesioginio flebotomijos paslaugų prieinamumo ar galimybės užtikrintam EDTA plazmos mėginių transportavimui<sup>27</sup>. Esant tokioms sąlygoms, sausos plazmos lašas iš **PSC**, kuri stabilizuoja ŽIV RNR sausoje plazmoje, gali pagerinti virusų kiekio tyrimų aprėptį, nes leidžia mėginius transportuoti ilgesniais atstumais ir nepalankesnėmis aplinkos sąlygomis nei transportuojant EDTA plazmą.

p24 antigenas yra pagrindinis ŽIV šerdies proteinas, aptinkamas serume laisvas arba sujungtas su anti-p24 antikūnais. Laisvo p24 antigeno kiekį galima išmatuoti naudojant rinkoje esančius fermentų imunologinius tyrimus (EIA), nors p24 antigeno, kaip virusų kiekio žymens, naudingumas yra ribotas, nes antigenas aptinkamas tik 20 % simptomų nepatiriančių pacientų organizme ir 40–50 % simptomus patiriančių pacientų organizme. Antigenų ir antikūnų kompleksų atskyrimo procedūros pagerina p24 antigeno tyrimų jautrumą, tačiau daugumos simptomų nepatiriančių pacientų organizme viruso proteino vis tiek aptikti neįmanoma<sup>22</sup>.

Infekcinis ŽIV plazmoje gali būti užaugintas inokuliuojant jį į iš sveikų donorų paimtas aktyvias periferinio kraujo mononuklearines ląsteles (PBMC). Kiekybiškai įvertinama inokuliuojant PBMC į atskiestus serijinius plazmos mėginius. Kiekybinės kultūros naudingumas stebint viruso lygį infekuotų asmenų organizmuose mažas, kadangi tik maža dalis viruso dalelių yra užkrečiama *in vitro*. Simptomų nepatiriančių asmenų organizme infekcinio viruso dažniausiai aptikti negalima<sup>22</sup>.

ŽIV RNR plazmoje galima kiekybiškai įvertinti taikant nukleino rūgšties amplifikacijos technologijas, pvz., polimerazės grandininę reakciją (PGR)<sup>28–30</sup>. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) apima PGR technologiją, skirtą maksimaliam jautrumui ir dinamiškumo diapazonui pasiekti, norint įvertinti ŽIV-1 RNR kiekį nekrešančioje EDTA plazmoje ir **PSC** sausos plazmos laše.

## PROCEDŪROS PRINCIPAI

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) yra nukleino rūgšties amplifikacijos tyrimas, skirtas žmogaus imunodeficitu 1 tipo viruso (ŽIV-1) RNR kiekybiškai įvertinti žmogaus EDTA plazmoje arba **PSC** sausos plazmos laše. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) pagrįstas trimis pagrindiniais procesais: 1) mėginio paruošimas ŽIV-1 RNR izoliuoti; 2) tiriamos RNR atvirkštinė transkripcija, skirta komplementariajai DNR (cDNR) sugeneruoti; 3) tuo pačiu metu vykstanti tiriamos cRNR PGR amplifikacija ir suskaidyto dvigubai pažymėto oligonukleotidų aptikimo zondo, būdingo tiriamajam objektui, aptikimas.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) leidžia automatiškai paruošti mėginį ir atlikti automatinę atvirkštinę transkripciją, tiriamos ŽIV-1 RNR PGR amplifikaciją ir ŽIV-1 Armored RNA kiekybinio standarto (QS) aptikimą. Pagrindinio mišinio reagentu yra ir ŽIV-1 RNR, ir ŽIV-1 QS RNR pradmenų bei zondų. Pagrindinis mišinys sukurtas taip, kad užtikrintų vienodą ŽIV-1 grupių M ir O potipių kiekybinį įvertinimą. Amplifikuota DNR aptinkama naudojant specialiai tiriamajam objektui ir QS pritaikytus dvigubai pažymėtus oligonukleotidų zondus, kurie leidžia nepriklausomai identifikuoti ŽIV-1 ir ŽIV-1 QS amplifikacijos produktus.

ŽIV-1 viruso RNR kiekybiškai įvertinama naudojant ŽIV-1 QS. Jis kompensuoja slopinimo efektą, reguliuoja paruošimo bei amplifikacijos procesus ir leidžia tiksliau kiekybiškai įvertinti kiekvieno mėginio ŽIV-1 RNR. ŽIV-1 QS yra neinfekcinis „Armored RNA“ darinys su ŽIV grandimis, kurių pradmenų jungties vietos yra tokios pačios kaip ŽIV-1 tiriamos RNR, o unikalios jungties vieta leidžia atskirti ŽIV-1 QS amplifikacijos produktą nuo ŽIV-1 tiriamo amplifikacijos produkto.

Į kiekvieną mėginį su žinomu kopijos numeriu įdedama ŽIV-1 QS, kuris išlieka vėlesniais mėginio paruošimo, tuo pačiu metu vykstančios PGR amplifikacijos ir suskaidyto dvigubai pažymėto oligonukleotidų zondo, būdingo objektui, aptikimo etapais. COBAS® TaqMan® analizatorius arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorius skaičiuoja ŽIV-1 RNR koncentraciją tyrimo mėginiuose palygindamas kiekvieno mėginio ir kontrolės ŽIV-1 ir ŽIV-1 QS signalus.

## Tiriamąjo objekto parinkimas

RNR sekos parinkimas atliekant ŽIV-1 tyrimą priklauso nuo identifikuotų ŽIV-1 genome esančių dalių, kuriuose matomas maksimalus ŽIV-1 grupių M ir O potipių sekų išlaikymas. Siekiant išspręsti didelio viruso genetinio kintamumo klausimą, COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) vienu metu amplifikuojami ir aptinkami du ŽIV-1 geno regionai.

Specialiai dviem tiriamiesiems objektams ir vienam QS dvigubai pažymėtam mėginiui pritaikyti oligonukleotidų zondai leidžia nepriklausomai identifikuoti ŽIV-1 amplifikacijos produktą ir ŽIV-1 QS amplifikacijos produktą. Taigi tinkamas pradmenų ir dvigubai pažymėtų oligonukleotidų zondu parinkimas lemia, kaip atliekant tyrimą pavyks amplifikuoti ir aptikti ŽIV-1 M ir O grupių potipius. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) apima atvirkštinę transkripciją ir PGR amplifikacijos pradmenis, kurie nustato sekas labai konservatyviuose ŽIV-1 *gag* geno<sup>33</sup> regionuose ir ŽIV-1 LTR regione.

### **Mėginių paruošimas**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) atlieka automatinį mėginio paruošimą COBAS® AmpliPrep instrumente, taikant generinę silicio dioksido fiksavimo technologiją. Atliekant procedūrą apdorojama 850 µl plazmos arba SPLEX ekstrakto iš **PSC**. Inkubacijos aukštoje temperatūroje metu ŽIV-1 viruso dalelės lizuojamos naudojant proteazes ir chaotropinį lizės/jungiantį buferinį tirpalą, kuris atskiria nukleino rūgštis ir apsaugo atskirtą ŽIV-1 RNR nuo sąlyčio su RNR-azėmis plazmoje. Į kiekvieną mėginį įtraukiama proteazė ir žinomas ŽIV-1 QS „Armored RNA“ molekulių skaičius kartu su lizės reagentu ir magnetinėmis stiklo dalelėmis. Tada mišinys inkubuojamas, o ŽIV-1 RNR bei ŽIV-1 QS RNR prilimpa prie magnetinių stiklo dalelių paviršiaus. Pavienės medžiagos – druskos, proteinai ir kitos ląstelių priemonės – pašalinamos plaunant magnetines stiklo daleles. Atskyrus magnetines stiklo daleles ir baigus plauti, absorbuotos nukleino rūgštys vandeniniu tirpalu išplaunamos aukštoje temperatūroje. Apdorotas mėginys su magnetinėmis stiklo dalelėmis ir išgauta ŽIV-1 RNR bei ŽIV-1 QS RNR įdedamas į amplifikacijos mišinį ir perkeliamas į COBAS® TaqMan® analizatorių arba į COBAS® TaqMan® 48 analizatorių. Tada atliekama tiriamos ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR atvirkštinė transkripcija, amplifikacija ir tuo pačiu metu vyksta aptikimas, skylančiam specialiai tiriamam objektui ir QS pritaikytam dvigubai pažymėtam oligonukleotidų zondui.

### **Atvirkštinė transkripcija ir PGR amplifikacija**

Atvirkštinės transkripcijos ir PGR amplifikacijos reakcija vyksta naudojant termostabilių rekombinantinį fermentą *Thermus species* Z05 DNR polimerazę (Z05). Jei yra mangano ( $Mn^{2+}$ ) ir susidaro tinkamos slopinimo sąlygos, Z05 vyksta ir atvirkštinė transkriptazė, ir DNR polimerazė<sup>31,32</sup>. Tai leidžia vienu metu atlikti atvirkštinę transkripciją ir PCR amplifikaciją bei aptikti amplifikacijos produktą.

Apdoroti pacientų mėginiai supilami į amplifikacijos mėgintuvėliuose (K mėgintuvėliuose) esantį amplifikacijos mišinį, kur vyksta atvirkštinė transkripcija ir PGR amplifikacija. Reakcijos mišinys kaitinamas, kad apatinės krypties pradmuo išsilaisvintų į tiriamą ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 kiekybinio standarto RNR. Kai yra  $Mn^{2+}$  ir deoksinukleotidų trifosfatų (dNTP), įskaitant deoksiadenozino, deoksiguanozino, deoksicitidino, deoksiuridino ir deoksitimidino trifosfatus, perteklius, Z05 polimerazė išplečia išlaisvintus pradmenis suformuodama tiriamą RNR papildančias DNR grandis.

### Tiriomojo objekto amplifikacija

Apdoroti pacientų mėginiai įdedami į amplifikacijos mišinį amplifikacijos mėgintuvėliuose (K mėgintuvėliuose), kur vyksta PGR amplifikacija. Po atvirkštinės ŽIV-1 tiriamosios RNR ir ŽIV-1 QS RNR transkripcijos šiluminio ciklo prietaisas, esantis COBAS® TaqMan® analizatoriuje arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriuje, kaitina reakcijos mišinį, kad būtų denatūruojami RNR:cDNR junginiai ir būtų galima atskleisti konkrečius pradmenis sekas. Mišiniui auštant, pradmenys išsilaisvina į tiriamą DNR. Esant  $Mn^{2+}$  ir deoksinukleotidų trifosfatų (dNTPs), įskaitant deoksiadenozino, deoksiguanozino, deoksicitidino, deoksiuridino ir deoksitimidino trifosfatų, pertekliui, Z05 polimerazė išplečia prisijungusius pradmenis pagal šabloną ir suformuoja dvigubas DNR grandis, kurios vadinamos amplifikacijos produktais. COBAS® TaqMan® analizatorius arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorius automatiškai kartoja šį procesą nustatytą ciklų skaičių; per kiekvieną ciklą siekiama padvigubinti DNR amplifikacijos produkto kiekį. Reikiamas ciklų skaičius iš anksto nustatomas COBAS® TaqMan® analizatoriumi arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriumi. Amplifikacija vyksta tik dviejuose ŽIV-1 geno regionuose tarp pradmenų, o visas ŽIV-1 genomas nėra amplifikuojamas.

## Atrankinė amplifikacija

Pasirinktinė tiriamos nukleino rūgšties amplifikacija iš mėginio gaunama COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 testuose naudojant fermentą „AmpErase“ (uracil-N-glikozilazę) ir deoksiridino trifosfatą (dUTP). Fermentas „AmpErase“ atpažįsta ir katalizuoja pažeistų DNR grandinių, kuriose yra deoksiridino<sup>34</sup>, destrukciją, bet nekatalizuoja DNR grandinių, kuriose yra deoksitimidino, destrukcijos.

Deoksiridino nėra natūralioje DNR, tačiau jo visuomet yra amplifikacijos produkte, nes deoksiridino trifosfatas naudojamas kaip vienas iš dNTP pagrindinio mišinio reagentų; todėl tik amplifikacijos produkte yra deoksiridino. Deoksiridino sukuria užterštą amplifikacijos produktą, kurį galima sunaikinti, naudojant fermentą AmpErase prieš tiriamosios DNR amplifikaciją. Be to, bet kurį produktą, susidariusį po pirminio pagrindinio mišinio suaktyvinimo manganu, sunaikina fermentas AmpErase. Fermentas AmpErase, esantis pagrindinio mišinio reagentu, katalizuoja deoksiridino turinčios DNR skilimą deoksiridino liekanose, ardydamas deoksiribozės grandinę C1 vietoje. Kaitinant per pirmąjį šiluminio ciklo etapą, DNR amplifikacijos produkto grandinė nutrūksta deoksiridino vietoje ir taip susidaro neamplifikuojama DNR. Fermentas AmpErase lieka inertiškas ilgesnį laiką, kai atsiduria aukštesnėje nei 55 °C temperatūroje, t. y. atliekant šiluminio ciklo veiksmus, todėl vykstant amplifikacijai nesuardo tiriamojo amplifikacijos produkto.

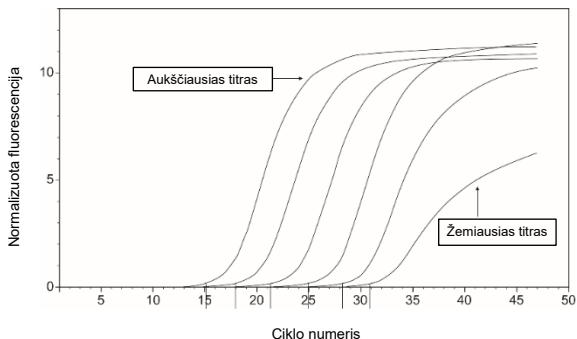
## **PGR produktų aptikimas naudojant COBAS® TaqMan® tyrimą**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) veikia pagal tikrą laiką<sup>35,36</sup> PGR technologiją. Naudojant dvigubai pažymėtus fluorescencinius zondus galima greitai aptikti susikaupusius PGR produktus stebint per amplifikaciją išleistų fluorescencinių identifikuojančių dažomųjų medžiagų išskyrimo intensyvumą. Zondus sudaro ŽIV-1 ir ŽIV-1 QS skirti oligonukleotidų zondai su signalinėmis dažomosiomis medžiagomis ir slopinamosiomis dažomosiomis medžiagomis. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) tyrime ŽIV-1 ir ŽIV-1 QS zondai žymimi skirtingomis fluorescencinėmis signalinėmis dažomosiomis medžiagomis. Kol zondai yra nepažeisti, signalinės dažomosios medžiagos fluorescenciškumą slopina arti esančios slopinamosios medžiagos dėl Förster tipo energijos perdavimo efektų. PGR metu zondas įsilies į tiriamą seką ir yra suskaidomas dėl 5' → 3' termostabilios Z05 DNR polimerazės poveikio. Kai signalinė ir slopinamoji dažomoji medžiaga yra išleidiama ir atskiriama, slopinimas daugiau nebevyksta, o fluorescencinis signalinės dažomosios medžiagos veikimas sustiprėja. ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR amplifikacija matuojama atskirai skirtingų ilgių bangomis. Šis procesas kartojamas nustatytą skaičių ciklų, kiekvieno ciklo efektyviai padidinant atskirų dažomųjų medžiagų išskyrimo intensyvumą, suteikiant galimybę atskirai išskirti ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR. PGR ciklas, kai augimo kreivė pradeda eksponentiškai kilti, susijęs su pradinės medžiagos kiekiu PGR pradžioje.

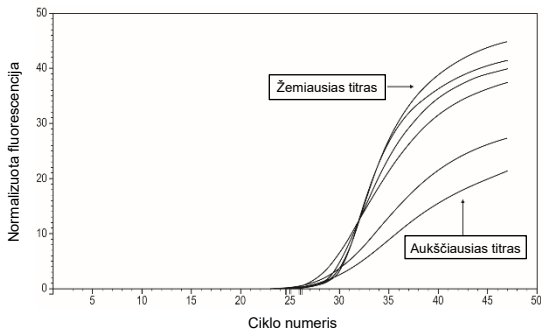
## **Pagrindiniai COBAS® TaqMan® tyrimo kiekybiniai standartai**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) yra iš esmės kiekybinis įvairiais dinamiškais aspektais, nes amplifikacijos produktas stebimas per eksponentinę amplifikacijos fazę. Kuo didesnis mėginio ŽIV-1 titras, tuo greičiau identifikacinių dažomųjų medžiagų fluorescencija ŽIV-1 zonuose viršija pagrindinį fluorescencinį lygmenį (žr. 1 pav.). Kadangi ŽIV-1 QS RNR kiekis yra pastovus visuose pacientų mėginiuose, identifikuojančios dažomosios medžiagos fluorescencija ŽIV-1 QS zonde turėtų pasirodyti to paties ciklo metu visuose pacientų mėginiuose (žr. 2 pav.). Pacientų mėginiuose, kuriuose QS fluorescencija yra pakitusi, koncentracija nustatoma atsižvelgiant į tai. Ypatingų fluorescencijos signalų pasirodymas yra laikomas ribine reikšme (Ct). Ct yra apibrėžiama kaip trupmeninis ciklo numeris, kuriame signalinės dažomosios medžiagos fluorescencija viršija iš anksto nustatytą ribą (nurodytą fluorescencijos lygį) ir pradeda šio signalo proporcingą augimą (žr. 3 pav.). Didesnė Ct vertė rodo žemesnį pradinės tiriamos ŽIV-1 medžiagos titrą. Titro padidėjimas dviem padalomis yra susijęs su Ct sumažėjimu viena padala tiriamojoje ŽIV-1 RNR, o titro padidėjimas 10 padalų koreliuoja su Ct sumažėjimu 3,3 padalos.

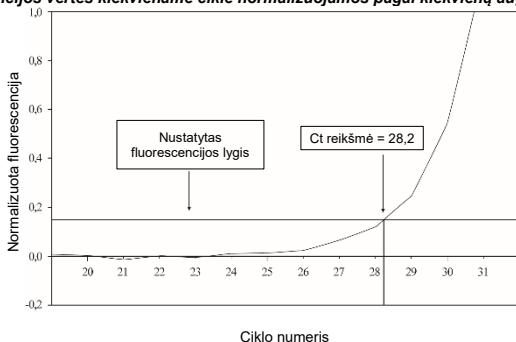
1 pav. matomos tiriamo objekto augimo kreivės, gautos skiedžiant, apima 5–log<sub>10</sub> skalę. Didėjant virusų koncentracijai, augimo kreivės grįžta prie ankstesnių ciklų. Todėl toliausiai į kairę esanti augimo kreivės dalis sutampa su aukščiausiu virusinio titro lygiu, o toliausiai į dešinę esanti augimo kreivės dalis sutampa su žemiausiu virusinio titro lygiu.

**1 pav.****Tiriamojų objektų augimo kreivės, gautos skiedžiant, apima 5-log<sub>10</sub> skalę**

2 pav. matomos mėginių kiekybinio standarto augimo kreivės, gautos skiedžiant, apima 5-log<sub>10</sub> skalę. Kiekybinio standarto kiekis, pridėtas prie kiekvieno mėginio, yra nekintantis. Kiekybinio standarto Ct vertė yra panaši neatsižvelgiant į virusinį titrą.

**2 pav.****Kiekybinio standarto augimo kreivės, gautos skiedžiant, apima 5-log<sub>10</sub> skalę**

3 pav. pateiktas pavyzdys, vaizduojantis, kaip fluorescencijos vertės kiekviename cikle pritaikomos kiekvienai augimo kreivei. Trupmeninis ciklo numeris (Ct) apskaičiuojamas tame taške, kur fluorescencijos signalas pasiekia nustatytą fluorescencijos lygį.

**Fluorescencijos vertės kiekviename cikle normalizuojamos pagal kiekvieną augimo kreivę****ŽIV-1 RNR kiekybinis įvertinimas**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) kiekybiškai įvertinama ŽIV-1 viruso RNR, naudojant antrą tiriamą seką (ŽIV-1 kiekybinis standartas), kuri pridedama prie kiekvieno tyrimo mėginio pagal žinomą koncentraciją. ŽIV-1 QS yra neinfekcinis „Armored RNA“ darinys, turintis ŽIV-1 sekų, prie kurių jungiasi pradmenys ir kurios yra identiškos ŽIV-1 *gag* tiriamai sekai. ŽIV-1 QS apima ŽIV-1 pradmenų jungimosi regionus; jis generuoja amplifikacijos produktą, kurio ilgis ir pagrindinė sudėtis tokie pat kaip tiriamos ŽIV-1 *gag* RNR. ŽIV-1 QS aptikimo zondo jungimosi regionas pakeistas taip, kad būtų galima atskirti ŽIV-1 QS amplifikacijos produktą nuo tiriamojo ŽIV-1 *gag* amplifikacijos produkto.

PGR prisijungimo fazės metu COBAS® TaqMan® analizatoriuje arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriuje mėginiai apšviečiami bei sužadinami besiskverbiančios šviesos ir gaunami kiekvieno mėginio išsiskiriančios fluorescencijos duomenys. Kiekvieno mėginio duomenys vėliau pakoreguojami atsižvelgiant į instrumento svyravimus. Šiuos fluorescencijos duomenis instrumentas perduoda AMPLILINK programinei įrangai ir įrašo į duomenų bazę. Išankstiniai patikrinimai atliekami, kad būtų galima nustatyti, ar ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR duomenys atitinka egzistuojančius rinkinius, o jei duomenys viršija iš anksto nustatytas ribas, jie pažymimi žymomis. Pabaigus ir patvirtinus visus išankstinius patikrinimus, fluorescencijos duomenys apdorojami ir generuojamos ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR Ct vertės. Konkrečios partijos kalibravimo konstantos, pateiktos atliekant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimą, naudojamos pacientų mėginių ir kontrolių titrų vertėms apskaičiuoti pagal ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR Ct vertes. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) atitinka Pasaulinės sveikatos organizacijos ŽIV-1 RNR tarptautinį standartą. Titrų rezultatai pateikiami kopijomis/ml (kop./ml) arba tarptautiniais vienetais/ml (TV/ml). ŽIV-1 RNR kop./ml ir ŽIV-1 TV/ml konversijos koeficientą nustatė Roche Molecular Systems, Inc. Jis yra 0,6 kop./TV (1,67 TV/kop.).

**REAGENTAI**

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0**  
(P/N: 05212294 190)

|               |
|---------------|
| <b>HI2CAP</b> |
|---------------|

**48 tyrimai****HIV-1 v2.0 CS1**

(ŽIV-1 magnetinių stiklo dalelių reagento kasetė)

Magnetinės stiklo dalelės

93 % izopropanolis

**1 x 48 tyrimai****HIV-1 v2.0 CS2**

(ŽIV-1 lizės reagento kasetė)

Natrio citrato dihidratas

42,5 % guanidino tiocianatas

&lt; 14 % polidokanolis

0,9 % ditiotritolis

**1 x 48 tyrimai****HIV-1 v2.0 CS3**

ŽIV-1 įvairių reagentų kasetės sudėtis:

**1 x 48 tyrimai****Pase**

(Proteinazės tirpalas)

Tris buferinis tirpalas

&lt; 0,05 % EDTA

Kalcio chloridas

Kalcio acetatas

≤ 7,8 % proteinazė

Glicerolis

1 x 3,8 ml

**EB**

(Eliucijos buferinis tirpalas)

Tris buferinis tirpalas

0,2 % metilparabenas

1 x 7,0 ml

**HIV-1 v2.0 CS4**

ŽIV-1 konkretaus tyrimo reagentų kasetės sudėtis:

**1 x 48 tyrimai****HIV-1 QS**

(ŽIV-1 kiekybinis standartas)

Tris-HCl buferinis tirpalas

EDTA

&lt; 0,005 % poli rA RNR (sintetinė)

&lt; 0,001 % apsaugotos ŽIV-1 RNR darinys, turintis ŽIV-1 pradžios jungties sekas ir unikalią zondo jungties dalį (neinfekcinė RNR MS2 bakteriofage)

0,05 % natrio azidas

1 x 3,6 ml

**HIV-1 MMX**

(ŽIV-1 pagrindinis mišinys)

Tricino buferinis tirpalas

Kalio acetatas

Kalio hidroksidas

20 % dimetilsulfoksidas

Glicerolis

&lt; 0,04 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP, dTTP

< 0,003 % viršutinės ir apatinės krypties pradžios, pritaikyti ŽIV-1 *gag* ir LTR regionams

&lt; 0,003 % oligonukleotidinis aptameras

1 x 2,5 ml

< 0,003 % fluorescenciškai pažymėti oligonukleotidų zondai,  
 pritaikyti tik ŽIV-1 ir ŽIV-1 kiekybiniam standartui  
 < 0,05 % Z05 DNR polimerazė (mikrobinė)  
 < 0,1 % fermentas AmpErase (uracil-N-glikozilazė)  
 (mikrobinis)  
 0,09 % natrio azidas

**CAP/CTM Mn<sup>2+</sup>**

(CAP/CTM mangano tirpalas)  
 < 0,5 % mangano acetatas  
 Ledinė acto rūgštis  
 0,09 % natrio azidas

1 x 19,8 ml

**HIV-1 H(+)C, v2.0**

(ŽIV-1 stipriai teigiama kontrolė, v2.0)  
 < 0,001 % apsaugotas ŽIV-1 RNR darinys, turintis  
 ŽIV-1 sekas (neinfekcinė RNR MS2 bakteriofage).  
 Neigiama žmogaus plazma, kurioje nėra HCV ir  
 ŽIV-1/2 antikūnų, ŽIV p24 antigenų ir HBsAg;  
 ŽIV-1 RNR, HCV RNR ir HBV DNR, neaptinkama  
 PGR metodais  
 0,1% ProClin® 300 konservantas

4 x 1,0 ml

**HIV-1 L(+)C, v2.0**

(ŽIV-1 silpnai teigiama kontrolė, v2.0)  
 < 0,001% apsaugotas ŽIV-1 RNR darinys, turintis  
 ŽIV-1 sekas (neinfekcinė RNR MS2 bakteriofage).  
 Neigiama žmogaus plazma, kurioje nėra HCV ir  
 ŽIV-1/2 antikūnų, ŽIV p24 antigenų ir HBsAg; ŽIV-1  
 RNR, HCV RNR ir HBV DNR, neaptinkama PGR  
 metodais  
 0,1 % ProClin® 300 konservantas

4 x 1,0 ml

**CTM (–) C**

(COBAS® TaqMan® neigiama kontrolė (žmogaus plazma))  
 Neigiama žmogaus plazma, kurioje nėra HCV ir  
 ŽIV-1/2 antikūnų, ŽIV p24 antigenų ir HBsAg; ŽIV-1  
 RNR, HCV RNR ir HBV DNR, neaptinkama PGR  
 metodais  
 0,1 % ProClin® 300 konservantas

4 x 1,0 ml

**HIV-1 H(+)C, v2.0 Clip**

(ŽIV-1 stipriai teigiamos kontrolės v2.0 brūkšninio kodo spaustukas)

1 x 4 spaustukai

**HIV-1 L(+)C, v2.0 Clip**

(ŽIV-1 silpnai teigiamos kontrolės v2.0 brūkšninio kodo spaustukas)

1 x 4 spaustukai

**HIV-1 (–) C Clip**

(ŽIV-1 neigiamos kontrolės v2.0 brūkšninio kodo spaustukas)

1 x 4 spaustukai

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan®**  
**plovimo reagentas**  
 (P/N: 03587797 190)

**PG WR**

1 x 5,1 l

**PG WR**

(COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® plovimo reagentas)  
 Natrio citrato dihidratas  
 < 0,1 % N-metilizotiazolono HCl

**SPEX**

(cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas)

42,5 % guanidino tiocianatas

0,79 % natrio citratas

0,01 % citrinų rūgštis

3,6 % polidokanolis

1,8 % ditiotreitolis

**Pastaba: šis reagentas yra pasirinktinis ir turėtų būti naudojamas tik kartu su PSC sausos plazmos lašo mėginiais generuoti. Žr. PSC metodo lapą ms\_07963084190.**

**PERSPĖJIMAI IR ATSARGUMO PRIEMONĖS**

**A. SKIRTAS *IN VITRO* DIAGNOSTIKAI.**

B. Šį tyrimą galima naudoti su žmogaus kraujo plazma, surinkta antikoaguliantu EDTA arba iš PSC sausos plazmos lašo.

C. Lašindami neimkite pipetės į burną.

D. Nevalgykite, negerkite ir nerūkykite laboratorijos darbo vietose. Dirbdami su mėginiais ir reagentų rinkiniais, mūvėkite apsaugines vienkartinės pirštines, užsidėkite akinius ir dėvėkite specialius laboratorinius drabužius. Baigę dirbti su mėginiais ir tyrimo reagentais kruopščiai nusiplaukite rankas.

E. Išimdami mėginius iš kontrolinių buteliukų, venkite užteršti reagentus mikrobais ir ribonukleaze.

F. Rekomenduojama naudoti vienkartinės pipetės ir pipetės antgalius be sąlyčio su RNR-aze.

G. Nemaišykite skirtingų partijų ar skirtinguose tos pačios partijos buteliukuose esančių reagentų.

H. Nemaišykite skirtingų rinkinių reagentų kasečių ar kontrolių.

I. Neatidarykite COBAS® AmpliPrep kasečių ir nekeiskite, nemaišykite, neišimkite ir nepridėkite buteliukų.

J. Nepanaudoti reagentai ir pacientų mėginiai turi būti pašalinti atsižvelgiant į šalies ir vietinius reikalavimus.

K. Nenaudokite rinkinio, jei baigėsi jo galiojimo laikas.

L. Saugos duomenų lapus (SDL) galite gauti iš vietinės Roche atstovybės.

M. Su mėginiais ir kontrolėmis turėtų būti elgiamasi taip, lyg jie būtų užkrečiami, atliekant saugias laboratorines procedūras, nurodytas *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>38</sup> ir CLSI dokumente M29-A3<sup>39</sup>. Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5% natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su dejonizuotu ar distiliuotu vandeniu.

**Pastaba: Parduodamuose skystuose buityje naudojamuose balikliuose yra natrio hipochlorito, kurio koncentracija 5,25 %. Namų ūkyje naudojama baliklį atskiedus santykiu 1:10 gaunamas 0,5 % natrio hipochlorito tirpalas.**

**Pastaba: Išsiliejus cobas® mėginio išankstinio išskyrimo reagentu (SPEX) (kuriame yra guanidino tiocianato) ištirpintiems PSC sausos plazmos lašo mėginiais, neleiskite medžiagai susiliesti su dezinfekantu, kurio sudėtyje yra natrio hipochlorito, pvz., balikliu. Toks mišinys gali išskirti labai nuodingų dujų.**

N. ĮSPĖJIMAS: CTM (–) C, HIV-1 L(+)C (v2.0) ir HIV-1 H(+)C (v2.0) sudėtyje yra žmogaus plazmos, gautos iš žmogaus kraujo. Ištyrus pradinę medžiagą nustatyta, kad ji nereaguoja į HBsAg (hepatito B paviršiaus antigeną), ŽIV-1/2 ir HCV antikūnus ir ŽIV p24 antigeną. Atlikus neigiamos žmogaus plazmos tyrimą pagal PGR metodą, nebuvo rasta ŽIV-1 RNR, HCV RNR

arba HBV DNR. Nėra žinomų tyrimo metodų, galinčių visiškai užtikrinti, kad produktai, išskirti iš žmogaus kraujo, neperduos infekcijos. Todėl visos medžiagos, išgaunamos iš žmogaus organizmo, turi būti laikomos potencialiai užkrečiamomis. **CTM (-) C, HIV-1 L(+)+C (v2.0) ir HIV-1 H(+)+C (v2.0)** turėtų būti apdorojami taip, lyg būtų užkrėsti, taikant saugias laboratorines procedūras, aprašytas *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*<sup>38</sup> ir CLSI dokumente M29-A3<sup>39</sup>. Švariai nuvalykite ir dezinfekuokite visus darbo vietų paviršius, naudodami šviežiai paruoštą 0,5% natrio hipochlorito tirpalą, sumaišytą su dejonizuotu ar distiliuotu vandeniu.

- O. **HIV-1 QS, CAP/CTM Mn<sup>2+</sup> ir HIV-1 MMX** sudėtyje yra natrio azido. Natrio azidas gali reaguoti su vandentiekio švino ir vario įranga ir sudaryti labai sprogus metalo azidų junginius. Į laboratorijoje esančias kriauklės pildami tirpalus, kuriuose yra natrio azido, paleiskite smarkią vandens srovę, kad nesusidarytų azido sankaupų.
- P. Dirbdami su bet kuriais reagentais, užsidėkite apsauginius akinius, mūvėkite vienkartinę pirštines ir dėvėkite laboratorinius drabužius. Stenkitės, kad šių medžiagų nepatektų ant odos, į akis ar ant gleivinių. Jei medžiagų vis dėlto pateko, nedelsdami nuplaukite dideliu vandens kiekiu. Jei negydysite pažeistų kūno vietų, gali atsirasti nudegimų. Kuriam nors šių reagentų išsiliejus ar išsipylus, prieš nušluostydami vietą sausu audiniu pirmiausia nuplaukite ją vandeniu.
- Q. Saugokitės, kad **HIV-1 v2.0 CS2, SPEX** (naudojamos **PSC** sausos plazmos lašo procedūroje) ir **COBAS® AmpliPrep** instrumento skystos atliekos, kuriose yra guanidino tiocianato, nesilieptų su natrio hipochlorito (baliklio) tirpalu. Šie mišiniai gali išskirti labai nuodingas dujas.
- R. **SPEX** medžiaga yra jautri šviesai ir gabenama nuo šviesos apsaugančiuose buteliukuose.
- S. Išmesdami naudotus **COBAS® AmpliPrep** mėginių apdorojimo įtaisus (SPU), kuriuose yra guanidino tiocianato, neleiskite jiems reaguoti su natrio hipochlorito (baliklio) tirpalu. Šie mišiniai gali išskirti labai nuodingas dujas.
- T. Papildomų įspėjimų ir atsargumo priemonių ieškokite **PSC** metodo lape ms\_07963084190.

## LAIKYMO IR NAUDOJIMO REIKALAVIMAI

- A. **Neužšaldykite reagentų ar kontrolių.**
- B. Prieš naudodami vizualiai patikrinkite visas reagentų kasetes, kad įsitikintumėte, jog nėra išsiliejimo žymių. Jei pastebėjote kokių nors skysčio išsiliejimo žymių, tos medžiagos tyrimams nenaudokite.
- C. **HIV-1 v2.0 CS1, HIV-1 v2.0 CS2, HIV-1 v2.0 CS3** ir **HIV-1 v2.0 CS4** laikykite 2–8 °C temperatūroje. Nenaudojami šie reagentai lieka stabilūs iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos. Atidarius pakuotę, šie reagentai lieka stabilūs 28 dienas 2–8 °C temperatūroje arba iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas sueina greičiau. **HIV-1 v2.0 CS1, HIV-1 v2.0 CS2, HIV-1 v2.0 CS3** ir **HIV-1 v2.0 CS4** gali būti naudojami daugiausia 4 instrumento ciklams, o **COBAS® AmpliPrep** instrumente gali būti ne ilgiau nei 64 valandas. Tarp instrumento ciklų reagentai turi būti laikomi 2–8 °C temperatūroje.
- D. **HIV-1 H(+)+C, v2.0, HIV-1 L(+)+C, v2.0** ir **CTM (-) C** laikykite 2–8 °C temperatūroje. Kontrolės išlieka stabilios iki nurodyto galiojimo laiko pabaigos. Kartą atidarę, turite išmesti bet kokio nesunaudoto kiekio reagentą.
- E. Brūkšninių kodų spaustukus (**HIV-1 H(+)+C, v2.0 Clip, HIV-1 L(+)+C, v2.0 Clip** ir **HIV-1 (-) C Clip**) laikykite 2–30 °C temperatūroje.
- F. **PG WR** laikykite 2–30 °C temperatūroje. **PG WR** yra stabilus iki nurodytos galiojimo laiko pabaigos. Atidarius pakuotę, šie reagentai išlieka stabilūs 28 dienas 2–30 °C temperatūroje arba iki nurodytos galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas sueina greičiau.
- G. **SPEX** (naudojamą **PSC** sausos plazmos lašo procedūroje) laikykite 2–8 °C temperatūroje. **SPEX** išlieka stabilus iki nurodytos galiojimo laiko pabaigos. Atidarius pakuotę, šie reagentai išlieka stabilūs 28 dienas 2–30 °C temperatūroje arba iki nurodytos galiojimo laiko pabaigos, atsižvelgiant į tai, kuris terminas sueina greičiau.
- H. **PSC** laikymo ir naudojimo reikalavimai pateikiami **PSC** metodo lape ms\_07963084190.

## PATEIKIAMOS MEDŽIAGOS

- A. **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0**  
(P/N: 05212294 190)

**HI2CAP**

**HIV-1 v2.0 CS1**

(ŽIV-1 magnetinių stiklo dalelių reagento kasetė)

**HIV-1 v2.0 CS2**

(ŽIV-1 lizės reagento kasetė)

**HIV-1 v2.0 CS3**

(ŽIV-1 kelių reagentų kasetė)

**HIV-1 v2.0 CS4**

(ŽIV-1 tam tikro tyrimo reagento kasetė)

**HIV-1 H(+)C (v2.0)**

(ŽIV-1 stipriai teigiama kontrolė, v2.0)

**HIV-1 L(+)C (v2.0)**

(ŽIV-1 silpnai teigiama kontrolė, v2.0)

**CTM (–) C**

[COBAS® TaqMan® neigiama kontrolė (žmogaus plazma)]

**HIV-1 H(+)C, v2.0 Clip**

(ŽIV-1 2.0 versijos stipriai teigiamos kontrolės brūkšninio kodo spaustukas)

**HIV-1 L(+)C, v2.0 Clip**

(ŽIV-1 2 versijos silpnai teigiamos kontrolės brūkšninio kodo spaustukas)

**HIV-1 (–) C Clip**

(ŽIV-1 neigiamos kontrolės brūkšninio kodo spaustukas)

- B. **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® plovimo reagentas**  
(P/N: 03587797 190)

**PG WR**

- C. **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® mėginio išankstinio išskyrimo reagentas**  
(P/N: 06989861190)

**SPEX**

## BŪTINOS, BET NEPATEIKIAMOS PRIEMONĖS

### Instrumentai ir programinė įranga

- COBAS® AmpliPrep instrumentas
- COBAS® TaqMan® analizatorius arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorius
- Pasirinktinai: **cobas p** instrumentas
- Pasirinktinai: „Docking Station“
- AMPLILINK programinės įrangos versija „3.3 Series“ arba „3.4 Series“
- Valdymo įtaisas, skirtas AMPLILINK programinei įrangai, su spausdintuvu
- Instrumento ir programinės įrangos naudotojo vadovai:
  - COBAS® AmpliPrep instrumento vadovas, skirtas naudoti su AMPLILINK programinės įrangos versijomis „3.3 Series“ ir „3.4 Series“
  - COBAS® TaqMan® analizatoriaus instrumento vadovas, skirtas naudoti su AMPLILINK programinės įrangos versijomis „3.3 Series“ ir „3.4 Series“
  - COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus instrumento vadovas, skirtas naudoti su AMPLILINK programinės įrangos versijomis „3.3 Series“ ir „3.4 Series“
  - AMPLILINK programinės įrangos versijos „3.3 Series“ programų vadovas, skirtas naudoti su COBAS® AmpliPrep instrumentu, COBAS® TaqMan® analizatoriumu, COBAS® TaqMan® 48 analizatoriumi, COBAS® AMPLICOR® analizatoriumi ir **cobas p** 630 instrumentu, arba
  - AMPLILINK programinės įrangos versijos „3.4 Series“ programų vadovas
  - Pasirinktinai: **cobas p** 630 instrumento naudotojo vadovas, programinės įrangos versija 2.2
- tyrimo nustatymų failas (TNF). TNF pavadinimo ir dabartinės versijos ieškokite produkto informacijos kortelėje, pateiktoje kartu su rinkiniu.

### Vienkartinio naudojimo priemonės

- Mėginių apdorojimo įtaisai: SPU
- Mėginių įvedimo mėgintuvėliai (S mėgintuvėliai) su brūkšninio kodo spaustukais
- K antgalių lentynėlės
- K mėgintuvėlių dėžutė, kurioje yra 12 x 96

### KITOS REIKALINGOS, BET NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS (TIK EDTA PLAZMOS MĖGINIO APDOROJIMUI)

- Mėginių lentynėlė (SK24 lentynėlė)
- Reagentų lentynėlė
- SPU lentynėlė
- K mėgintuvėlių dangtelių nuėmimo įrankis su varikliu
- K mėgintuvėlių dangtelių nuėmimo įrankis
- K laikiklis
- K laikiklio transporteris
- K laikiklių lentynėlė
- Pipetoriai (1000 µl talpos)\*, kuriuose yra aerozolio barjerai arba tikslaus stūmimo antgaliai be sąlyčio su RNR-aze
- Vienkartinės pirštinės be pudros
- Sūkurinis maišytuvas

\* *Pipėčių tūrio paklaida neturi viršyti nustatyto tūrio daugiau nei 3 %. Aerozolio barjerai arba teigiamo išstūmimo antgaliai be sąlyčio su ribonukleaze turi būti naudojami, kai yra nurodyta saugoti mėginį ar amplifikacijos produktą nuo kryžminio užteršimo.*

## KITOS REIKALINGOS, BET NEPATEIKTOS MEDŽIAGOS IR REIKMENYS (TIK PSC SAUSOS PLAZMOS LAŠO MĖGINIO APOROJIMUI)

- **cobas**® plazmos atskyrimo kortelė\*
- Sterilios ar vienkartinės chirurginės žnyplės arba pincetas\*\*
- 140 µl kapiliaras (pvz., Vitrex plastiko mėgintuvėlis) su suderinamu dalytuvu (pvz., Vitrex pipetės laikiklis)\*
- Vienkartinis lancetas (pvz., Greiner Bio-one: MiniCollect® saugiojo lanceto prasiskverbimo gylis 2,00 mm)\*
- Mėginio maišelis (plastikinis skaidrus, pakartotinai sandariai užsegamas) ir silicio dioksido sausiklių paketėliai (iki 4 gramų; daugiau informacijos apie PSC laikymą ir pristatymą ieškokite **PSC** metodo lape ms\_07963084190).
- Transportavimo maišelis (pvz., Wicoseal, 180 x 60 x 240 mm)
- Pipetė (pvz., Multistepper pipetė)
- Eppendorf Thermomixer® (pvz., R 5355 arba C arba lygiavertis modelis) su termobloku, skirtu 24 šaldymo mėgintuvėliams

\* Daugiau informacijos apie **PSC** mėginių ėmimą ieškokite **PSC** metodo lape ms\_07963084190.

\*\* Siekdami apsaugoti nuo kryžminio užteršimo, kiekvienam pacientui naudokite tik vieną porą chirurginių žnyplių! Rekomenduojama naudoti metalines chirurgines žnyples, kurios po vieno naudojimo apdorojamos autoklave.

## EDTA PLAZMOS MĖGINIŲ ĖMIMAS, TRANSPORTAVIMAS IR LAIKYMAS

***Pastaba:** su visais mėginiais ir kontrolėmis elkitės taip, lyg jose būtų infekuotų medžiagų.*

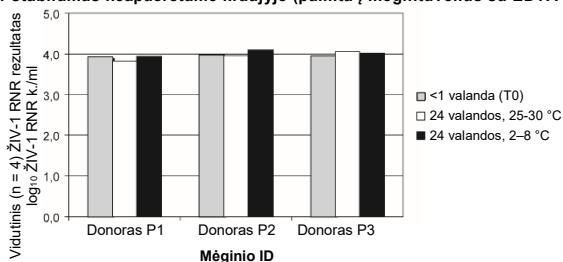
***Pastaba:** šis tyrimas patvirtintas naudoti tik su žmogaus kraujo plazma, surinkta EDTA antikoaguliante arba iš PSC sausos plazmos lašo. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.*

### A. Mėginių rinkimas

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimas atliekamas naudojant pacientų plazmos mėginius. Kraujas turėtų būti imamas į sterilius mėgintuvėlius, naudojant EDTA kaip antikoagulantą, ir tinkamai sumaišytas pagal mėgintuvėlio gamintojo instrukcijas.

Neapdoroto kraujo mėginius laikykite 2–25 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 24 valandas. Atskirkite plazmą nuo neapdoroto kraujo per 24 valandas nuo paėmimo pradžios, centrifuguodami (800–1600 x g) 20 minučių kambario temperatūroje. Plazmą perkelkite į sterilių polipropileno mėgintuvėlį. 4 pav. parodyti mėginių stabilumo duomenys, gauti atlikus mėginių stabilumo tyrimus naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (P/N: 03543005 190).

4 pav.

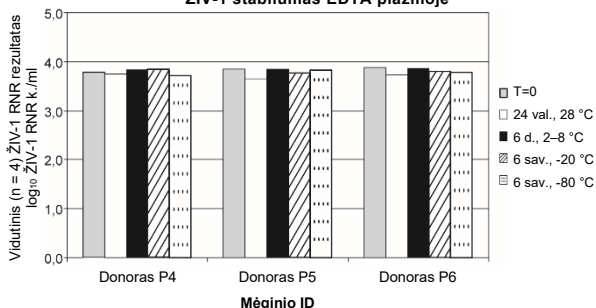
**ŽIV-1 stabilumas neapdorotame kraujyje (paimita į mėgintuvėlius su EDTA plazma)****B. Mėginių transportavimas**

Kraujas ar jo plazma turi būti transportuojami pagal šalies, federalines, valstijos ir vietines etiologinių medžiagų transportavimo taisykles<sup>40</sup>. Neapdorotas kraujas turi būti transportuojamas 2–25 °C temperatūroje ir centrifuguojamas per 24 valandas nuo paėmimo. Plazma gali būti transportuojama 2–8 °C temperatūroje arba sušaldyta – nuo -20 °C iki -80 °C temperatūroje.

**C. Mėginių laikymas**

Plazmos mėginiai gali būti laikomi kambario temperatūroje (25–30 °C) ne ilgiau nei 1 dieną arba 2–8 °C temperatūroje ne ilgiau nei 6 dienas. Plazmos mėginiai išlieka stabilūs 6 savaites, jei laikomi užšaldyti nuo -20 °C iki -80 °C temperatūroje. Rekomenduojama pacientų mėginius laikyti po 1100–1200 µl steriliuose 2,0 ml polipropileno užsakamuosiuose mėgintuvėliuose (pvz., Sarstedt 72.694.006). 5 pav. paroditi mėginių stabilumo duomenys, gauti atlikus mėginių laikymo tyrimus naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (P/N: 03543005 190).

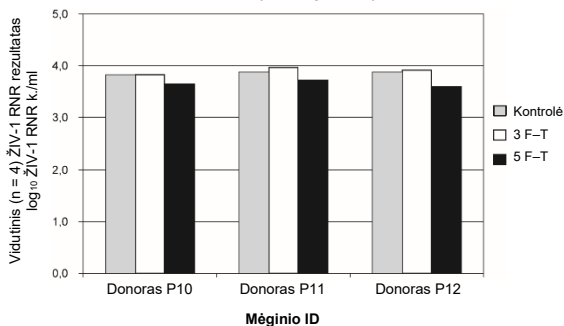
5 pav.

**ŽIV-1 stabilumas EDTA plazmoje**

Plazmos mėginius galima sušaldyti ir atšildyti iki penkių kartų neprarandant ŽIV-1 RNR. 6 pav. paroditi duomenys, gauti atlikus mėginių užšaldymo ir atšildymo tyrimus pagal COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimą (P/N: 03543005 190).

# 6 pav.

**ŽIV-1 rezultatai po ne daugiau nei penkių užšaldymo ir atšildymo (F–T) ciklų (EDTA plazma)**



## PSC SAUSOS PLAZMOS LAŠO MĖGINIŲ ĖMIMAS, TRANSPORTAVIMAS IR LAIKYMAS

**Pastaba:** su visais mėginiais ir kontrolėmis elkitės taip, lyg jose būtų infekuotų medžiagų.

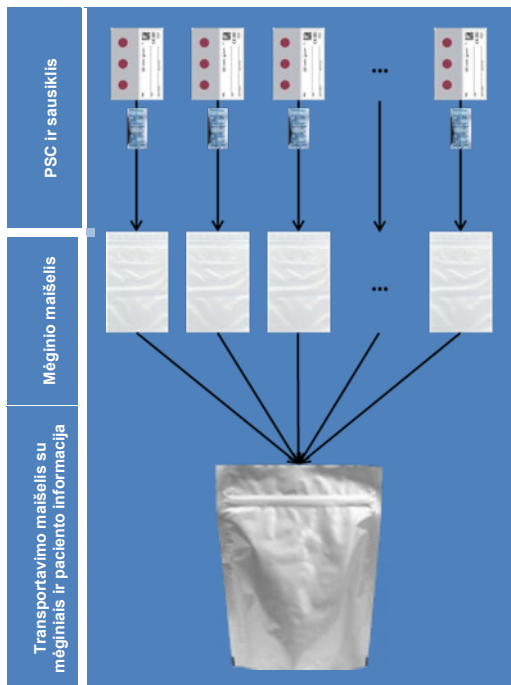
**Pastaba:** šis tyrimas patvirtintas naudoti tik su žmogaus kraujo plazma, surinkta EDTA antikoaguliantu arba iš PSC sausos plazmos lašo. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.

### A. Mėginių ėmimas

**PSC** sausos plazmos lašo mėginiai imami pagal atitinkamas kliniškes procedūras. Prieš naudojant būtina patikrinti **PSC** galiojimo laiką. Tęskite tik tuo atveju, jei **PSC** galiojimo laikas dar nepasibaigęs ir jei maišelis, į kurį įdėta **PSC**, sandariai uždarytas ir neapgadintas. **PSC** etiketėje nurodykite paciento vardą ir pavardę, gimimo datą, mėginio ėmimo datą ir laiką. Naudodami tinkamą kapiliarą ar dalytuvą, ant kiekvieno papildomo padengimo sluoksniu apibrėžto apskritimo **PSC** membranoje užlašinkite 140 µl neapdoroto kraujo. Rekomenduojama užpildyti visus tris lašų taškus ant **PSC**, kad būtų galima tyrimą atlikti pakartotinai. Nedėkite daugiau nei vieno paciento mėginio ant tos pačios **PSC**. Įsitinkinkite, kad ABI **PSC** pusės (priekis: membrana su krauju; galas: lašas su plazma) yra įmirkusios praėjus 5 minutėms. Patikrinkite užpakalinę pusę per skaidrų galinį sluoksnį. Neleiskite, kad šiam procesui vykstant membranos liestųsi su pirštinėmis, įrankiais arba bet kokiais kitais galimai užterštais paviršiais.

Leiskite **PSC** džiūti kambario temperatūroje mažiausiai 4 valandas (ilgiausiai – per naktį), saugodami ją nuo tiesioginių saulės spindulių. Nenuimkite papildomo padengimo sluoksniu. Tai daroma laboratorijoje. Išdžiūvusią **PSC** įdėkite į atskirą mėginio maišelį su 4 gramais sausiklio ir sandariai uždarykite maišelį (7 pav.). Paimto mėginio maišelis turi būti supakuotas į transportavimo maišelį kartu su atitinkamu paciento informacijos lapu. Rekomenduojama į transportavimo maišelį pakuoti daugiausia 25 **PSC**.

7 pav.  
Pakavimo schema transportuojant PSC



#### B. Mėginio transportavimas

Jei mėginiai bus gabenami, juos reikia supakuoti ir sužymėti pagal taikomas šalies ir (arba) tarptautines mėginių ir etiologinių medžiagų transportavimo taisykles. Transportavimo maišeliai su PSC turi būti pervežti per 28 dieną 18–45 °C temperatūros ir 85 % drėgmės aplinkoje.

#### C. Mėginio laikymas

PSC atskiruose mėginio maišeliuose su 4 gramais sausiklio, sudėtuose į transportavimo maišą, po pervežimo gali būti laikomos kambario temperatūroje (18–30 °C), 2–8 °C arba  $\leq -10$  °C temperatūroje iki 56 dienų (su sluoksnių atskyrimu arba be jo).

## NAUDOJIMO INSTRUKCIJOS

**Pastaba:** išsamių naudojimo instrukcijų, galimų konfigūracijų aprašų, rezultatų spausdinimo, žymų, komentarų ir klaidų pranešimų aiškinimo ieškokite: 1) COBAS® AmpliPrep instrumento vadove, skirtame naudoti su AMPLILINK programinės įrangos versijomis „3.3 Series“ ir „3.4 Series“; 2) COBAS® TaqMan® analizatoriaus instrumento vadove, skirtame naudoti su AMPLILINK programinės įrangos versijomis „3.3 Series“ ir „3.4 Series“; 3) COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus instrumento vadove, skirtame naudoti su AMPLILINK programinės įrangos versijomis „3.3 Series“ ir „3.4 Series“; 4) AMPLILINK programinės įrangos versijos „3.3 Series“ programų vadove, skirtame naudoti su COBAS® AmpliPrep instrumentu, COBAS® TaqMan® analizatoriumi, COBAS® TaqMan® 48 analizatoriumi, COBAS® AMPLICOR® analizatoriumi ir cobas p 630 instrumentu, arba AMPLILINK programinės įrangos versijos „3.4 Series“ taikymo vadove; 5) pasirinktinai: cobas p 630 instrumento naudotojo vadove, programinės įrangos versija 2.2.

A–C ir F–J dalyse pateikta informacija yra bendra abiejų tipų (EDTA plazmos ir PSC sausos plazmos mėginiams) mėginiams. D dalyje pateikta tik informacija apie mėginių EDTA plazmos mėginiams užsakymą ir įdėjimą. E dalyje pateikta informacija tik apie mėginių PSC sausos plazmos lašo mėginiams užsakymą ir įdėjimą.

### Grupės dydis

Kiekviename rinkinyje esančio reagento pakanka 48 tyrimams, kurie gali būti atliekami grupėmis nuo 12 iki 24 tyrimų. Į kiekvieną grupę turi būti įtraukta bent po vieną kontrolę (CTM (–) C, HIV-1 L(+)C (v2.0) ir HIV-1 H(+)C (v2.0)) (žr. skyriuje „Kokybės kontrolė“).

### Darbų eiga

COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių reikia paleisti per 120 min. nuo mėginių ir kontrolių paruošimo.

**Pastaba:** apdorotų mėginių ir kontrolių neužšaldykite ir nelaikykite 2–8 °C temperatūroje.

### Mėginių ir kontrolių paruošimas

**Pastaba:** jei naudojate šaldytus mėginius, padėkite juos kambario temperatūroje, kol visiškai atšils, o prieš naudodami pavartykite 3–5 sekundes. Prieš naudojant kontroles reikia išimti iš 2–8 °C temperatūros laikymo vietos ir atšildyti iki aplinkos temperatūros.

### COBAS® AmpliPrep instrumento nustatymas

#### A dalis. Prižiūra ir paruošimas

- A1. COBAS® AmpliPrep instrumentas yra paruoštas veikti budėjimo režimu.
- A2. Įjunkite AMPLILINK programinės įrangos valdymo įtaisą (ON). Paruoškite valdymo įtaisą, kaip nurodyta:
  1. Įeikite į „Microsoft Windows“ operacinę sistemą.
  2. Du kartus spustelėkite AMPLILINK programinės įrangos piktogramą.
  3. Prisijunkite prie AMPLILINK programinės įrangos įvesdami vartotojo ID bei slaptažodį.
- A3. **PG WR** atsargą patikrinkite naudodami ekraną **Status** ir, jei reikia, pakeiskite.
- A4. Atlikite visus priežiūros veiksmus, nurodytus skirtuke „Due“. COBAS® AmpliPrep instrumentas automatiškai paruoš sistemą.

## **B dalis. Reagento kasečių įdėjimas**

**Pastaba:** visas reagento kasetes reikia išimti iš 2–8 °C temperatūros laikymo vietos, tuoj pat įdėti į COBAS® AmpliPrep instrumentą ir jame atšildyti iki aplinkos temperatūros bent 30 min. prieš apdorojant pirmąjį mėginį. Neleiskite reagento kasetėms atšilti iki aplinkos temperatūros ne instrumente, nes ant brūkšninio kodo etikečių gali susiformuoti kondensatas. Jei ant brūkšninio kodo etikečių atsiranda kondensato, jo nevalykite.

- B1. Padėkite **HIV-1 CS1 v2.0** ant reagentų lentynėlės. Padėkite **HIV-1 v2.0 CS2**, **HIV-1 v2.0 CS3** ir **HIV-1 v2.0 CS4** ant atskirų reagentų lentynėlių.
- B2. Įdėkite reagentų lentynėlę su **HIV-1 v2.0 CS1** į lentynėlės vietą **A** COBAS® AmpliPrep instrumente.
- B3. Įdėkite reagentų lentynėlę su **HIV-1 v2.0 CS2**, **HIV-1 v2.0 CS3** ir **HIV-1 v2.0 CS4** į lentynėlės vietas **B**, **C**, **D** arba **E** COBAS® AmpliPrep instrumente. (Išsamesnės informacijos ieškokite 1 lentelėje).

## **C dalis. Vienkartinių priemonių įdėjimas**

**Pastaba:** nustatykite COBAS® AmpliPrep reagento kasečių skaičių, reikalingus mėginių apdorojimo įtaisais (SPU), įvesties mėginių mėgintuvėlius (S mėgintuvėlius), K antgalius ir K mėgintuvėlius. Kiekvienam mėginiui ar kontrolei reikalingas vienas mėginių apdorojimo įtaisas (SPU), vienas įvesties S mėgintuvėlis, vienas K antgalis ir vienas K mėgintuvėlis.

Naudojant COBAS® AmpliPrep instrumentą su COBAS® TaqMan® analizatoriumi arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriumi, galimos kelios darbų eigos. Informacijos ieškokite toliau esančioje 1 lentelėje. Pagal naudojamą darbų eigą įdėkite tinkamą skaičių reagento kasečių lentynėlių, mėginių lentynėlių su mėginių įvedimo mėgintuvėliais, mėginių apdorojimo įtaiso lentynėlių, K antgalių lentynėlių, K mėgintuvėlių lentynėlių ir K laikiklių K-laikiklių lentynėlėje į atitinkamas lentynėlių vietas COBAS® AmpliPrep instrumente (papildomos informacijos žr. 1 lentelę).

- C1. Padėkite mėginių apdorojimo įtaisus (SPU) mėginių apdorojimo įtaiso lentynėlėje (-se) ir ją (jas) įdėkite į lentynėlės vietą **J**, **K** arba **L** COBAS® AmpliPrep instrumente.
- C2. Pagal naudojamą darbų eigą, įkelkite pilną (-as) K mėgintuvėlių lentynėlę (-es) į lentynėlės vietą **M**, **N**, **O** arba **P** COBAS® AmpliPrep instrumente.
- C3. Įdėkite pilną (-as) K antgalių lentynėlę (-es) į lentynėlės vietą **M**, **N**, **O** arba **P** COBAS® AmpliPrep instrumente.
- C4. Jei naudojate 3 darbų eigą ir COBAS® TaqMan® 48 analizatorių, įdėkite K laikiklius į K laikiklių lentynėlę (-es), į lentynėlių vietas **M** ir **N** arba **O** ir **P** COBAS® AmpliPrep instrumente.

**1 lentelė**  
**Galimos darbų eigos naudojant COBAS® AmpliPrep instrumentą su COBAS® TaqMan®**  
**analizatoriumi arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriumi**

| Darbų eiga |                                                                                  | Perkėlimo į COBAS® TaqMan® arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus režimas                               | Lentynėlės, laikikliai ir vienkartinės priemonės                                                               | Vieta COBAS® AmpliPrep instrumente |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
| 1          | COBAS® AmpliPrep instrumentas ir Docking Station ir COBAS® TaqMan® analizatorius | Automatinis K laikiklio perkėlimas                                                                     | K mėgintuvėliai pilnose K mėgintuvėlių lentynėlose                                                             | M–P                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | K antgaliai pilnose K antgalių lentynėlose                                                                     | M–P                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Įvesties S mėgintuvėliai su mėginiais ir kontrolėmis mėginių lentynėlose                                       | F–H                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Mėginių apdorojimo įtaisai jiems skirtose lentynėlose                                                          | J–L                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | CS1 kasečių lentynėlėje                                                                                        | A                                  |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | CS2, CS3, CS4 kasečių lentynėlėje                                                                              | B–E                                |
| 2          | COBAS® AmpliPrep instrumentas ir COBAS® TaqMan® analizatorius                    | Rankinis K mėgintuvėlių perkėlimas į COBAS® TaqMan® analizatorių naudojant mėginių lentynėlę (-es)     | K mėgintuvėliai pilnose K mėgintuvėlių lentynėlose                                                             | M–P                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | K antgaliai pilnose K antgalių lentynėlose                                                                     | M–P                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Įvesties S mėgintuvėliai su mėginiais ir kontrolėmis mėginių lentynėlose                                       | F–H                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Mėginių apdorojimo įtaisai jiems skirtose lentynėlose                                                          | J–L                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | CS1 kasečių lentynėlėje                                                                                        | A                                  |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | CS2, CS3, CS4 kasečių lentynėlėje                                                                              | B–E                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | <u>Kai mėginyms baigtas apdoroti:</u><br>K mėgintuvėliai mėginių lentynėlose (paruošti perkelti rankiniu būdu) | Tokia pati kaip ankstesnioji (F–H) |
|            |                                                                                  |                                                                                                        |                                                                                                                |                                    |
| 3          | COBAS® AmpliPrep instrumentas ir COBAS® TaqMan® 48 analizatorius (-iai)          | Rankinis K laikiklio perkėlimas į COBAS® TaqMan® 48 analizatorių naudojant K laikiklio lentynėlę (-es) | K mėgintuvėliai mėginių lentynėlose                                                                            | F–H                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | K antgaliai pilnose K antgalių lentynėlose                                                                     | M–P                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Įvesties S mėgintuvėliai su mėginiais ir kontrolėmis mėginių lentynėlose                                       | F–H                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Mėginių apdorojimo įtaisai jiems skirtose lentynėlose                                                          | J–L                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | CS1 kasečių lentynėlėje                                                                                        | A                                  |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | CS2, CS3, CS4 kasečių lentynėlėje                                                                              | B–E                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | Tuščias K laikiklis su brūkšninio kodu K laikiklių lentynėlėje                                                 | M–P                                |
|            |                                                                                  |                                                                                                        | <u>Kai mėginyms baigtas apdoroti:</u><br>K mėgintuvėliai K laikiklyje, K laikiklių lentynėlėje                 | Tokia pati kaip ankstesnioji (M–P) |

## D dalis. Mėginių užsakymas ir įdėjimas: EDTA plazmos mėginiai

- D1. Mėginių lentynėles paruoškite taip: pritvirtinkite brūkšninio kodo etiketės spaustuką prie kiekvienos mėginių lentynėlės vietos, kurioje turi būti padėti mėginiai (S mėgintuvėliai). Pritvirtinkite vieną iš brūkšninio kodo etiketės spaustukų prie kontrolių (**CTM (–) C, HIV-1 L(+)C, v2.0** ir **HIV-1 H(+)C, v2.0**) kiekvienoje mėginių lentynėlės vietoje, kur turi būti padėtos kontrolės (S mėgintuvėliai). Kontrolių brūkšninio kodo etiketės spaustukai turėtų būti su tokiu pat kontrolės partijos numeriu kaip partijos numeris ant rinkinio kontrolės buteliukų. Atidžiai priskirkite tinkamą kontrolę vietai su atitinkamos kontrolės brūkšninio kodo spaustuku. Padėkite vieną įvesties S mėgintuvėlį į kiekvieną vietą su brūkšninio kodo etiketės spaustuku.
- D2. Naudodami AMPLILINK programinę įrangą, pasirinkite tyrimo nustatymų failą (HI2CAP96 – COBAS® AmpliPrep instrumentui ir COBAS® TaqMan® analizatoriui; HI2CAP48 – COBAS® AmpliPrep instrumentui ir COBAS® TaqMan® 48 analizatoriui), sukurkite mėginių užsakymus kiekvienam mėginiui ir kontrolei lango **Orders** aplanke **Sample** ir užbaikite procedūrą, išsaugodami.
- D3. Lango **Orders** aplanke **Sample Rack** priskirkite mėginio ir kontrolės užsakymus mėginio lentynėlės vietoms. Mėginių lentynėlių skaičius turi būti toks, kiek yra paruoštų lentynėlių pagal žingsnį D1.
- D4. Išspausdinkite ataskaitą **Sample Rack Order**, kad galėtumėte ją naudoti kaip darbalapį.
- D5. Norėdami padėti mėginius į kontroles į pažymėtas vietas, paruoškite mėginių ir kontrolių lentynėles taip: Plakite kiekvieną mėginį ir kontrolę (**CTM (–) C, HIV-1 L(+)C, v2.0** ir **HIV-1 H(+)C, v2.0**) nuo 3 iki 5 sekundžių. Dirbdami su mėginiais ir kontrolėmis nesilieskite prie jų nešvariomis pirštinėmis.
- D6. Naudodami pipetės mikrodozatorių su aerosolio barjeru arba teigiamo išstūmimo antgalį be sąlyčio su ribonukleaze, perkeltite 1000–1050 µl kiekvieno mėginio ir kontrolės (**CTM (–) C, HIV-1 L(+)C, v2.0** ir **HIV-1 H(+)C, v2.0**) į atitinkamu brūkšninio kodo pažymėtą mėginių įvedimo mėgintuvėlį. **Saugokite, kad iš pradinio mėginio į įvesties S mėgintuvėlį nepatektų dalelių ir (arba) fibrino krešulių.** Mėginiai ir kontrolės turėtų būti perkeltami į mėgintuvėlių vietas, kaip priskirta ir įrašyta darbalapyje pagal D4 veiksmą. Kontrolių brūkšninio kodo etiketės spaustukai turėtų būti su tokiu pat kontrolės partijos numeriu kaip partijos numeris ant rinkinio kontrolės buteliukų. Priskirkite kontroles vietai su atitinkamu kontrolės brūkšninio kodo spaustuku. **Naudodami mėginius ir kontroles, neužterškite S mėgintuvėlio viršutinės dalies.** Jei mėginius ruošiate naudodami **cobas p 630** instrumentą, žr. **cobas p 630** instrumento naudotojo vadovą.
- D7. Jei naudojate 1 ar 2 darbų eigą, įdėkite mėginių lentynėlę (-es) su mėginių įvedimo mėgintuvėliais į COBAS® AmpliPrep instrumento lentynėlės vietas **F, G** arba **H**.
- D8. Jei naudojate 3 darbų eigą COBAS® TaqMan® 48 analizatoriuje, įdėkite mėginių lentynėlę (-es) su įvesties S mėgintuvėliais ir K mėgintuvėliais (vienas kiekvienam S įvesties mėgintuvėliui, įkeltam į vietą dešinėje, šalia įvesties S mėgintuvėlių) į vietas **F, G** arba **H** COBAS® AmpliPrep instrumente.

## E dalis. Mėginių užsakymas ir įdėjimas: PSC sausos plazmos lašo mėginiai

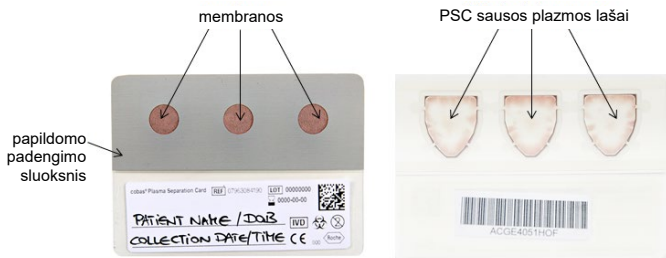
E1. Prieš atidarydami patikrinkite, ar nepažeistas gabenimo maišelio vientisumas. Naudokite tik tuo atveju, jei gabenimo maišelis yra visiškai sandarus.

Atidarykite transportavimo maišelį ir tęskite su kiekvienu mėginio maišeliu tik jei tenkinamos šios sąlygos:

- Laboratorijos užklauso forma yra visiškai užpildyta.
- Laboratorijos užklauso formos ir **PSC** brūkšniniai kodai sutampa.
- Mėginių maišeliai yra visiškai uždaryti ir kiekviename jų yra **PSC** su 4 gramais sausiklio.
- Nurodyta mėginio paėmimo data; mėginys paimtas ne vėliau nei per pastarąją 28 dieną, dar nepasibaigus **PSC** galiojimo laikui.
- **PSC** galiojimo laikas nepasibaigęs.
- **PSC** sausos plazmos lašas priekyje atrodo vientisas ir visiškai padengtas plazmos, kai apžiūrimas iš užpakalinės pusės (žr 8 pav.).

### 8 pav.

**PSC sausos plazmos lašai, apdorojimui**  
(kairė: priekinė pusė; dešinė: užpakalinė pusė)



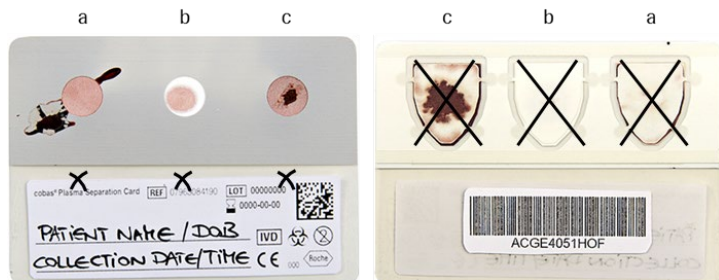
E2. **PSC** sausos plazmos lašus turėtų būti pažymėti or atmesti šiais atvejais:

- matyti kraujo išsiliejimų (9a pav.) ir (arba) membraną nevysiškai dengia kraujas (9b pav.), todėl **PSC** lašo priekinė sritis yra nevientisa ir (arba) užpakalinę pusę nevysiškai dengia plazma (matyti per laikiklį);
- membrana yra apgadinta (9c pav.), todėl **PSC** lašo priekinė sritis yra nevientisa, o užpakalinė sritis – tamsiai raudona (matyti per laikiklį).

**Pastaba:** lašų yra trys, kad būtų galima tyrimą atlikti pakartotinai. **PSC** gali būti blogų lašų, bet ji vis tiek gali užtikrinti gerą mėginį, skirtą tyrimui atlikti. Tinkamai pažymėkite blogus lašus, kad būtų galima juos atpažinti. Venkite žymėti ant papildomo padengimo sluoksnio. Visada palyginkite tris lašus tarpusavyje, kad galėtumėte įvertinti jų kokybę.

### 9 pav.

**PSC atmetimo kriterijai (kairė: priekinė pusė; dešinė: užpakalinė pusė).**  
**Greta lašo išsiliejus kraujui (a), pilnai nepadengus membranos (b) arba esant matomiems membranos pažeidimams (c) lašai neturėtų būti apdorojami.**  
**Neapdorojamus lašus reikėtų aiškiai pažymėti.**



- E3. Mėginių lentynėles paruoškite taip: pritvirtinkite brūkšninio kodo etiketės spaustuką prie kiekvienos mėginių lentynėlės vietos, kurioje bus įdėti mėginiai (S mėgintuvėliai). Pritvirtinkite vieną iš brūkšninio kodo etiketės spaustukų kontrolėms (CTM (–) **C**, **HIV-1 L(+)****C**, **v2.0** ir **HIV-1 H(+)****C**, **v2.0**) kiekvienoje mėginių lentynėlės vietoje, kur bus įdėtos kontrolės (S mėgintuvėliai). Kontrolių brūkšninio kodo etiketės spaustukai turėtų būti su tokiais pat kontrolės partijos numeriais kaip partijos numeris ant rinkinio kontrolės buteliukų. Atidžiai priskirkite tinkamą kontrolę vietai su atitinkamos kontrolės brūkšninio kodo spaustuku. Įdėkite po vieną įkėlimo S mėgintuvėlį į kiekvieną poziciją su brūkšninio kodo etiketės spaustuku.
- E4. Naudodami AMPLILINK programinę įrangą, pasirinkite tyrimo nustatymo failą (HI2PSC96 – COBAS® AmpliPrep instrumentui ir COBAS® TaqMan® analizatoriui; HI2PSC48 – COBAS® AmpliPrep instrumentui ir COBAS® TaqMan® 48 analizatoriui) ir sukurkite mėginių užsakymus kiekvienam mėginiui ir kontrolei lango **Orders** aplanke **Sample** ir užbaikite procedūrą išsaugodami.
- E5. Lango **Orders** aplanke **Sample Rack** priskirkite mėginio ir kontrolės užsakymus mėginio lentynėlės pozicijoms. Mėginių lentynėlių skaičius turi atitikti lentynėlių, paruoštų pagal E1 veiksmą, skaičių. Paciento brūkšninį kodą užpakalinėje **PSC** pusėje galima nuskaityti per mėginio maišelį (10). Šiuo momentu neatidarykite mėginio maišelio ir užbaikite išsaugodami.

### 10 pav.

**Mėginio brūkšninio kodo nuskaitymas, norint užsakyti PSC sausos plazmos lašo mėginius**



- E6. Išspausdinkite ataskaitą **Sample Rack Order**, kad galėtumėte ją naudoti kaip darbalapį, ir vėl įsitikinkite, kad naudojamas tinkamas tyrimo failas.
- E7. Atlikite veiksmus nuo E7 iki E11 traukos spintoje. Atidarykite pasirinktos **PSC** mėginio maišelį ir nuimkite papildomą padengimo sluoksnį (11 pav.). Truputį sulenkite **PSC** ir nuimkite vieną sausos plazmos lašą steriliomis chirurginėmis žnyplėmis arba steriliu pincetu, patraukdami jį aukštyn. Sulenkite nuimtą sausos plazmos lašą ant **PSC**, kad palengvintumėte jo įdėjimą į mėgintuvėlį (12 pav.).

11 pav.  
**Papildomo padengimo sluoksnio nuėmimas**



12 pav.  
**PSC sausos plazmos lašo nuėmimas ir sulenkimas**

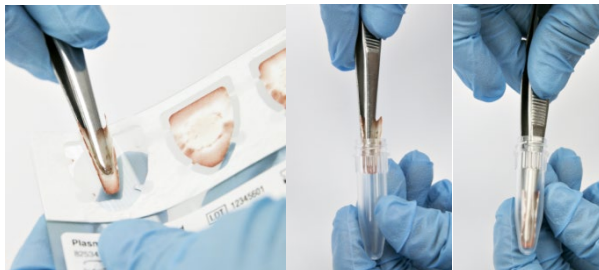


**Pastaba:** vienam pacientui naudokite tik vieną porą chirurginių žnyplių ar pincetą.

- E8. Perkelkite vieną iš anksto sulenktą **PSC** sausos plazmos lašą į atitinkamą mėginį įkėlimo mėgintuvėlį, kad žemiausias **PSC** sausos plazmos lašo galiukas siektų mėgintuvėlio apačią ir būtų priglundęs prie mėgintuvėlio sienelės, siekiant išvengti lašinimo klaidų (13 pav. ir 14 pav.).

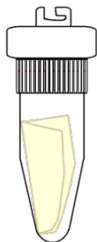
**Pastaba:** laikant sausos plazmos lašai gali tapti trapūs. Žr. **PSC** laikymo reikalavimus. Dėkite juos į mėgintuvėlį atsargiai.

13 pav.  
**PSC sausos plazmos lašo perkėlimas į mėgintuvėlį**

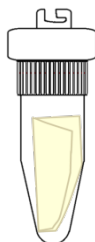


#### 14 pav.

**Geriausia PSC sausos plazmos lašo padėtis S mėgintuvėlyje**



Tinka



Potenciali pipetės užsikimšimo rizika

**Pastaba:** įsitikinkite, kad mėginių įkėlimo mėgintuvėlio pozicijos numeris mėginio lentynėlės užsakymo ataskaitoje sutampa su SK24 lentynėlės padėtimi.

- E9. Įdėkite **PSC** su likusiais sausos plazmos lašais atgal į pradinį mėginio maišelį su 4 gramais šviežio sausiklio, kad būtų galima pakartoti tyrimą, jei prireiktų (15 pav.). **PSC** galima laikyti 56 dienų laikotarpį po transportavimo, atskyrus užlašinimo sluoksnį ir jo neatskiriant (18–30 °C, 2–8 °C arba ≤ –10 °C temperatūroje).

#### 15 pav.

**PSC mėginio maišelyje galimam pakartotiniam tyrimui**



- E10. Uždarykite mėginių įvedimo mėgintuvėlį ir perkeltite mėgintuvėlį, kuriame yra **PSC** sausos plazmos lašas, į SK24 lentynėlės vietą 4-24 (daugiau duomenų pateikiama 2 lentelėje). Kartokite, kol bus apdoroti visi mėginiai.

**Pastaba:** leiskite **SPEX** sušilti iki kambario temperatūros.

- E11. Atidarykite mėginių įkėlimo mėgintuvėlius po vieną atskirai, išsaugodami dangtelį švariomis sąlygomis, ir į kiekvieną mėginių įkėlimo mėgintuvėlį pridėkite 1100 µl **SPEX** (16 pav.). Vėl uždėkite mėginių įkėlimo mėgintuvėlių dangtelius. Kartokite, kol bus apdoroti visi mėginiai.

**16 pav.**  
**1100 µl SPEX, pridėto į kiekvieną PSC sausos plazmos lašo mėginį**



**Pastaba: venkite užteršti mėginių įkėlimo mėgintuvėlių su mėginiais viršutinę dalį ir pasirūpinkite, kad mėgintuvėlių dangteliai būtų tinkamai uždaryti, siekiant išvengti išgaravimo.**

- E12. Perkelkite mėginių įvedimo mėgintuvėlius į Eppendorf Thermomixer ir inkubuokite paruoštus mėginių įkėlimo mėgintuvėlius 56 °C temperatūroje ir nuolatiniu 1000 aps./min. sukimo greičiu 10 minučių, kad atskirtumėte virusą nuo sausos plazmos (17 pav.).

**17 pav.**  
**Inkubacija atliekama 10 minučių.**



**Pastaba: pradėkite inkubaciją iš karto pridėję SPEX.**

- E13. Kol vyksta inkubacija, paruoškite kontroles, kaip aprašyta toliau.

**Pastaba: neinkubuokite kontrolių.**

Įstatykite po vieną mėginių įkėlimo mėgintuvėlį į kiekvieną paruoštos SK24 lentynėlės poziciją (nuo 1 iki 3), kurioje yra kontrolės brūkšninio kodo etiketės spausdukas.

Kruopščiai išmaišykite 1 **CTM (-) C** buteliuką, plakdami jį 20 sekundžių. Perkelkite 1000 µl **CTM (-) C** į SK24 lentynėlės 1 mėginių įkėlimo mėgintuvėlį. Nedelsdami vėl uždėkite mėginių įkėlimo mėgintuvėlio dangtelį.

Kruopščiai išmaišykite 1 **HIV-1 L(+)(C) (v2.0)** buteliuką, plakdami jį 20 sekundžių. Perkelkite 1000 µl **HIV-1 L(+)(C) (v2.0)** į SK24 lentynėlės 2 mėginių įkėlimo mėgintuvėlį. Nedelsdami vėl uždėkite mėginių įkėlimo mėgintuvėlio dangtelį.

Kruopščiai išmaišykite 1 **HIV-1 H(+)(C) (v2.0)** buteliuką, plakdami jį 20 sekundžių. Perkelkite 1000 µl **HIV-1 H(+)(C) (v2.0)** į SK24 lentynėlės 3 mėginių įkėlimo mėgintuvėlį. Nedelsdami vėl uždėkite mėginių įkėlimo mėgintuvėlio dangtelį.

**2 lentelė**  
**PSC sausos plazmos lašo mėginių užsakymas ir įdėjimas**

| Mėginys                                        | AMPLILINK užsakymo pozicija  | Eppendorf IsoRack pozicija   | SK24 lentynėlės pozicija     |
|------------------------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Mėginys                                        | Mėginių įkėlimo mėgintuvėlis | Mėginių įkėlimo mėgintuvėlis | Mėginių įkėlimo mėgintuvėlis |
| CTM(-)C                                        | 1                            | Tuščia                       | 1                            |
| HIV-1 L(+)(C, v2.0                             | 2                            | Tuščia                       | 2                            |
| HIV-1 H(+)(C, v2.0                             | 3                            | Tuščia                       | 3                            |
| <b>PSC sausos plazmos lašas + 1100 µl SPEX</b> | 4-24                         | 4-24                         | 4-24                         |

E14. Po inkubacijos perkelkite mėginius tinkama tvarka į SK24 lentynėlę, kurioje yra kontrolės (E13 veiksmas) (daugiau duomenų pateikiama 2 lentelėje).

**Pastaba: patikrinkite, ar PSC sausos plazmos lašo padėtis mėgintuvėlyje vis dar tinkama (14 pav.), ir, jei reikia, pakoreguokite steriliu pipetės antgaliu. Jei pasirodytų burbuliukų, pašalinkite juos steriliu pipetės antgaliu.**

E15. Įdėkite mėginių lentynėlę (-es) su S įkėlimo mėgintuvėliais į COBAS® AmpliPrep instrumento lentynėlės vietas **F**, **G** arba **H**.

**F dalis. COBAS® AmpliPrep instrumento paleidimo pradžia**

F1. Paleiskite COBAS® AmpliPrep instrumentą naudodami AMPLILINK programinę įrangą.

**G dalis. COBAS® AmpliPrep instrumento paleidimo pabaiga ir perkėlimas į COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių (tik naudojant 2 ir 3 darbų eigas iš 1 lentelės darbų eigas)**

G1. Peržiūrėkite žymas arba pranešimus apie klaidas.

G2. Išimkite apdorotus mėginius ir kontroles iš COBAS® AmpliPrep instrumento ir padėkite į mėginių lentynėles (kai naudojamas COBAS® TaqMan® analizatorius be „Docking Station“) arba K laikiklių lentynėles (kai naudojamas COBAS® TaqMan® 48 analizatorius), atsižvelgdami į darbų eigą (išsamesnės informacijos ieškokite dalyje G).

G3. Išimkite atliekas iš COBAS® AmpliPrep instrumento.

**Pastaba: visi apdoroti mėginiai ir kontrolės, baigus juos ruošti, neturėtų būti laikomi šviesoje.**

## **Amplifikacija ir aptikimas**

### **COBAS® TaqMan® analizatoriaus arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus nustatymas**

COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių reikia paleisti per 120 min. nuo mėginių ir kontrolių paruošimo.

**Pastaba: apdorotų mėginių ir kontrolių neužšaldykite ir nelaikykite 2–8 °C temperatūroje.**

#### **H dalis. Apdorotų mėginių įdėjimas**

H1. Atsižvelgdami darbų eigą, atlikite reikiamus veiksmus ir perkeltkite K mėgintuvėlius į COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių:

*1 darbų eiga:* automatinis K laikiklio perkėlimas į COBAS® TaqMan® analizatorių naudojant „Docking Station“. Rankiniu būdu nieko atlikti nereikia.

*2 darbų eiga:* rankinis K mėgintuvėlių perkėlimas į mėginių lentynėlę (-es) COBAS® TaqMan® analizatorių.

*3 darbų eiga:* rankinis K laikiklio perkėlimas į K laikiklių lentynėlę (-es) COBAS® TaqMan® 48 analizatoriuje. rankinis K laikiklių perkėlimas į COBAS® TaqMan® 48 analizatorių, naudojant K laikiklių transporterį.

#### **I dalis. COBAS® TaqMan® analizatoriaus arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus paleidimo pradžia**

I1. Atsižvelgdami į naudojamą darbų eigą, paleiskite COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių, taikydami vieną iš toliau nurodytų parinkčių:

*1 darbų eiga:* nieko nereikia daryti.

*2 darbų eiga:* įdėjus mėginių lentynėlę (-es), COBAS® TaqMan® analizatorius paleidžiamas automatiškai.

*3 darbų eiga:* jei K laikiklyje yra mažiau nei 6 K mėgintuvėliai, į K laikiklį įdėkite tuščią K mėgintuvėlių. AMPLILINK programinė įranga nurodo, ar jų reikia įdėti. Atidarykite šiluminio ciklo prietaiso dangtelį, įdėkite K laikiklį į šiluminio ciklo prietaisą ir uždarykite dangtį. Paleiskite COBAS® TaqMan® 48 analizatorių.

#### **J dalis. COBAS® TaqMan® analizatoriaus arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus paleidimo pabaiga**

J1. Sustabdę COBAS® TaqMan® analizatorių arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių paleidimą, išspausdinkite rezultatų ataskaitą. Patikrinkite ir įsitikinkite, kad naudotas tinkamas tyrimo nustatymų failas, paieškokite žymų ar klaidų pranešimų rezultatų ataskaitoje. Mėginiai, kurie buvo pažymėti arba pakomentuoti, interpretuojami pagal nurodymus, pateiktus skyriuje „Rezultatai“. Patvirtinti rezultatai perduodami į archyvą.

J2. Išimkite panaudotus K mėgintuvėlius iš COBAS® TaqMan® analizatoriaus arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus.

## REZULTATAI

COBAS® TaqMan® analizatorius arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorius automatiškai nustato ŽIV-1 RNR koncentraciją mėginiuose ir kontrolėse. ŽIV-1 RNR koncentracija išreiškta kop./ml arba TV/ml, atsižvelgiant į naudojamą tyrimo nustatymų failą. Naudojant 1-ąjį PSO ŽIV-1 RNR nukleino rūgšties metodą (NRM) tarptautinį standartą (NIBSC 97/656)<sup>37</sup>, ŽIV-1 RNR k./ml ir ŽIV-1 TV/ml konversijos koeficientas yra 0,6 k./TV. Šis konversijos koeficientas buvo nustatytas naudojant COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimą, COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimą ir COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimą, skirtą naudoti su „High Pure“ sistema.

### AMPLILINK programinė įranga:

- Nurodo ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR ciklo ribinę vertę (Ct).
- Nurodo ŽIV-1 RNR koncentraciją pagal ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1 QS RNR ribinę vertę (Ct) ir tam tikros partijos kalibravimo koeficientus, pateiktus kasečių brūkšniuose koduose.
- Nurodo, ar apskaičiuoti HIV-1 L(+)C (v2.0) ir HIV-1 H(+)C (v2.0) k./ml patenka į jiems priskirtas skales.

### Grupių tikrinimas – AMPLILINK versijos „3.3 Series“ ir „3.4 Series“

Patikrinkite, ar AMPLILINK programinės įrangos rezultatų lange arba spaudinyje nėra žymų ir komentarų, kad įsitikintumėte, jog grupė tinkama. Kontrolių sekos tikrinamos siekiant nustatyti, ar kontrolės k/ml arba TV/ml reikšmė patenka į nurodytą skalę. Jei kontrolės k/ml arba TV/ml reikšmė yra už skalės ribų, sukuriami ŽYMA, kuri nurodo nepavykusią kontrolę.

Grupė yra galiojanti, jei nepažymėta jokia iš kontrolių (HIV-1 L(+)C, v2.0; HIV-1 H(+)C, v2.0 ir CTM (–) C).

Grupė yra negaliojanti, jei atsiranda viena iš šių ŽIV-1 kontrolių žymų:

#### Neigiama kontrolė

| Žyma       | Rezultatas | Aiškinimas                                                                                                |
|------------|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| NC_INVALID | Netinkamas | Negaliojantis rezultatas arba „galiojantis“ rezultatas, kuris nebuvo neigiamas ŽIV-1 tiriamajam objektui. |

#### ŽIV-1 silpnai teigiama kontrolė, v2.0

| Žyma       | Rezultatas | Aiškinimas                                         |
|------------|------------|----------------------------------------------------|
| LPCINVALID | Netinkamas | Klaidingas rezultatas arba kontrolė už skalės ribų |

#### ŽIV-1 stipriai teigiamas bandinys, v2.0

| Žyma       | Rezultatas | Aiškinimas                                         |
|------------|------------|----------------------------------------------------|
| HPCINVALID | Netinkamas | Klaidingas rezultatas arba kontrolė už skalės ribų |

Jei grupė yra klaidinga, pakartokite visos grupės apdorojimą, įskaitant mėginių ir kontrolių paruošimą, amplifikaciją ir aptikimą.

## Rezultatų aiškinimas

Jei norite gauti tinkamą grupę, patikrinkite, ar spausdintuose rezultatuose nėra mėginių su žymomis ar komentarais. Rezultatus aiškininkite taip:

- Galiojančioje grupėje gali būti ir galiojančių, ir negaliojančių mėginių rezultatų, atsižvelgiant į tai, ar gaunama atskirų mėginių žymų ir (arba) komentarų.

### Mėginių rezultatai aiškinami taip:

|                           |                                               | Titravimo rezultatai                  | Aiškinimas                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|---------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           |                                               | Target Not Detected                   | ŽIV-1 Ct kiekis viršija tyrimo ribą arba ŽIV-1 Ct kiekis visai nenustatytas. Rezultatai pranešami taip: „HIV-1 RNA not detected“.                                                                                                                                                                                                                                                |
| Kopijos/ml                | < 2,00E+01 k./ml (plazma)                     | < 738 k./ml (PSC)                     | Apskaičiuota kop./ml reikšmė mažesnė nei tyrimo aptikimo riba. Rezultatai pranešami taip: plazma – „HIV-1 RNA detected, less than 20 HIV-1 RNA cp/mL“ (aptikta ŽIV-1 RNR, mažiau nei 20 ŽIV-1 RNR k./ml), <b>PSC</b> – „HIV-1 RNA detected, less than 738 HIV-1 RNA cp/mL“ (aptikta ŽIV-1 RNR, mažiau nei 738 ŽIV-1 RNR k./ml).                                                  |
|                           | ≥ 2,00E+01 k./ml ir ≤ 1,00E+07 k./ml (plazma) | ≥ 738 k./ml ir ≤ 1,00E+07 k./ml (PSC) | Apskaičiuoti rezultatai, ne mažesni nei 20 k./ml ir ne didesni nei 1,00E+07 k./ml, patenka į plazmos tyrimo, linijinę skalę.<br><br>Apskaičiuoti rezultatai, ne mažesni nei 738 k./ml ir ne didesni nei 1,00E+07 k./ml, patenka į <b>PSC</b> tyrimo, linijinę skalę.                                                                                                             |
|                           | > 1,00E+07 k./ml (plazma ir PSC)              |                                       | Gauta kop./ml reikšmė didesnė nei viršutinė tyrimo skalės riba. Rezultatai pranešami taip: „greater than 1.00E+07 HIV-1 RNA cp/mL“ (daugiau nei 1,00E+07 ŽIV-1 RNR k./ml). Jei reikia kiekybinių rezultatų, pradinį mėginį reikia atskiesti ŽIV-1 neigiamą žmogaus plazmą su EDTA santykiu 1:100, o tyrimą pakartoti. Gauti rezultatai dauginami iš atskiedimo koeficiento.      |
| Tarptautiniai vienetai/ml | < 3,34E+01 TV/ml (plazma)                     |                                       | Apskaičiuota TV/ml reikšmė mažesnė nei tyrimo aptikimo riba. Plazmos rezultatai pranešami taip: „HIV-1 RNA detected, less than 33.4 HIV-1 RNA IU/mL“ (aptikta ŽIV-1 RNR, mažiau nei 33,4 ŽIV-1 RNR TV/ml).                                                                                                                                                                       |
|                           | ≥ 3,34E+01 TV/ml ir ≤ 1,67E+07 TV/ml (plazma) |                                       | Apskaičiuoti rezultatai, ne mažesni nei 33,4 TV/ml ir ne didesni nei 1,67E+07 TV/ml, atitinka tyrimo, kuriame nagrinėjama plazma, linijinę skalę.                                                                                                                                                                                                                                |
|                           | > 1,67E+07 TV/ml (plazma)                     |                                       | Apskaičiuota TV/ml reikšmė didesnė nei viršutinė tyrimo skalės riba. Rezultatai pranešami taip: „greater than 1.67E+07 HIV-1 RNA IU/mL“ (daugiau nei 1,67E+07 ŽIV-1 RNR TV/ml). Jei reikia kiekybinių rezultatų, pradinį mėginį reikia atskiesti ŽIV-1 neigiamą žmogaus plazmą su EDTA santykiu 1:100, o tyrimą pakartoti. Gauti rezultatai dauginami iš atskiedimo koeficiento. |

**Pastaba:** mėginiai, kurių vertė viršija tyrimo skalės ribą, o pateikiamas rezultatas yra klaidingas – su žyma „**QS\_INVALID**“, neturi būti pranešami kaip  $> 1,00E+07$  k./ml arba  $1,67E+07$  TV/ml. Originalų mėginį reikia atskiesti santykiu 1:100 neigiama ŽIV-1 žmogaus EDTA plazma, o tyrimą pakartoti. Gauti rezultatai dauginami iš atskiedimo koeficiento.

**Pastaba:** titravimo rezultatas „**Failed**“ (nepavyko). Aiškinimas: ruošiant mėginį **COBAS® AmpliPrep** instrumentu, mėginys buvo netinkamai apdorotas.

**Pastaba:** titravimo rezultatas „**Invalid**“ klaidingas). Aiškinimas: neteisingas rezultatas.

## KOKYBĖS KONTROLĖ

Į kiekvieną tyrimo grupę turi būti įtraukta po vieną **CTM (-) C**, vieną **HIV-1 L(+)**C**, v2.0** ir vieną **HIV-1 H(+)**C**, v2.0**. Grupė yra galiojanti, jei nepažymėta jokia iš kontrolių (**HIV-1 L(+)**C**, v2.0**, **HIV-1 H(+)**C**, v2.0** ir **CTM (-) C**).

Norėdami įsitikinti, kad grupė tinkama, patikrinkite, ar grupės spaudinyje nėra žymų ir komentarų.

### Neigiama kontrolė

**CTM (-) C** turi pateikti rezultatą „Target Not Detected“ (tikslinis signalas neaptiktas). Jei **CTM (-) C** pažymėta kaip netinkama, tada netinkama yra visa grupė. Pakartokite visą procesą (paciento mėginio ir kontrolės paruošimą, amplifikaciją ir aptikimą). Jei **CTM (-) C** nuolat netinkama keliose grupėse, kreipkitės į vietinę Roche atstovybę dėl techninės pagalbos.

### Teigiamos kontrolės

Priskirta **HIV-1 L(+)**C** v2.0** ir **HIV-1 H(+)**C** v2.0** titrų skalė yra specifinė kiekvienai reagentų partijai ir pateikiama **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0** tyrimo reagento kasetės brūkšniniam kode.

**HIV-1 L(+)**C** v2.0** ir **HIV-1 H(+)**C** v2.0** ŽIV-1 RNR k./ml turi pateikti į jiems priskirtas titrų skales. Jei viena ar abi teigiamos kontrolės pažymėtos kaip netinkamos, tada netinkama yra visa grupė. Pakartokite visą procesą (paciento mėginio ir kontrolės paruošimą, amplifikaciją ir aptikimą). Jei vienos arba abiejų kontrolių standartinės ŽIV-1 RNR titrai nuolat nepatenka į jiems priskirtas skales keliose grupėse, kreipkitės į vietinę „Roche“ atstovybę dėl techninės pagalbos.

## PRIEMONĖS PROCEDŪROS SAUGAI UŽTIKINTI

Kaip ir atliekant bet kokią tyrimo procedūrą, šiam tyrimui tinkamai atlikti labai svarbi gera laboratorinė įranga.

## PROCEDŪROS APRIBOJIMAI

1. Šį tyrimą galima atlikti naudojant tik žmogaus kraujo plazmą, surinktą EDTA antikoaguliante. Kitų tipų mėginių tyrimo rezultatai gali būti netikslūs.
2. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) efektyvumas netirtas nei su mėginiais, kuriuose yra ŽIV-1 N grupė, nei su mėginiais, kuriuose yra ŽIV-2.
3. Jei norite gauti patikimus rezultatus, tinkamai rinkite, transportuokite, laikykite mėginius ir atlikite procedūras.
4. Jei COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 pagrindiniame mišinyje yra fermento „AmpErase“, sumažėja amplifikacijos produkto užteršimo tikimybė. Taigi tik gerai išmanant darbą laboratorijoje ir griežtai laikantis šiamo pakete nurodytų procedūrų taisyklių galima išvengti ŽIV-1 teigiamų kontrolių ir ŽIV-1 teigiamų klinikinių mėginių užteršimo.
5. Šį produktą gali naudoti tik su PGR technologijomis dirbti išmokytas personalas.
6. Šį produktą galima naudoti tik dirbant su COBAS® AmpliPrep instrumentu ir COBAS® TaqMan® arba COBAS® TaqMan® 48 analizatoriumi.
7. Nors retai, tačiau gali įvykti mutacijų ypač pastoviuose viruso genomo regionuose, prie kurių jungiasi COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo pradmenys ir (arba) zondai, o tai gali lemti neteisingus rezultatus arba gali nepavykti aptikti viruso.
8. ŽIV-1 RNR aptikimas priklauso nuo virusų kiekio mėginyje. Įtakos gali turėti mėginio paėmimo būdas, paciento sveikatos būklė (pvz., amžius, simptomų buvimas ir (arba) infekcijos stadija). Klinikinis tyrimo tikslumas yra 99,3 % (95 % CI = nuo 98,2 % iki 99,8 %), todėl buvo pastebėta ŽIV neigiamo tyrimo individų klaidingai teigiamų rezultatų, turinčių žemą titrą.
9. Dėl skirtumų tarp metodų rekomenduojama, kad prieš keisdami metodus, vartotojai atliktų koreliacijos tyrimus savo laboratorijose ir įvertintų kiekybinius metodų skirtumus.

## INTERFERENCINĖS MEDŽIAGOS

Padidėjęs mėginiuose esančių trigliceridų (iki 3500 mg/dl), bilirubino (iki 28 mg/dl), albumino (iki 8900 mg/dl), hemoglobino (iki 900 mg/dl) ir žmogaus DNR (iki 0,4 mg/dl) lygis, taip pat autoimuninės ligos arba aptinkami atitinkami žymenys, pvz., sisteminės raudonosios vilkligės (SRV), reumatoidinio artrito (RA), antinukleinių antikūnų (ANA), netrukdo kiekybiškai įvertinti ŽIV-1 RNR ir neturi įtakos COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) specifiškumui. Įvertinta pagal CLSI dokumentą EP7-A2, naudojant vieną COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) reagentų partiją.

Pasirodė, kad toliau nurodyti vaistų junginiai, 3 kartus tirti didžiausios koncentracijos plazmoje (C<sub>max</sub>), netrukdo kiekybiškai įvertinti ŽIV-1 RNR ir neturi įtakos COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) specifiškumui:

| <b><u>ŽIV vaistai:</u></b>                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Proteazių inhibitoriai</b><br>Atazanaviras<br>Darunaviras<br>Fosamprenaviras<br>Lopinaviras / Ritonaviras<br>Nelfinavir mesylate<br>Ritonaviras<br>Sakvinaviras<br>Tipranaviras | <b>Nukleozidams analogiškas atvirkštinės transkriptazės inhibitorius</b><br>Abacavir sulfate<br>Didanosine, ddl<br>Emtricitabinas<br>Lamivudine, 3TC<br>Stavudine, 4dT<br>Tenofovir DF<br>Zidovudinas |
| <b>Integrazės inhibitorius</b><br>Raltegraviras                                                                                                                                    | <b>Nenukleozidinis atvirkštinės transkriptazės inhibitorius</b><br>Efavirenas<br>Nevirapinas                                                                                                          |
| <b>Įėjimo inhibitorius</b><br>Maraviroksas                                                                                                                                         | <b>Sintezės inhibitoriai</b><br>Enfuvirtidas                                                                                                                                                          |
| <b><u>HBV ir (arba) HCV vaistai:</u></b>                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Nukleotidų analogai</b><br>Adefoviro dipivoksilas                                                                                                                               | <b>Nukleozidų analogai</b><br>Entekaviras<br>Telbivudinas                                                                                                                                             |
| <b>Imunomodulatoriai</b><br>Peginterferonas α-2a<br>Peginterferonas α-2b<br>Ribavirinas                                                                                            |                                                                                                                                                                                                       |
| <b><u>Mišiniai pūslelinės virusams gydyti:</u></b>                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Nukleotidų analogai</b><br>Acikloviras                                                                                                                                          | <b>Nukleotidų derivatyvai</b><br>Gancikloviras<br>Valganciklovir HCl                                                                                                                                  |

## NEKLINIKINIS EFEKTYVUMO ĮVERTINIMAS

### Pagrindinės EDTA plazmos mėginių eksploatacinės savybės

#### A. Aptikimo riba

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) aptikimo riba buvo nustatyta tiriant ŽIV-1 B potipį, atskiestą žmogaus EDTA plazmoje, kurioje nėra ŽIV-1, pagal PSO 2-ąjį tarptautinį ŽIV-1 RNR standartą (NIBSC kodas 97/650<sup>42</sup>). Aptikimo riba buvo apskaičiuota naudojant tris reagentų partijas. Kiekvienoje reagentų partijoje buvo analizuojamos trys tirpalų serijos. Kiekvienos koncentracijos lygio mėginių ištirta apie 126 egzempliorių. Įvertinimas atliktas pagal CLSI dokumentą EP17-A.

ŽIV-1 RNR koncentracija, kurios, kaip nustatyta PROBIT analizėje, aptikimo tikimybė didesnė nei 95%, yra 20 k./ml arba 33 TV/ml. Atskirų partijų rezultatai buvo 17,7 k./ml (95% patikimumo intervalas: 13,7 – 26,9 k./ml) 1 partijos, 17,0 k./ml (95% patikimumo intervalas: 14,0 – 22,6 k./ml) 2 partijos ir 14,2 k./ml (95% patikimumo intervalas: 11,2 – 22,1 k./ml) 3 partijos. Visų trijų reagentų partijų bendri rezultatai pateikti 3 lentelė. Šis konversijos koeficientas tarp TV/ml ir k./ml buvo nustatytas naudojant COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5), COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5) ir COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, kuris skirtas naudoti su High Pure sistema.

3 lentelė  
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) aptikimo riba

| Nominalioji įvestis (ŽIV-1 RNR TV/ml) | Nominalioji įvestis (ŽIV-1 RNR k./ml) | Paketojimų skaičius                                                                                                | Teigiamų atsakymų skaičius | Teigiamų atsakymų procentas |
|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| 100                                   | 60                                    | 126                                                                                                                | 126                        | 100 %                       |
| 67                                    | 40                                    | 186                                                                                                                | 185                        | 99 %                        |
| 50                                    | 30                                    | 126                                                                                                                | 125                        | 99 %                        |
| 33                                    | 20                                    | 126                                                                                                                | 124                        | 98 %                        |
| 25                                    | 15                                    | 59                                                                                                                 | 53                         | 90 %                        |
| 17                                    | 10                                    | 126                                                                                                                | 108                        | 86 %                        |
| 8                                     | 5                                     | 125                                                                                                                | 66                         | 53 %                        |
| 0                                     | 0                                     | 126                                                                                                                | 0                          | 0 %                         |
| PROBIT 95 % atitikimo koeficientas    |                                       | 27,5 TV/ml (95% patikimumo intervalas: 23,8–33,0 TV/ml)<br>16,5 k./ml (95% patikimumo intervalas: 14,3–19,8 k./ml) |                            |                             |

Be to, naudojant dvi reagentų partijas buvo tirti ląstelių kultūrų supernatantų tirpalai, kurie atstojo ŽIV-1 M grupės potipius A–H ŽIV-1 neigiamoje žmogaus plazmoje su EDTA. Kiekvienas ŽIV-1 potipis buvo ištirtas esant keliems skirtingiems koncentracijos lygiams (nominalieji titrai nuo 10 iki 75 k./ml) ir naudojant 24 egzempliorius kiekvienai reagentų partijai. Nominalios koncentracijos buvo priskirtos ląstelių kultūroms, lyginant COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5) titrus, VERSANT® HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNR) titrą ir Abbott RealTime HIV-1 tyrimą. Tikslumo tyrimas rodo didesnę nei 95 % visų potipių teigiamų atsakymų skaičių, esant 20 k./ml ar mažesnei koncentracijai. Dviejų reagentų partijų bendri rezultatai pateikti 4 lentelėje.

**4 lentelė**

**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) aptikimo patikrinimo riba**

| Potipis  | Išskirtos kultūros žymėjimas | Žemiausias koncentracijos lygis<br>≥ 95 % atitikimo koef. (k./ml) |
|----------|------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| A        | 92UG029                      | 10                                                                |
| A        | 4237A/98                     | 20                                                                |
| B        | 92TH026                      | 20                                                                |
| B        | 8E5/LAV                      | 20                                                                |
| C        | 92BR025                      | 20                                                                |
| C        | 3777A/97                     | 11                                                                |
| D        | 92UG021                      | 20                                                                |
| D        | 92UG035                      | 11                                                                |
| CRF01_AE | 92TH022                      | 12                                                                |
| CRF01_AE | 92TH009                      | 14                                                                |
| F        | 93BR020                      | 20                                                                |
| G        | ARP173/RU570                 | 13                                                                |
| H        | HIV V1557                    | 16                                                                |

**B. Tikslumas**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) tikslumas buvo įvertintas analizuojant daug ŽIV-1 ląstelių kultūros supernatanto mėginių skiedinių (ŽIV-1 B potipis) žmogaus EDTA plazmoje, kurioje nėra ŽIV-1. Ląstelių kultūros supernatanto priskyrimas titrui (ląstelių grupių koncentracija) buvo atliktas atsekamumą užtikrinančiu metodu pagal PSO 1-ąjį tarptautinį ŽIV-1 RNR standartą, NIBSC kodas 97/656<sup>36</sup>. Buvo išanalizuotos trys reagentų partijos, visos jos buvo ištirtos po 15 kartų. Vieną tyrimą sudarė 6 skiedimo lygiai ir 3 pakartojimai kiekviename lygyje. Buvo atlikta visa kiekvieno mėginio COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) procedūra, įskaitant mėginio ruošimą, amplifikaciją ir aptikimą. Todėl čia pateikiami tikslumo duomenys atspindi visus tyrimo procedūros aspektus. Kiekvienos trijų reagentų partijos rezultatai ir apibendrinti visų partijų rezultatai parodyti 5 lentelė.

**5 lentelė**

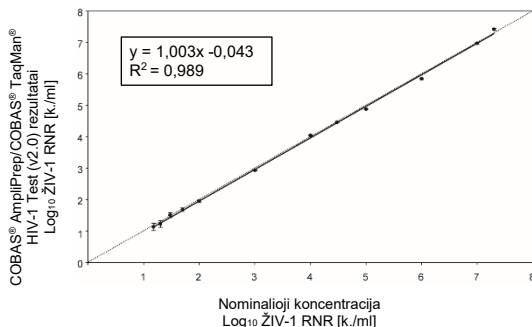
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) tikslumas**

| Titras<br>(k./ml) | 1 partija                                     | 2 partija                                     | 3 partija                                     | Apibendrinti visų trijų partijų duomenys      |                                                   |
|-------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------|
|                   | Bendrasis logaritminis standartinis nuokrypis | Bendrasis logaritminis standartinis nuokrypis | Bendrasis logaritminis standartinis nuokrypis | Bendrasis logaritminis standartinis nuokrypis | Bendras lognormalusis variacijos koeficientas (%) |
| 1,0E+02           | 0,19                                          | 0,16                                          | 0,17                                          | 0,17                                          | 41                                                |
| 1,0E+03           | 0,07                                          | 0,09                                          | 0,07                                          | 0,08                                          | 20                                                |
| 1,0E+04           | 0,07                                          | 0,07                                          | 0,06                                          | 0,07                                          | 16                                                |
| 1,0E+05           | 0,04                                          | 0,05                                          | 0,07                                          | 0,06                                          | 15                                                |
| 1,0E+06           | 0,10                                          | 0,09                                          | 0,10                                          | 0,10                                          | 25                                                |
| 1,0E+07           | 0,11                                          | 0,12                                          | 0,14                                          | 0,13                                          | 33                                                |

### C. Linijinė skalė

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) pateikia linijinį atsaką nuo 20 ( $\log_{10} = 1,30$ ) ŽIV-1 RNR k./ml iki  $1,0 \times 10^7$  ( $\log_{10} = 7,00$ ) ŽIV-1 RNR k./ml. Įvertinimas atliktas pagal CLSI dokumentą EP6-A, naudojant dvi COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) reagentų partijas ir odelio titro ŽIV-1 RNR (+) ląstelių kultūros supematanto mėginio skiedinius. Buvo tirtos dvi reagentų partijos, vienos partijos tyrimo metu paleista 15 kartų. Vieną tyrimą sudarė 12 skiedimo lygių ir 3 egzemplioriai esant kiekvienam lygiui. Vienos reagentų partijos rezultatai pateikti 18 paveikslėlyje.

18 pav.  
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) tiesiškumas



### D. ŽIV-1 M grupės įtraukiamumas

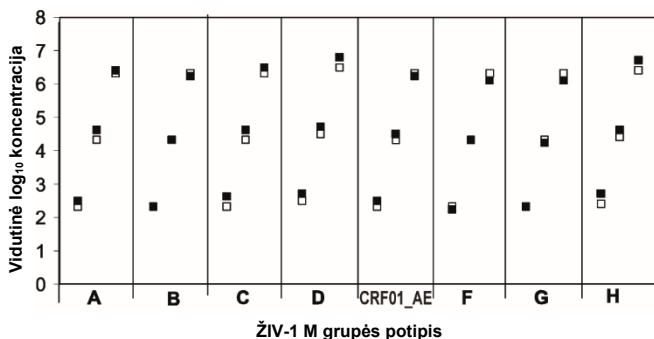
Remiantis skirtingu nukleotidų išsiskyrimu, buvo pasiūlytos aštuonios ŽIV-1 M grupės potipių kategorijos. Potipiai žymimi didžiosiomis abėcėlės raidėmis nuo A iki H<sup>41</sup>.

Atliekant HIV-1 potipių įvertinimą COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0), buvo analizuojamos kiekvienos ŽIV-1 M grupės A–H potipių ląstelių kultūros. Nominalios koncentracijos ląstelių kultūroms buvo priskirtos skaičiuojant vidurkį: COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5) titrų, VERSANT® HIV-1 RNA 3.0 Assay (bDNR) titro ir Abbott RealTime HIV-1 tyrimo. Kiekviena ląstelės kultūra buvo atskiedžiama iki nominalių koncentracijų, apytiksliai  $2,00 \times 10^2$ ,  $2,00 \times 10^4$  ir  $2,00 \times 10^6$  k./ml EDTA plazmoje. Koncentracijos buvo tirtos 10 kartų pagal COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimą, naudojant vieną reagentų partiją. Vidutiniai visų koncentracijų ir potipių t log<sub>10</sub> titrai buvo palyginti su atitinkamais nominaliais log<sub>10</sub> titrais.

8 ŽIV-1 potipių išsiskyrimų įvertinimas naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) parodė vienodus visų tirtų ŽIV-1 M grupės potipių rezultatus (žr. 19 pav.). Vidutinės visų potipių log<sub>10</sub> koncentracijos nuo priskirtos įvesties koncentracijos skyrėsi tik  $\pm 0,3 \log_{10}$ .

**19 pav.**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**

□ nominali koncentracija ■ COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)

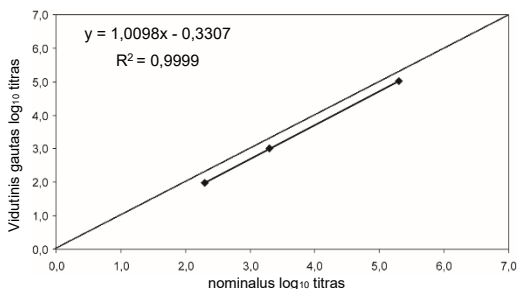


**E. ŽIV-1 O grupės aptikimas**

ŽIV-1 O grupės ląstelių kultūros supernatanto (išskyrimas MVP5180) žmogaus EDTA plazmoje skiediniai buvo analizuojami naudojant dvi reagentų partijas. Buvo tirti keli koncentracijos lygiai (nominalieji titrai nuo 10 iki 75 k./ml) atliekant 24 tyrimus kiekvienoje reagentų partijoje. Nominalios koncentracijos priskyrimas ląstelių kultūrai buvo atliekamas naudojant Abbott RealTime HIV-1 tyrimą. Atitikimo koeficientas rodo didesnę nei 95 % teigiamų atsakymų skaičių, esant 20 k./ml koncentracijai.

ŽIV-1 O grupės ląstelių kultūra buvo atskiesta iki nominalių koncentracijų, apytiksliai 2,00E+02, 2,00E+03 ir 2,00E+05 k./ml EDTA plazmoje. Koncentracijos buvo tirtos 10 kartų pagal COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0), naudojant vieną reagentų partiją. Vidutiniai visų koncentracijų log<sub>10</sub> titrai buvo linijiniai ir nuo nominalaus log<sub>10</sub> titro skyrėsi vos  $\pm 0,3 \log_{10}$  (žr. 20 pav.).

**20 pav.**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**  
**Tiesiškumas, potipis O (MVP5180)**



Be to, 10 ląstelių kultūrų ir atskiestas vienas paciento mėginys (11613) su ŽIV-1 O grupės virusu tuo pat metu ištirti naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir Abbott RealTime HIV-1 tyrimą. Visi 11 mėginių buvo teigiami tiriant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) (žr. 6 lentelė). Abiejų tyrimų vidutinis 11 mėginių log<sub>10</sub> titras skyrėsi 0,1 log<sub>10</sub>.

**6 lentelė**  
**ŽIV-1 O grupės išskyrimų atpažinimas atliekant**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**

| Išskirtos kultūros žymėjimas                 | Log <sub>10</sub> titras<br>COBAS® AmpliPrep/<br>COBAS® TaqMan®<br>HIV-1 Test (v2.0) | Log <sub>10</sub> titras<br>„Abbott<br>RealTime“ ŽIV-1<br>tyrimas |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| BBi PRD 301,<br>BV-5050                      | 3,09                                                                                 | 2,42                                                              |
| BBi PRD 301,<br>BV-5051                      | 2,86                                                                                 | 3,35                                                              |
| BBi PRD 301,<br>BV-5003                      | 3,00                                                                                 | 2,71                                                              |
| BBi PRD 301,<br>BV-5024                      | 2,87                                                                                 | 2,69                                                              |
| MVP5180                                      | 2,78                                                                                 | 3,25                                                              |
| ŽIV-1 CA-9                                   | 3,31                                                                                 | 3,08                                                              |
| BCF01                                        | 5,71                                                                                 | 5,61                                                              |
| BCF02                                        | 5,16                                                                                 | 5,39                                                              |
| BCF07                                        | 4,27                                                                                 | 4,81                                                              |
| BCF011                                       | 5,57                                                                                 | 5,26                                                              |
| 11613                                        | 2,97                                                                                 | 2,05                                                              |
| <b>Vidutinis log<sub>10</sub><br/>titras</b> | <b>3,78</b>                                                                          | <b>3,69</b>                                                       |

## F. Specifiškumas

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo specifiškumas buvo nustatytas tiriant ŽIV-1 neigiamų kraujo donorų plazmos su EDTA mėginius, naudojant dvi reagentų partijas. Iš viso buvo gauta 660 skirtingų EDTA plazmos mėginių tyrimų galiojančių rezultatų ir nė viename jų neaptikta ŽIV-1 RNR, naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0). Pagal šiuos rezultatus COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) specifiškumas yra 100 % (vienos šalies apatinė 95 % patikimumo riba:  $\geq 99,6\%$ ).

## G. Analitinis specifiškumas

Analitinis COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) specifiškumas buvo įvertintas įdedant kultūrų organizmų (virusų, bakterijų, mielių) arba  $5E+04$  dalelių/ml įvesties koncentracijos DNR (HTLV-2) į žmogaus EDTA plazmą, kurioje nebuvo ŽIV-1, ir į EDTA plazmą, kurioje buvo ŽIV-1 ( $1,5E+02$  k./ml ŽIV-1) (žr. 7 lentelę).

Atliekant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0), nė vienas iš tirtų organizmų kryžminių reakcijų nesukėlė. Mėginių, kuriuose buvo ŽIV-1, titrų rezultatai atitiko ŽIV-1 teigiamos kontrolės  $\pm 0,5 \log_{10}$  ribas.

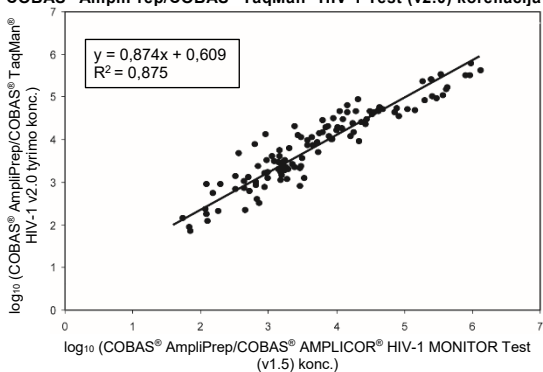
7 lentelė  
Analitinio specifiškumo mėginiai

| Virusai                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | Bakterijos                                       |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|
| 5 tipo adenovirusas<br>Citomegalovirusas<br>Epšteino–Baro virusas<br>Žmogaus pūslelinės 6 tipo virusas<br>1 tipo paprastosios pūslelinės virusas<br>2 tipo paprastosios pūslelinės virusas<br>1 tipo žmogaus T ląstelių limfotropinis virusas<br>2 tipo žmogaus T ląstelių limfotropinis virusas<br>Gripas A<br>Hepatito A virusas<br>Hepatito B virusas<br>Hepatito C virusas | Staphylococcus aureus<br>Propionibacterium acnes |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | Mielės<br>Candida albicans                       |

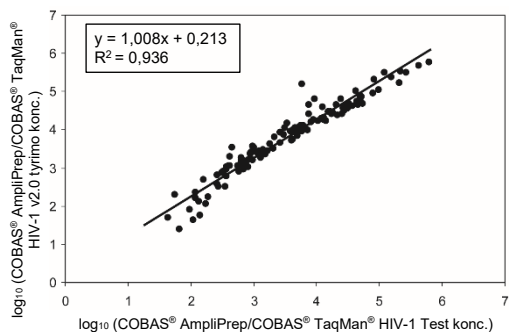
## H. Metodų koreliacija

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimas buvo palygintas su COBAS® AmpliPrep/COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimu, COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HŽIV-1 tyrimu ir „Abbott RealTime“ tyrimu. Buvo iširti 92 prospektyviai surinkti, neskiesti ŽIV-1 teigiami klinikiniai mėginiai ir 34 atskiesti ląstelių kultūrų supernatantai. Mėginius sudarė ŽIV-1 M grupės A–H potipiai, taip pat rekombinantinės viruso formos. Viskas buvo iširta dviejose išorinėse vietose. Iš viso atlikus keturis testus buvo iširti 126 mėginiai, pasiskirstę po visą COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo dinaminę skalę. Demingo regresijos analizės būdu buvo įvertintos tik galiojančios titrų poros, patenkančios į abiejų tyrimų linijinę skalę (žr. 21–23 pav.).

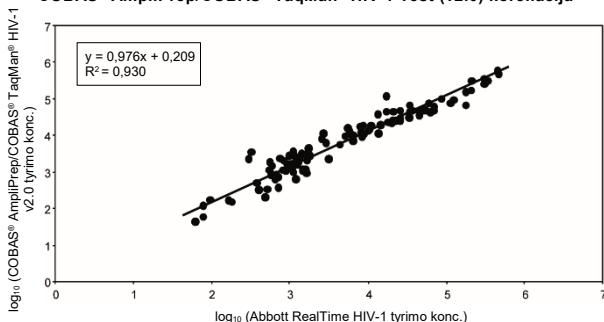
21 pav.  
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) koreliacija



22 pav.  
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) koreliacija



23 pav.  
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) koreliacija



# I. Visos sistemos sutrikimas

Dviejų COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) rinkinio partijų visos sistemos sutrikimų koeficientas buvo nustatytas ištyrus EDTA plazmos ir ŽIV-1 M grupės B potipio priedu 113 pakartojimų 1-ajai partijai ir 114 pakartojimų 2-ajai partijai. Šie mėginiai buvo ištirti esant tikslinei koncentracijai (apytikriai  $3 \times \text{LoD}$ ). Bendri šio tyrimo rezultatai (1-osios ir 2-osios partijų) parodė, kad po vieno pakartojimo gautas neigiamas ŽIV-1 tikslinės vertės rezultatas, o visos sistemos sutrikimų koeficientas yra 0,4 %.

## PSC sausos plazmos lašo mėginių pagrindinės eksploatacinės savybės

### A. Plazmos aptikimo riba naudojant plazmos atskyrimo kortelę

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) naudojant su **PSC** plazmos aptikimo riba buvo nustatyta išanalizavus plazmos titrus, priskirtus ŽIV-1 M grupės ląstelių kultūros supernatanto skiediniams, žmogaus neapdorotame kraujyje, kuriame nebuvo ŽIV. Iš penkių koncentracijos lygių ir neigiamo mėginio sudaryti skydai buvo ištirti naudojant tris **PSC** partijas ir tris COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test reagentų partijas, tyrimus vykdant keletą dienų, atliekant kelis paleidimus, pasitelkiant įvairius operatorius ir instrumentus. Aukšto ir žemo titro teigiamų kontrolių paruošimui dalis aukščiausios koncentracijos skydo mėginio buvo nucentrifuguota ir plazmai priskirtas titras naudojant kalibratoriaus serijos metodą (*angl. Bracketing Method*) tiriant su **cobas®** HIV-1 tyrimu (**cobas®** 6800/8800 sistemose) ir lyginant su 3-uoju ŽIV-1 PSO standartu, ŽIV-1 grupė M, potipis B.

**PSC** rezultatai parodyti 8 lentelė. Šis tyrimai parodo, kad COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) naudojan su **PSC** aptiko 737,9 k./ml koncentracijos ŽIV-1 RNR, kaip nustatė Probit, su 95 % atitikimo koeficientu.

**8 lentelė**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) aptikimo riba**

| <b>ŽIV-1 M grupės<br/>priskirta plazmos<br/>koncentracija (k./ml)</b> | <b>Reaktyvių<br/>skaičius</b> | <b>Tinkamų pakartoj.<br/>skaičius</b>                                                              | <b>Reaktyvių %</b> |
|-----------------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|
| 1691,1                                                                | 61                            | 61                                                                                                 | 100 %              |
| 1098,1                                                                | 51                            | 51                                                                                                 | 100 %              |
| 2276,4                                                                | 61                            | 62                                                                                                 | 98,39 %            |
| 845,6                                                                 | 59                            | 60                                                                                                 | 98,33 %            |
| 549,1                                                                 | 46                            | 49                                                                                                 | 93,88 %            |
| 1138,2                                                                | 59                            | 60                                                                                                 | 98,33 %            |
| 563,7                                                                 | 54                            | 60                                                                                                 | 90,00 %            |
| 366                                                                   | 49                            | 53                                                                                                 | 92,45 %            |
| 758,8                                                                 | 56                            | 61                                                                                                 | 91,80 %            |
| 281,9                                                                 | 46                            | 62                                                                                                 | 74,19 %            |
| 183                                                                   | 36                            | 49                                                                                                 | 73,47 %            |
| 379,4                                                                 | 50                            | 62                                                                                                 | 80,65 %            |
| 140,9                                                                 | 38                            | 63                                                                                                 | 60,32 %            |
| 91,5                                                                  | 22                            | 54                                                                                                 | 40,74 %            |
| 189,7                                                                 | 37                            | 63                                                                                                 | 58,73 %            |
| 0                                                                     | 0                             | 63                                                                                                 | 0,00 %             |
| 0                                                                     | 0                             | 54                                                                                                 | 0,00 %             |
| 0                                                                     | 0                             | 59                                                                                                 | 0,00 %             |
| <b>PROBIT 95 % atitikimo koeficientas</b>                             |                               | 737,9 k./ml (95 % patikimumo<br>intervalas: 614,3–938,5 k./ml)<br>1230 TV/ml (1023,8–1564,2 TV/ml) |                    |

**Neapdoroto kraujo LOD įvertinimas:**

Negalima tiksliai nustatyti to paties mėginio neapdoroto kraujo titrų, nes neapdoroto kraujo mėginio tipas netinka virusų kiekio tyrimui atlikti. Neapdoroto kraujo titrai, kurių pagrindas yra ŽIV-1 RNR kiekis, pridėtas į neapdoroto kraujo mėginius, nebuvo naudojami LoD įvertinti, nes pridėtos RNR kiekis nebūtinai atitinka RNR kiekį plazmoje. Net užbaigus centrifuguoti, RNR gali išlikti leukocitų plėvelėje arba susieta su neapdoroto kraujo ląstelių frakcija. Tačiau kitose technologijose, pvz., sauso kraujo lašo, naudojami pridėtiniai neapdoroto kraujo titrai. Norint įvertinti jų aptikimo ribą neapdorotame kraujyje, gali būti pateiktas neapdoroto kraujo LoD **PSC** įvertis, parengtas atsižvelgiant į empirinį veiksnį, kuris, kaip manoma, yra susijęs su mėginių hematokrito turinio vidurkiu (45 %) (9 lentelė).

Neapdoroto kraujo LOD vertės apskaičiuojamos pagal santykį:

neapdoroto kraujo LOD įvertis = **PSC** plazmos LOD / 1,8

**9 lentelė**  
**Neapdoroto kraujo LoD įvertis**

|                                                        |                          |
|--------------------------------------------------------|--------------------------|
| <b>LoD pagal PROBIT analizę (95 % atitikimo koef.)</b> | <b>439,0 k./ml</b>       |
| <b>95 % patikimumo intervalas</b>                      | <b>366,1–557,6 k./ml</b> |

## B. Tikslumas naudojant plazmos atskyrimo kortelę

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir **PSC** derinio tikslumas buvo nustatytas išanalizavus mėginio, kuriame aiškiai buvo ŽIV-1 (ląstelių kultūros supernatanto mėginio su ŽIV-1 RNR), skiedinį EDTA neapdorotame kraujyje, kuriame ŽIV nebuvo. Penki skiedimo lygiai buvo ištirti 48 pakartojimuose kiekvienam lygiui ir proceso tūriui naudojant dvi partijas **PSC** ir dvi COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) reagentų partijas, dvi CAP/CTM sistemas ir du operatorius per 12 dienų. Buvo atlikta kiekvieno mėginio visa **PSC** darbų eigos ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) procedūra. Čia pateikiami tikslumo rezultatai atspindi visus tyrimo procedūros aspektus. Bendrieji efektyvumo rezultatai – 10 lentelė.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir **PSC** derinys parodė didelį dviejų **PSC** partijų ir reagentų, ištirtų koncentracijos diapazone nuo  $7,38E+02$  k./ml iki  $1,00E+07$  k./ml, tikslumą.

10 lentelė  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**  
ir **PSC** laboratorinio derinio tikslumo ribų atitikimas

| Išmatuota koncentracija (k./ml) | Šaltinio medžiaga | SD telkinys |
|---------------------------------|-------------------|-------------|
| 6,31E+06                        | Łąstelių kultūra  | 0,08        |
| 1,05E+06                        | Łąstelių kultūra  | 0,09        |
| 1,02E+05                        | Łąstelių kultūra  | 0,12        |
| 1,05E+04                        | Łąstelių kultūra  | 0,19        |
| 2,29E+03                        | Łąstelių kultūra  | 0,25        |

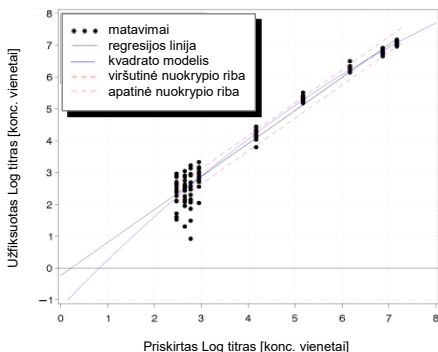
## C. Linijinė skalė naudojant plazmos atskyrimo kortelę

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir **PSC** derinio linijškumo tyrimas buvo atliktas naudojant skiedimo serijas, kurių kiekvieną sudarė 9 skydo nariai, apimančias dominuojančio ŽIV-1 M grupės B potipio linijinę skalę. Skydo nariai buvo paruošti iš ŽIV-1 RNR didelio titro teigiamo ląstelių kultūros supernatanto mėginio. Įvertinimas buvo atliktas pagal CLSI dokumentą EP06-A<sup>20</sup>. Dvi **PSC** ir dvi reagentų partijos buvo išanalizuotos naudojant dvi CAP/CTM sistemas, tris operatorius ir atliekant iš viso 20 pakartojimų koncentracijos lygiui.

Aukšto ir žemo titro teigiamų kontrolių paruošimui dalis vieno skydo mėginio buvo nucentrifuguota ir plazmai priskirtas titras naudojant kalibratoriaus serijos metodą (*angl. Bracketing Method*) tiriant su **cobas®** HIV-1 tyrimu (**cobas®** 6800/8800 sistemose) ir lyginant su 3-uoju ŽIV-1 PSO standartu, ŽIV-1 grupė M, potipis B.

Atsižvelgiant į **PSC** ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0), derinys yra linijinis nuo  $7,38E+02$  k./ml iki  $1,00E+07$  k./ml ir rodo absoliutų nuokrypį nuo patikimesnio sujungimo ne linijinės regresijos, nesiekiančios  $\pm 0,16 \log_{10}$  **PSC**, ribose (žr. 24 pav.). Linijinėje skalėje tyrimo tikslumas yra  $\pm 0,3 \log_{10}$ .

**24 pav.**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**  
**ir plazmos atskyrimo kortelės derinio linijiskumas**



**D. Potipio patikrinimas naudojant plazmos atskyrimo kortelę**

Nors ŽIV potipis neturėtų paveikti **PSC** efektyvumo, įprastų ŽIV-1 M potipių (A, C ir D) kultivuoti ŽIV-1 mėginiai buvo praskiesti iki vieno koncentracijos lygio neapdorotame kraujyje. Buvo atliktas kiekvieno mėginio preciziškumo ir tikslumo nustatymas taikant 12 pakartojimų. Tyrimas buvo atliekamas su 1 **PSC** partijos ir 1 **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)** partijos reagentais.

Aukšto ir žemo titro teigiamų kontrolių paruošimui kiekvienas neapdoroto kraujo mėginys buvo nucentrifuguotas ir plazmai priskirtas titras naudojant kalibratoriaus serijos metodą (angl. Bracketing Method) tiriant su **cobas®** HIV-1 tyrimu (**cobas®** 6800/8800 sistemose) ir lyginant su 3-uoju ŽIV-1 PSO standartu, ŽIV-1 grupė M, potipis B.

Bendrieji efektyvumo rezultatai – 11 lentelė. Šie rezultatai patvirtina, kad **COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)** ir **PSC** derinys aptiko ŽIV-1 M (A, C ir D).

**11 lentelė**  
**ŽIV-1 M grupės A, C ir D potipių patvirtinimas**

| ŽIV-1<br>M potipis | Tinkamų<br>pakartojimų<br>skaičius | Preciziškumas | Tikslumas | Plazma ir PSC<br>kartu su plazma<br>Lygiavertiškumas |
|--------------------|------------------------------------|---------------|-----------|------------------------------------------------------|
| <b>A potipis</b>   | 12                                 | -0,02         | 0,09      | 0,17                                                 |
| <b>C potipis</b>   | 12                                 | 0,13          | 0,16      | 0,06                                                 |
| <b>D potipis</b>   | 12                                 | 0,07          | 0,15      | 0,05                                                 |

## **E. Specifiškumas naudojant plazmos atskyrimo kortelę**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) naudojant su **PSC** specifiškumas buvo nustatytas išanalizavus iš atskirų donorų gautus EDTA neapdoroto kraujo mėginius be ŽIV. 160 atskirų EDTA neapdoroto kraujo mėginių buvo ištirti dviejose **PSC** ir dviejose COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) reagentų partijose. Vieno mėginio ŽIV-1 RNR rezultatas buvo teigiamas, kitų 159 – neigiamas. Tyrimo skyde COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir **PSC** derinio specifiškumas buvo 99,4 % (95 % patikimumo riba:  $\geq 97,07$  %).

## **F. Visos sistemos sutrikimas naudojant plazmos atskyrimo kortelę**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) naudojant su **PSC** visos sistemos sutrikimų koeficientas buvo nustatytas atlikus 100 EDTA neapdoroto kraujo tyrimo pakartojimų pridėjus ŽIV-1 M grupės B potipio viruso. Šie mėginiai tirti esant tikslinei koncentracijai (apytikriai  $3 \times \text{LoD}$ ). Šio tyrimo rezultatai parodė, kad nė vienu pakartojimu negautas neigiamas tirtų ŽIV-1 rezultatas, o visos sistemos sutrikimų koeficientas yra 0 %.

## **KLINIKINIS EFEKTYVUMO ĮVERTINIMAS**

### **Pagrindinės EDTA plazmos mėginių eksploatacinės savybės**

#### **Atkartojamumas**

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) atkartojamumas buvo įvertintas naudojant EDTA plazmą ir 2 skirtingas darbo eigas (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® analizatoriaus sistemą ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® 48 analizatoriaus sistemą). Tyrimas atliktas naudojant skydus, kuriuos sudarė būdingos ŽIV-1 M grupės B potipio viruso ląstelių kultūros ir EDTA plazma be ŽIV-1 RNR ir ŽIV-1/2 antikūnų. Rinkinyje apėmė COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo dinaminį diapazoną ir pagrindinius medicinines paskirties aspektus. Jo naudojimui pritaroma 2008 m. Sveikatos ir viešųjų paslaugų departamento antiretrovirusinių medžiagų naudojimo ŽIV-1 užkrėstiems suaugusiesiems ir paaugliams nuostatose<sup>13</sup>. Tyrimu buvo siekiama įvertinti pagrindinius kintamuosius, lemiančius bendrąjį tikslumo nuokrypį, įskaitant partiją, vietą / instrumentą, operatorių, dieną / tyrimą ir vieną tyrimo atlikimą. Papildomai buvo atlikta analizė, per kurią palygintos dviejų darbo eigų efektyvumo charakteristikos ir tikslumo kintamumas. Du operatoriai trijose laboratorijose 5 dienas atliko tyrimus tokia pat darbo eiga, naudojant tas pačias rinkinių partijas. Kiekviename tyrime buvo naudojamas vienas kontrolinių rinkinys (1 stipriai teigiama, 1 silpnai teigiama ir 1 neigiama) ir 7 dalių skydas, su kuriuo buvo atlikti trys pakartotiniai tyrimai (21 mėginys) COBAS® AmpliPrep instrumentu. Paruošti mėginiai ir kontrolės buvo amplifikuoti ir aptikti naudojant COBAS® TaqMan® arba COBAS® TaqMan® 48 analizatorių.

Atkartojamumas buvo įvertintas naudojant atsitiktinio poveikio modelį pagal a) partiją; b) vietą / instrumentą; c) vietą dirbantį / instrumentą naudojantį operatorių; d) partijos, vietos / instrumento naudojimo ir operatoriaus darbo dieną / tyrimą; e) mėginių vieno tyrimo komponentus, naudojant PROC MIXED ir  $\log_{10}$  transformuotus rezultatus. Buvo apskaičiuoti kintamumo dėl kiekvieno  $\log_{10}$  transformuotos ŽIV-1 RNR koncentracijos variacijos komponento ir koeficiento procentai. Buvo ištirti tik tyrimo skalės (nuo  $2,00\text{E}+01$  iki  $1,00\text{E}+07$  k./ml) duomenys.

12 lentelė lentelėje nurodytas bendras tikslumo nuokrypis ir bendro tikslumo standartinis nuokrypis, apskaičiuotas naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® analizatoriaus sistemą ir atlikus nuokrypio analizę. Apskritai, tyrimo komponentas nulėmė didesnę kintamumą negu kiti komponentai.

## 12 lentelė

Tyrimų skalės tyrimų ŽIV-1 RNR koncentracijos ( $\log_{10}$  k./ml)  
bendrojo nuokrypio, bendrojo standartinio nuokrypio tikslumo  
ir lognormaliojo variacijos koeficiento procentai

| ŽIV-1 RNR koncentracija<br>( $\log_{10}$ k./ml) |                           |                                            | Poveikis bendrajam nuokrypiui (%) |                         |                  |                           |             | Bendrasis<br>tikslumas                                                       |
|-------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|------------------|---------------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Numatyta                                        | Užfiksuota<br>(vidutinis) | Tinkamų<br>tyrimų<br>skaičius <sup>1</sup> | Partija                           | Vieta /<br>Instrumentas | Opera-<br>torius | Diena/<br>Palei-<br>dimas | Paleidžiant | Standartinis<br>nuokrypis<br>(lognormalusis<br>variacijos<br>koeficientas %) |
| 1,699                                           | 1,832                     | 270                                        | 5 %                               | 2 %                     | 0 %              | 8 %                       | 85 %        | 0,20 (48 %)                                                                  |
| 2,602                                           | 2,676                     | 275                                        | 6 %                               | 1 %                     | 0 %              | 17 %                      | 77 %        | 0,11 (25 %)                                                                  |
| 3,000                                           | 3,067                     | 274                                        | 16 %                              | 0 %                     | 4 %              | 12 %                      | 69 %        | 0,10 (24 %)                                                                  |
| 3,699                                           | 3,822                     | 273                                        | 20 %                              | 6 %                     | 0 %              | 17 %                      | 57 %        | 0,10 (23 %)                                                                  |
| 4,699                                           | 4,746                     | 273                                        | 27 %                              | 0 %                     | 0 %              | 14 %                      | 59 %        | 0,07 (17 %)                                                                  |
| 5,699                                           | 5,644                     | 274                                        | 33 %                              | 10 %                    | 0 %              | 19 %                      | 38 %        | 0,10 (23 %)                                                                  |
| 6,699                                           | 6,751                     | 259                                        | 27 %                              | 14 %                    | 0 %              | 20 %                      | 39 %        | 0,12 (27 %)                                                                  |

Pastaba: kai tyrimo skalės rezultatai yra nuo 20 k./ml iki 1,00E+07 k./ml (nuo 1,30  $\log_{10}$  k./ml iki 7,00  $\log_{10}$  k./ml) imtinai.

<sup>1</sup> Tyrimų skaičius tyrimo skalėje.

Rezultatai, gauti naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® 48 sistemos darbo eigą, apibendrinti 13 lentelė. Apskritai, tyrimo komponentas nulėmė didesnį kintamumą negu kiti komponentai, išskyrus didžiausią titrą.

## 13 lentelė

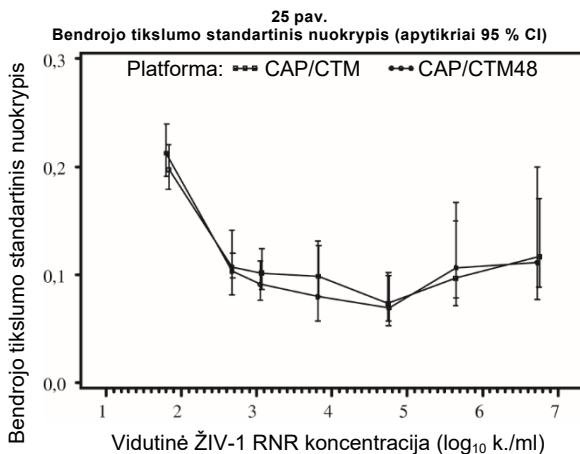
Tyrimų skalės tyrimų ŽIV-1 RNR koncentracijos ( $\log_{10}$  k./ml)  
bendrojo nuokrypio, bendrojo standartinio nuokrypio tikslumo  
ir lognormaliojo variacijos koeficiento procentai

| ŽIV-1 RNR koncentracija<br>( $\log_{10}$ k./ml) |                           |                                            | Poveikis bendrajam nuokrypiui (%) |                         |                  |                           |             | Bendrasis<br>tikslumas                                                       |
|-------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|------------------|---------------------------|-------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Numatyta                                        | Užfiksuota<br>(vidutinis) | Tinkamų<br>tyrimų<br>skaičius <sup>1</sup> | Partija                           | Vieta /<br>Instrumentas | Opera-<br>torius | Diena/<br>Palei-<br>dimas | Paleidžiant | Standartinis<br>nuokrypis<br>(lognormalusis<br>variacijos<br>koeficientas %) |
| 1,699                                           | 1,804                     | 266                                        | 7 %                               | 2 %                     | 0 %              | 2 %                       | 89 %        | 0,21 (52 %)                                                                  |
| 2,602                                           | 2,672                     | 273                                        | 26 %                              | 0 %                     | 2 %              | 5 %                       | 68 %        | 0,10 (24 %)                                                                  |
| 3,000                                           | 3,048                     | 272                                        | 17 %                              | 0 %                     | 0 %              | 6 %                       | 77 %        | 0,09 (21 %)                                                                  |
| 3,699                                           | 3,814                     | 271                                        | 39 %                              | 0 %                     | 2 %              | 13 %                      | 46 %        | 0,08 (19 %)                                                                  |
| 4,699                                           | 4,756                     | 272                                        | 30 %                              | 0 %                     | 0 %              | 10 %                      | 61 %        | 0,07 (16 %)                                                                  |
| 5,699                                           | 5,647                     | 272                                        | 35 %                              | 0 %                     | 6 %              | 16 %                      | 43 %        | 0,11 (25 %)                                                                  |
| 6,699                                           | 6,727                     | 269                                        | 45 %                              | 0 %                     | 4 %              | 13 %                      | 38 %        | 0,11 (26 %)                                                                  |

Pastaba: kai tyrimo skalės rezultatai yra nuo 20 k./ml iki 1,00E+07 k./ml (nuo 1,30  $\log_{10}$  k./ml iki 7,00  $\log_{10}$  k./ml) imtinai.

<sup>1</sup> Tyrimų skaičius tyrimo skalėje.

25 pav. pavaizduoti rezultatai yra bendrojo tikslumo standartinio nuokrypio su atitinkamais 95 % patikimumo intervalais ir vidutinės  $\log_{10}$  ŽIV-1 RNR koncentracijos santykio diagrama. Šie rezultatai yra COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® (CAP/CTM) ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® 48 (CAP/CTM48) sistemų konfigūracijų tikslumo palyginimas.



**Pastaba:** bendrojo tikslumo standartinio nuokrypio 95 % CI apskaičiuotas ištraukus kvadratinę šaknį iš 95 % CI bendrojo tikslumo nuokrypio ribų.

## Klinikinis jautrumas, specifiškumas ir metodų palyginimas

### Metodologija

Pagrindinis šio tyrimo tikslas buvo įvertinti COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) klinikinį specifiškumą ir jautrumą tiriant ŽIV neturinčių ir ŽIV-1 turinčių asmenų mėginius. Vertinant ištirti tiek švieži (niekada neužšaldyti), tiek užšaldyti EDTA plazmos mėginiai. Antriniai tikslai buvo palyginti rezultatus ir įvertinti COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir FDA patvirtintų tyrimų, COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test ir COBAS® AMPLICOR HIV-1 MONITOR vTest (v1.5) teigiamų ir neigiamų rezultatų procentinį atitikimą.

Klinikinis specifiškumas įvertintas COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimu ištyrus 148 šviežius (niekada neužšaldytus) mėginius ir 418 užšaldytų mėginių, paimtų iš kraujo donorų, kurie neturi ŽIV-1/2 antikūnų. tyrimo klinikinis jautrumas įvertintas COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimu ištyrus 117 šviežių mėginių ir 301 užšaldytą mėginį EDTA plazmoje, paimtus iš ŽIV-1 užkrėstų asmenų (užšaldyti mėginiai buvo atsiųsti paskirstyti tyrimų vietoms pagal CD4 ląstelių skaičiaus kategoriją). COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatai, palyginti su COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 ir COBAS® AMPLICOR HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimų. Tyrimas buvo atliktas 3 vietose, naudojant po 1 COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® sistemą. Buvo naudojamos trys COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo reagentų partijos.

### Statistiniai metodai

Švieži ir užšaldyti ŽIV neturinčių ir ŽIV-1 turinčių asmenų mėginiai ištirti naudojant COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0), COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test ir COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5). ŽIV neigiamą turintys asmenys tiko COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo specifiškumo statistinei analizei, jei pateikė tinkamus COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatus. ŽIV-1 teigiamą turintys asmenys tiko COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo jautrumo statistinei analizei, jei pateikė tinkamus COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatus ir jų COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimo rezultatai buvo tinkami tyrimo linijinėje skalėje.

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) klinikinis specifiškumas įvertintas apskaičiavus procentinę dalį ŽIV neturinčių asmenų, kurių COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) rezultatas buvo „Target Not Detected“ (tikslinis signalas neaptiktas). Taip pat nurodytas susietas 95 % tikslumo patikimumo intervalas (CI). COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo klinikinis jautrumas apskaičiuotas kaip procentinė dalis ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų, kurių ŽIV-1 virusų kiekį aptiko COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimas. Taip pat nurodytas susietas 95 % tikslumo patikimumo intervalas (CI). Lyginant metodus, COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatai įvertinti atskirai, naudojant abi lyginamąsias platformas (COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 ir COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimų). Apskaičiuotas COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo ir kiekvienos lyginamosios platformos teigiamų ir neigiamų rezultatų procentinis atitikimas. ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų suporuoti mėginiai, lemiantys COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimų linijinės skalės rezultatus, palyginti naudojant taškinės diagramas ir išanalizuoti naudojant Demingo regresinę analizę.

### Rezultatai

Iš viso 566 ŽIV neigiamą turinčių asmenų ir 418 ŽIV-1 teigiamą turinčių pacientų mėginiai buvo įtraukti į klinikinio specifiškumo ir jautrumo analizes. Maždaug 75 % pacientų mėginių buvo užšaldyti, o 25 % buvo švieži. Specifinis pasiskirstymas kiekvienoje platformoje apibendrintas 14 lentelė.

**14 lentelė**  
**Ivertinti ŽIV-1 turintys ir neturintys asmenys pagal mėginių tipus**

| Mėginio tipas  | Mėginiai be ŽIV | Mėginiai su ŽIV-1 |
|----------------|-----------------|-------------------|
| Šviežias       | 148 (26,1 %)    | 117 (28,0 %)      |
| Užšaldytas     | 418 (73,9 %)    | 301 (72,0 %)      |
| <b>Iš viso</b> | <b>566</b>      | <b>418</b>        |

418 tinkamų mėginių su ŽIV-1 demografinės charakteristikos apibendrintos 15 lentelė. Asmenų CD4 ląstelių skaičiai pasiskirstė beveik tolygiai skirtingose CD4 ląstelių skaičių kategorijose (< 200, 200–500, > 500 ląst./μl). Dauguma asmenų buvo 30–49 metų amžiaus (72,5 %) vyrai (74,2 %). Pasiskirstymas pagal etninę grupę panašus į JAV ŽIV-1 populiacijos<sup>32</sup>.

**15 lentelė**  
**ŽIV-1 turinčių asmenų demografinės charakteristikos**

| Demografinė charakteristika                | Kategorija                      | ŽIV-1 turintys asmenys |
|--------------------------------------------|---------------------------------|------------------------|
| <b>Bendra</b>                              | Iš viso                         | 418                    |
| <b>CD4 ląstelių skaičius (ląst./μl)</b>    | < 200                           | 130 (31,1 %)           |
|                                            | 200–500                         | 152 (36,4 %)           |
|                                            | > 500                           | 136 (32,5 %)           |
| <b>Mėginio tipas</b>                       | Šviežias                        | 117 (28,0 %)           |
|                                            | Užšaldytas                      | 301 (72,0 %)           |
| <b>Lytis</b>                               | Vyras                           | 310 (74,2 %)           |
|                                            | Moteris                         | 108 (25,8 %)           |
| <b>Amžius (metais)</b>                     | 18-29                           | 23 (5,5 %)             |
|                                            | 30-39                           | 100 (23,9 %)           |
|                                            | 40-49                           | 203 (48,6 %)           |
|                                            | 50-59                           | 74 (17,7 %)            |
|                                            | ≥ 60                            | 18 (4,3 %)             |
| <b>Etninė grupė</b>                        | Kaukazo                         | 129 (30,9 %)           |
|                                            | Ispanų                          | 46 (11,0 %)            |
|                                            | Juodaodžių                      | 223 (53,3 %)           |
|                                            | Azijos / Ramiojo vandenyno salų | 3 (0,7 %)              |
|                                            | Kita                            | 17 (4,1 %)             |
| <b>Vartoja antiretrovirusinius vaistus</b> | Taip                            | 240 (57,4 %)           |
|                                            | Ne                              | 178 (42,6 %)           |

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) (16 lentelė) klininis specifiškumas buvo 99,3 % (562/566; 95 % CI = nuo 98,2 % iki 99,8 %), nes 4 mėginiai klasifikuoti kaip klaidingai teigiami. Trijuose iš šių mėginių nustatyta < 20 k./ml, t. y. mažiau nei tyrimo apatinė kiekybinė riba (LLOQ). Vienas mėginys iš 566 ištirtų atitiko linijinės skalės ribas, tačiau jo titras buvo labai mažas (28,8 k./ml). COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo klininis specifiškumas buvo panašus tiriant tiek šviežius (99,3 % [147/148; 95% CI = nuo 96,3 % iki 100 %]), tiek užšaldytus (99,3 % [415/418; 95 % CI = nuo 97,9 % iki 99,9 %]) mėginius.

**16 lentelė**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) klininis specifiškumas**

| Asmenų grupė  | CAP/CTM HIV-1 v2.0 tyrimas |              | Bendras skaičius | Klininis specifiškumas (95 % tikslumo CI) |
|---------------|----------------------------|--------------|------------------|-------------------------------------------|
|               | Teigiamas                  | Neigiamas    |                  |                                           |
| <b>Be ŽIV</b> | 4 (0,7 %)                  | 562 (99,3 %) | 566              | 99,3 % (98,2 %; 99,8 %)                   |

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) klininis jautrumas įvertintas apskaičiavus procentinę dalį ŽIV-1 turinčių asmenų, kurių COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) rezultatai teigiami ir yra apibendrinti 17 lentelė. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo klininis jautrumas buvo 100 % (418/418; 95 % CI = nuo 99,1 % iki 100 %). COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatai nebuvo klaidingai neigiami nė vieno asmens. Klininis jautrumas buvo ištirtas ŽIV pacientų populiacijoje, kuri panaši į JAV populiaciją pagal lytį, amžių, etnines grupes ir antiretrovirusinio gydymo taikymą<sup>29</sup>. Tyrimu nustatytas 100 % klininis jautrumas, nepriklausantis nuo minėtų demografinių charakteristikų, CD4 ląstelių skaičiaus arba mėginių tipo (švieži arba užšaldyti).

**17 lentelė**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) klininis jautrumas**

| Asmenų grupė    | CAP/CTM HIV-1 v2.0 tyrimas |           | Bendras skaičius | Klininis jautrumas (95 % tikslumo CI) |
|-----------------|----------------------------|-----------|------------------|---------------------------------------|
|                 | Teigiamas                  | Neigiamas |                  |                                       |
| <b>Su ŽIV-1</b> | 418 (100,0 %)              | 0 (0,0 %) | 418              | 100,0 % (99,1 %; 100,0 %)             |

### Klininis metodų palyginimas

#### COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test

Analizei COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test palyginti buvo ištirta 950 analizei tinkamų asmenų, o apibendrinti rezultatai pateikti 18 lentelė. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimų teigiamų rezultatų procentinis atitikimas buvo 99,5 % (427/429; 95 % CI = nuo 98,3 % iki 99,9 %). COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimų neigiamų rezultatų procentinis atitikimas buvo 98,1 % (511/521; 95 % CI = nuo 96,5 % iki 99,1 %). Buvo 10 mėginių, kurių COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatai buvo teigiami, o COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimo – neigiami. Trijų mėginių titrai nesiekė COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimo LLOQ ir tikriausiai parodė didesnį COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo jautrumą. Trijų asmenų, kurių ŽIV neigiamas, identifikuoti kaip klaidingai teigiami ir jų rezultatas nesiekė LLOQ, atliekant klininio specifiškumo analizę COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimu. Keturių mėginių titrai buvo 24,9–158 k./ml. Tikriausiai taip yra dėl žinomo kintamumo, susijusio su žemu titrų kiekiu.

**18 lentelė**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**  
**ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test palyginimas**

| CAP/CTM HIV-1 v2.0 tyrimas                                 | CAP/CTM HIV-1 tyrimas      |                            | Iš viso |
|------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------|
|                                                            | Teigiamas                  | Neigiamas                  |         |
| Teigiamas                                                  | 427                        | 10                         | 437     |
| Neigiamas                                                  | 2                          | 511                        | 513     |
| Iš viso                                                    | 429                        | 521                        | 950     |
| Teigiamų mėginių procentinis atitikimas (95 % tikslumo CI) | 99,5 %<br>(98,3 %; 99,9 %) |                            |         |
| Neigiamų mėginių procentinis atitikimas (95 % tikslumo CI) |                            | 98,1 %<br>(96,5 %; 99,1 %) |         |

CI = patikimumo intervalas; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test (v2.0) = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0).

Pastaba: ŽIV neigiamą ir ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų, lemiančių tinkamus CAP/CTM HIV-1 v2.0 ir CAP/CTM HIV-1 tyrimų rezultatus, duomenys apibendrinti šioje lentelėje.

Iš viso 417 suporuotų ŽIV-1 teigiamų mėginių rezultatai neperžengė abiejų tyrimų linijinės skalės ribų ir buvo tinkami metodų palyginimo analizei. 19 lentelėje nurodytas COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimų paklaidų vidutinis porinis skirtumas ir 95 % CI. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) rodo didesnius titrus nei COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, išskyrus didesnį ( $> 5 \log_{10}$  cp/ml) ir mažesnį ( $< 2 \log_{10}$  cp/ml) intervalus, kuriuose juo gaunami mažesni titrai (žr. 19 lentelę). Bendra sistemos paklaida yra  $0,2591 \log_{10}$  k./ml.

**19 lentelė**  
**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0)**  
**ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test paklaidų**  
**vidutinis porinis skirtumas ir 95 % CI**

| Suporuotų ŽIV-1 teigiamų mėginių skaičius abiejų tyrimų linijinėje skalėje = 417 |                      |                |
|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------|----------------|
| Vidutinis skirtumas ( $\log_{10}$ k./ml)                                         | Standartinė paklaida | 95 % CI        |
| 0,2591                                                                           | 0,0122               | (0,235; 0,283) |

CI = patikimumo intervalas; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test (v2.0) = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0).

Pastaba: ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų, lemiančių tinkamus CAP/CTM HIV-1 ir CAP/CTM HIV-1 v2.0 tyrimų rezultatus, kurie neperžengia abiejų tyrimų linijinės skalės ribų, duomenys apibendrinti šioje lentelėje.

Suporuotų ŽIV-1 teigiamų mėginių COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test rezultatai, atitinkantys abiejų tyrimų linijinės skalės ribas, pateikiami 20 lentelė ir grafiškai pavaizduoti 26 pav. (šiam pav. punktyrinė linija žymi visišką abiejų tyrimo metodų sutapimą, pvz.,  $y = x$ ).

20 lentelė

Parametrų įvertinimai iš Demingo regresijos analizės tarp COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test

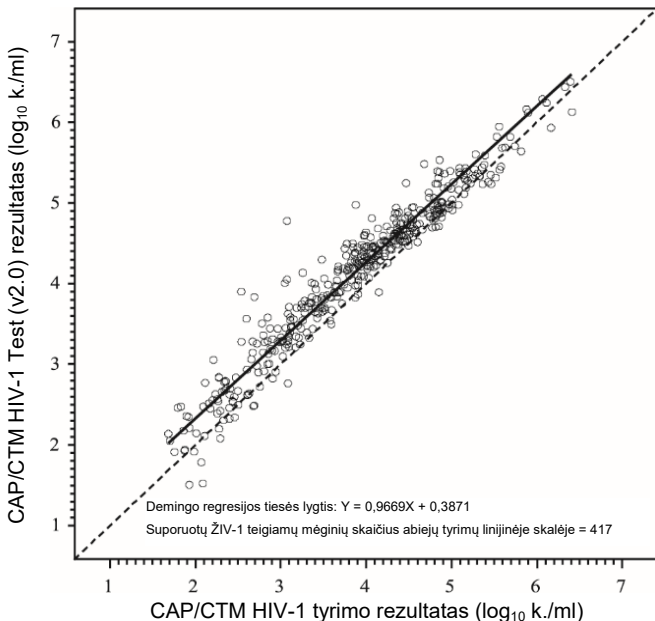
| Suporuotų ŽIV-1 teigiamų mėginių skaičius abiejų tyrimų linijinėje skalėje = 417 |                                            |                         |                |        |
|----------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------|----------------|--------|
| Parametras                                                                       | Parametro įvertinimas<br>$\log_{10}$ k./ml | Standartinė<br>paklaida | 95 % CI        | $r^2$  |
| Atkarpa                                                                          | 0,3871                                     | 0,0488                  | (0,291; 0,483) | 0,9375 |
| Nuolydis                                                                         | 0,9669                                     | 0,0122                  | (0,943; 0,991) |        |

CI = patikimumo intervalas; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test (v2.0) = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0).

Pastaba: ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų, lemiančių tinkamus CAP/CTM HIV-1 ir CAP/CTM HIV-1 v2.0 tyrimų rezultatus, kurie neperžengia abiejų tyrimų linijinės skalės ribų, duomenys apibendrinti šioje lentelėje.

26 pav.

Demingo regresijos analizė tarp COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test



**COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5)**

21 lentelė pateiktas COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0) ir CA HIV-1 MONITOR Test (v1.5) rezultatų palyginimas; tyrime dalyvavo 991 analizei tinkamas asmuo. COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AMPLICOR® (CA) HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimų teigiamų rezultatų procentinis atitikimas buvo 100 % (419/419; 95 % CI = nuo 99,1 % iki 100 %). COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimų neigiamų rezultatų procentinis atitikimas buvo 97,4 % (557/572; 95 % CI = nuo 95,7 % iki 98,5 %). Iš 15 asmenų, kurių COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatai buvo teigiami, o COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimo – neigiami, 4 buvo COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo klaidingai teigiami rezultatai, gauti iš atliekant klinikinio specifiškumo analizę identifikuotų ŽIV neigiamą turinčių asmenų ir nesiekiantys LLoQ. Vienuolika buvo ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų, kurių COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 tyrimo rezultatai buvo nuo nesiekiančių LLoQ iki 223 k./ml, o COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 rezultatai buvo neigiami.

**21 lentelė**  
**CAP/CTM HIV-1 Test (v2.0) palyginimas**  
**su COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR Test (v1.5)**

| CAP/CTM HIV-1 v2.0 tyrimas                                 | CA HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimas |                            | Iš viso |
|------------------------------------------------------------|-------------------------------|----------------------------|---------|
|                                                            | Teigiamas                     | Neigiamas                  |         |
| Teigiamas                                                  | 419                           | 15                         | 434     |
| Neigiamas                                                  | 0                             | 557                        | 557     |
| Iš viso                                                    | 419                           | 572                        | 991     |
| Teigiamų mėginių procentinis atitikimas (95 % tikslumo CI) | 100,0 %<br>(99,1 %; 100,0 %)  |                            |         |
| Neigiamų mėginių procentinis atitikimas (95 % tikslumo CI) |                               | 97,4 %<br>(95,7 %; 98,5 %) |         |

CI = patikimumo intervalas; CAP/CTM HIV-1 Test = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test; CAP/CTM HIV-1 Test (v2.0) = COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test (v2.0).

Pastaba: ŽIV neigiamą ir ŽIV-1 teigiamą turinčių asmenų, lemiančių tinkamus CAP/CTM HIV-1 v2.0 ir CA HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimų rezultatus, duomenys apibendrinti šioje lentelėje.

## Išvados

### EDTA plazma

COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 tyrimų kiekybinių rezultatų atitikimo lygis ( $r^2 = 0,9375$ ) ir sutapimo lygis (teigiamų procentinis atitikimas = 99,5 %; neigiamų procentinis atitikimas = 98,1 %) pakankamai aukšti. Testu tiriami 0,2591 log<sub>10</sub> cp/ml didesnės koncentracijos klinikiniai mėginiai negu COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, tačiau tyrimo galimybės mažesnės didesniame (> 5 log<sub>10</sub> cp/ml) ir mažesniame (< 2 log<sub>10</sub> cp/ml) intervaluose.

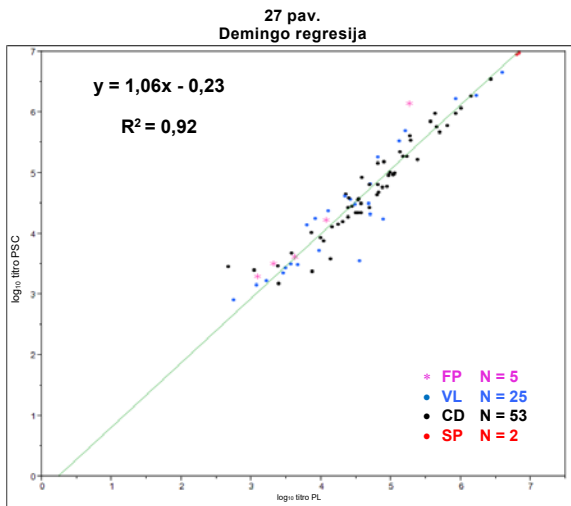
COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 ir COBAS® AMPLICOR® HIV-1 MONITOR v1.5 tyrimų sutapimo lygis (teigiamų procentinis atitikimas = 100,0 %; neigiamų procentinis atitikimas = 97,4 %) pakankamai aukštas.

Šie tyrimų rezultatai įrodo, kad naudojant tyrimą galima įvertinti ligos eigą ir stebėti ŽIV-1 užsikrėtusių pacientų antiretrovirusinį gydymą.

# PSC sausos plazmos lašo mėginių eksploatacinės savybės, palyginti su EDTA plazmos mėginiais

PSC sausos plazmos lašo mėginių eksploatacinės savybės buvo lyginamos su centrifuguotų EDTA plazmos mėginių eksploatacinėmis savybėmis, ištyrus 325 mėginių iš pacientų, infekuotų ŽIV-1, ir 2 ŽIV neturinčių pacientų neapdoroto kraujo su ląstelių kultūros supematantų priedais. Išanalizuota 85 mėginių su išmatuojamais plazmos ir PSC titrais. Mėginius sudarė ŽIV-1 M mėginiai (FP = numatomas ėmimas punktuojant veną ir iš kapiliarinio kraujo; VL = įprastas virusų kiekio tyrimas; CD = CD4 + ląstelių skaičiaus likučių mėginiai; SP = mėginių priedas), jie buvo ištirti po vieną egzempliorių kiekvienas (PSC ir plazma) kitose laboratorijose. Titrai, neatitinkantys kiekybinės analizės skalės ribų, nebuvo įtraukti į analizę. Demingo regresija buvo atlikta, atsižvelgiant į logaritmuojant transformuotus titrus.

Demingo regresijos rezultatai pateikti 27 pav.. Simboliai \* ir • 27 pav. rodo nustatytus pavienius atvejus.



**22 lentelė**  
**Matricos lygiavertiškumo rezultatų santrauka**

| Matricos<br>(plazmos tipo)<br>lygiavertiškumas | Mėginių su<br>tinkamu<br>titru<br>skaičius | Blando ir Altmano analizė                   |                            | Demingo regresijos analizė |         |                      |
|------------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------|----------------------------|---------|----------------------|
|                                                |                                            | Vidutinis<br>log <sub>10</sub><br>skirtumas | 95 % CI<br>[apat./viršut.] | Nuolydis                   | Atkarpa | Kvadratinė<br>šaknis |
| PSC lyginant skysta<br>plazma                  | 85                                         | 0,05                                        | [-0,01; 0,11]              | 1,06                       | -0,23   | 0,92                 |

# LITERATŪROS SĄRAŠAS

1. Barre-Sinoussi, F., Chermann, J.C., Rey, F., Nugeyre, M.T., Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C., Axler-Blin, C., Vezinet-Brun, F., Rouzioux, C., Rozenbaum, W., Montagnier, L. 1983. Isolation of a Tlymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**:868-871.
2. Popovic, M., Sarngadharan, M.G., Read, E., Gallo, R.C. 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., Salahuddin, S.Z., Popovic, M., Shearer, G.M., Kaplan, M., Haynes, B.F., Palker, T.J., Redfield, R., Oleske, J., Safai, B., White, G., Foster, P., Markham, P.D. 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500-503.
4. Curran, J.W., Jaffe, H.W., Hardy, A.M., Morgan, W.M., Selik, R.M., Dondero, T.J. 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610-616.
5. Gaines, H., von Sydow, M.A., von Stedingk, L.V. 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995-999.
6. Tindall, B., and Cooper, D.A. 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1-14.
7. Daar, E.S., Moudgil, T, Meyer. R.D., Ho, D.D. 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New England Journal of Medicine* **324**:961-964.
8. Clark, S.J., Saag, M.S., Decker, W.D. 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New England Journal of Medicine* **324**:954-960.
9. Albert J., Abrahamsson B., Nagy K., Aurelius E., Gaines H., Nystrom G., Fenyo E.M. 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.
10. Horsburgh, C.R. Jr., Ou, C.Y., Jason, J., Holmberg, S.D., Longini, I.M. Jr., Schable, C., Mayer, K.H., Lifson, A.R., Schochetman, G., Ward, J.W, et al. 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637-640.
11. Schnittman, S.M., Psallidopoulos, M.C., Lane, H.C., Thompson, L., Baseler, M., Massari, F., Fox, C.H., Salzman, N.P., Fauci, A.S. 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.
12. Schnittman, S.M., Greenhouse, J.J., Psallidopoulos, M.C., Baseler, M., Salzman, N.P., Fauci, A.S., Lane, H.C. 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Annals of Internal Medicine* **113**:438-443.
13. Pantaleo, G., Graziosi, C., Fauci, A.S. 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *New England Journal of Medicine* **328**:327-335.
14. Piatak, M. Jr., Saag, M.S., Yang, L.C., Clark, S.J., Kappes, J.C., Luk, K.C., Hahn, B.H., Shaw, G.M., Lifson, J.D. 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749-1754.
15. Fauci, A.S., Schnittman, S.M., Poli, G., Koenig, S., Pantaleo, G. 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Annals of Internal Medicine* **114**:678-693.
16. Coffin, J.M. 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: Implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483-489.

17. Ho, D.D., Neumann, A.U., Perelson, A.S., Chen, W., Leonard, J.M., Markowitz, M. 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123-126.
18. Wei, X., Ghosh, S.K., Taylor, M.E., Johnson, V.A., Emini, E.A., Deutsch, P., Lifson, J.D., Bonhoeffer, S., Nowak, M.A., Hahn, B.H., et al. 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117-122.
19. O'Brien, W.A., Hartigan, P.M., Martin, D., Esinhart, J., Hill, A., Benoit, S., Rubin, M., Simberkoff, M.S., Hamilton, J.D. 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. *New England Journal of Medicine* **334**:426-431.
20. Welles, S.L., Jackson, J.B., Yen-Lieberman, B., Demeter, L., Japour, A.J., Smeaton, L.M., Johnson, V.A., Kuritzkes, D.R., D'Aquila, R.T., Reichelderfer, P.A., Richman, D.D., Reichman, R., Fischl, M., Dolin, R., Coombs, R.W., Kahn, J.O., McLaren, C., Todd, J., Kwok, S., Crumpacker, C.S. 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. *Journal of Infectious Diseases* **174**:696-703.
21. Coombs, R.W., Welles, S.L., Hooper, C., Reichelderfer, P.S., D'Aquila, R.T., Japour, A.J., Johnson, V.A., Kuritzkes, D.R., Richman, D.D., Kwok, S., Todd, J., Jackson, J.B., DeGruttola, V., Crumpacker, C.S., Kahn, J. 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *Journal of Infectious Diseases* **174**:704-712.
22. Hammer, S., Crumpacker, C., D'Aquila, R., Jackson, B., Lathey, J., Livan, D., Reichelderfer, P. 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *Journal of Clinical Microbiology* **31**:2557-2564.
23. Schochetman, G., George, J.R., ed. AIDS testing: a comprehensive guide to technical, medical, social, legal and management issues. 2nd ed. New York: Springer-Verlag, 1994.
24. Mulder, J., McKinney, N., Christopherson, C., Sninsky, J., Greenfield, L., Kwok, S. 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: Application to acute retroviral infection. *Journal of Clinical Microbiology* **32**:292-300.
25. Dewar, R.L., Highbarger, H.C., Sarmiento, M.D., Todd, J.A., Vasudevachari, M.B., Davey, R.T. Jr., Kovacs, J.A., Salzman, N.P., Lane, H.C., Urdea, M.S. 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *Journal of Infectious Diseases* **170**:1172-1179.
26. van Gemen, B., Kievits, T., Schukink, R., van Strijp, D., Malek, L.T., Sooknanan, R., Huisman, H.G., Lens, P. 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *Journal of Virological Methods* **43**:177-187.
27. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection – Recommendations for a public health approach. World Health Organization HIV/AIDS Programme, Geneva. 2016.
28. Saiki, R.K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K.B., Horn, G.T., Erlich, H.A., Arnheim, N. 1985. Enzymatic amplification of b-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of Sickle Cell Anemia. *Science* **230**:1350-1354.
29. Saiki, R.K., Gelfand, D.H., Stoffel, S., Scharf, S.J., Higuchi, R., Horn, G.T., Mullis, K.B., Erlich, H.A. 1988. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* **239**:487-491.
30. Mullis, K.B., Faloona, F.A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods in Enzymology* **155**:335-350.

31. Q. Meng, C. Wong, A. Rangachari, S. Tamatsukuri, M. Sasaki, E. Fiss, L. Cheng, T. Ramankutty, D. Clarke, H. Yawata, Y. Sakakura, T. Hirose, and C. Impraim. 2001. Automated Multiplex Assay System for Simultaneous Detection of Hepatitis B Virus DNA, Hepatitis C Virus RNA, and Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA. *Journal of Clinical Microbiology* **39** (8):2937-2945.
32. Smith, E.S., Li, A.K., Wang, A.M., Gelfand, D.H., Myers, T.M. 2003. Amplification of RNA: High-Temperature Reverse Transcription and DNA Amplification with a Magnesium-Activated Thermostable DNA Polymerase. In *PCR Primer: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Dieffenbach C.W. and Dveksler G.S., Eds. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, pp. 211-219.
33. Kwok, S., Sninsky, J.J. 1993. PCR detection of human immunodeficiency virus type 1 proviral DNA sequences. In: *Diagnostic Molecular Biology: Principles and Applications*. eds. Persing, D.H., Smith, T.F., Smith, F.C., et al. ASM, Washington, D.C.
34. Longo, M.C., Berninger, M.S., Hartley, J.L. 1990. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene* **93**:125-128.
35. Higuchi, R., Dollinger, G., Walsh, P.S., Griffith, R. 1992. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. **10**:413-417.
36. Heid, C.A., Stevens, J., Livak, J.K., Williams, P.M. 1996. Real time quantitative PCR. *Genome Research* **6**:986-994.
37. Holmes, H., Davis, C., Heath, A., Hewlett, I. and Lelie, N. 2001. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *Journal of Virological Methods* **92**:141-150.
38. Richmond, J.Y. and McKinney, R.W. eds. 1999. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. HHS Publication Number (CDC) 93-8395.
39. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections. Approved Guideline-Third Edition. CLSI Document M29-A3 Wayne, PA:CLSI, 2005.
40. International Air Transport Association. Dangerous Goods Regulations, 41st Edition. 2000. 704 pp.
41. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, Gao F, Hahn BH, Kalish ML, Kuiken C, Learn GH, Leitner T, McCutchan F, Osmanov S, Peeters M, Pieniazek D, Salminen M, Sharp PM, Wolinsky S, and Korber B: HIV-1 Nomenclature proposal: A reference guide to HIV-1 classification. In: *Human Retroviruses and AIDS 1999: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences* (Kuiken C, Foley B, Hahn B, Korber B, McCutchan F, Marx PA, Mellors JW, Mullins JI, Sodroski J, and Wolinsky S, eds.). Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1999, pp. 492-505.
42. Davis, C., Berry, N., Heath, A. and Holmes, H. 2008. An international collaborative study to establish a replacement World Health Organization International Standard for human immunodeficiency virus 1 RNA nucleic acid assays. *Vox Sanguinis* **95**: 218-225.

| Dokumento leidimo informacija |                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Doc Rev. 17.0<br>02/2019      | Atnaujintas notifikuotos įstaigos numeris pagal CE ženklinį.<br>Jei turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą.                                                                                                                                                                          |
| Doc Rev. 18.0<br>09/2019      | Atnaujintas skyrius <b>LAIKYMO IR APDOROJIMO REIKALAVIMAI</b> , nurodant naudotojams prieš naudojimą apžiūrėti produktą, ar nėra išsiliejimo žymių, o jų pastebėjus – produkto nenaudoti.<br>Atnaujintas suderintų simbolių puslapis.<br>Jei turite klausimų, kreipkitės į vietinį Roche atstovą. |



Roche Molecular Systems, Inc.  
1080 US Highway 202 South  
Branchburg, NJ 08876 USA  
[www.roche.com](http://www.roche.com)



Distributed by

Roche Diagnostics (Schweiz) AG  
Industriestrasse 7  
6343 Rotkreuz, Switzerland

Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Strasse 116  
68305 Mannheim, Germany

Roche Diagnostics, SL  
Avda. Generalitat, 171-173  
E-08174 Sant Cugat del Vallès  
Barcelona, Spain

Roche Diagnostica Brasil Ltda.  
Av. Engenheiro Billings, 1729  
Jaguari, Building 10  
05321-010 São Paulo, SP Brazil

Roche Diagnostics  
201, boulevard Armand-Frappier  
H7V 4A2 Laval, Québec, Canada  
(For Technical Assistance call:  
Pour toute assistance technique,  
appeler le: 1-877-273-3433)

Roche Diagnostics  
2, Avenue du Vercors  
38240 Meylan, France

Distributore in Italia:  
Roche Diagnostics S.p.A.  
Viale G. B. Stucchi 110  
20052 Monza, Milano, Italy

Distribuidor em Portugal:  
Roche Sistemas de Diagnósticos Lda.  
Estrada Nacional, 249-1  
2720-413 Amadora, Portugal

## Prekių ženklai ir patentai

Žr. <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

©2019 Roche Molecular Systems, Inc.

09/2019

Doc Rev. 18.0

(05328268001-18ENGL)

05447968001-17



Roche Diagnostics GmbH  
Sandhofer Str. 116  
68305 Mannheim  
Germany



Dabar šie simboliai naudojami Roche PGR diagnostikos produktams žymėti.



Papildoma programinė įranga



*In vitro* diagnostikos medicinos priemonė



Įgaliotasis atstovas  
Europos Bendrijoje



Priskirtos skalės apatinė riba



Brūkšninio kodo duomenų lentelė



Gamintojas



Partijos kodas



Laikyti tamsoje



Biologinė rizika



Yra pakankamai  $<n>$  tyrimų



Katalogo numeris



Temperatūros ribojimas



Žiūrėti naudojimo taisykles



Tyrimo nustatymų laikmena



Rinkinio sudėtis



Priskirtos skalės viršutinė riba



Platintojas



Galiojimo laikas



Skirta tik IVD efektyvumui įvertinti



Visuotinis prekės numeris

**Rx Only**

Taikytina tik JAV: pagal federalinius įstatymus šį prietaisą galima parduoti tik gydytojui arba gydytojo nurodymu.



Pagaminimo data



Šis produktas atitinka Europos direktyvos 98/79/EB dėl *in vitro* diagnostikos medicinos prietaisų reikalavimus.

JAV klientų techninės pagalbos tarnyba 1-800-526-1247