

# HIV Ag Confirmatory Test

ŽIV Ag patvirtinantis tyrimas

REF 12001101 122

2 x 20

cobas®

## Lietuvių

### Paskirtis

Imunologinis in vitro tyrimas, skirtas ŽIV-p24 antigeno buvimo patvirtinimui pakartotinai reaktyviuose ar ribiniuose žmogaus serumo ir plazmos mėginiuose, tirtuose Elecsys HIV Ag tyrimu.

### Santrauka

Nuorodos<sup>1,2,3,4,5,6,7,8,9</sup>

Elecsys HIV Ag Confirmatory Test yra pagrįstas specifinių antikūnų neutralizavimo principu. Polikloniniai ŽIV Ag specifiniai antikūnai prisijungia prie ŽIV-p24 paviršinio antigeno imunodominantinių epitopų ir tokiu būdu blokuoja Elecsys HIV Ag tyrimo naudojamų antikūnų prisijungimo vietas.

### Tyrimo principas

Tyrimo principas pagrįstas mėginių paruošimu naudojant patvirtinantį reagentą ir kontrolinį reagentą bei vėliau atliekant analizės procedūrą su Elecsys HIV Ag tyrimu. Teigiamos kontrolinės medžiagos tyrimas, PreciControl HIV 3, turi būti atliekamas lygiagrečiai tyrimo atlikimo charakteristikų patikrinimui.

### Mėginių paruošimas:

- Pakartotinai reaktyvūs ar ribiniai mėginiai, gauti atlikus Elecsys HIV Ag tyrimą, yra lygiagrečiai apdorojami su patvirtinančiu reagentu ir kontroliniu reagentu, o vėliau inkubuojami. Patvirtinančio reagento anti-ŽIV antikūnų perteklius neutralizuoja visus mėginyje esančius ŽIV Ag. Dėl to, vėliau atliekant Elecsys HIV Ag tyrimą, sumažėja ribinės reikšmės indekso (cutoff index, COI) vertė (mėginio signalas/ribinė reikšmė), lyginant su verte, kuri buvo gauta tiriant mėginį su kontroliniu reagentu, kuris tiriamas lygiagrečiai.

### ŽIV Ag tyrimas:

- 1-oji inkubacija: ŽIV-p24 antigenas, esantis paruoštame mėginyje/kontrolinėje medžiagoje (50 µL), reaguoja su biotinilintu, monokloniniu ŽIV-p24 Ag-spezifiniu antikūnu ir ŽIV-p24 Ag-spezifiniu antikūnu, žymėtu rutenio kompleksu<sup>a)</sup>, susidarant sluoksniuose struktūros kompleksui.
- 2-oji inkubacija: Pridėjus streptavidiną dengtų mikrodalelių, sąveikaujant biotinui ir streptavidinui, kompleksas prisijungia prie kietosios fazės.
- Reakcijos mišinys įsiurbiamas į matavimo kamerą, kurioje ant elektrodo paviršiaus magnetiniu būdu surenkamos mikrodalelės. Nesurištos medžiagos pašalinamos naudojant ProCell/ProCell M. Prie elektrodo prijungus elektros srovę skatinama chemiluminescencinė emisija, kurios dydis išmatuojamas fotodaugintuvu.
- Rezultatai programoje nustatomi automatiškai, palyginant elektrocheminės luminescencijos signalą, gautą iš mėginio reakcijos produkto, su anksčiau kalibravimo metu gautu ribinės (cutoff) reikšmės signalu. Po to rankiniu būdu verifikuojamas tyrimo patikimumas ir interpretuojami rezultatai.

a) Tri(2,2'-bipiridil)rutenio(II)-kompleksas (Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>)

### Reagentai - darbiniai tirpalai

#### HIV Ag Confirmatory Test 1

Patvirtinantis reagentas (juodas dangtelis), 2 buteliukai, kiekviename iš jų po 1.0 mL:

Žmogaus serumas, teigiamas dėl anti-ŽIV antikūnų; neutralizacijos geba (NC) > 90 % (PreciControl HIV 3); konservantas.

#### HIV Ag Confirmatory Test 2

Kontrolinis reagentas (baltas dangtelis), 2 buteliukai, kiekviename iš jų po 1.0 mL:

Žmogaus serumas, anti-ŽIV neigiamas; konservantas.

### Atsargumo priemonės ir įspėjimai

Skirta naudoti in vitro diagnostikai.

Laikykites įprastų atsargumo priemonių, būtinų dirbant su visais laboratorijos reagentais.

Visos atliekos turi būti tvarkomos laikantis vietos reikalavimų.

Saugos duomenų lapas pateikiamas profesionaliems naudotojams paprašius.

Visa iš žmogaus gauta medžiaga turi būti laikoma potencialiai užkrečiama. Neigiamas kontrolinis reagentas (HIV Ag Confirmatory Test 2) pagamintas išimtinai iš donorų kraujo, kuris buvo tiriamas individualiai, ir jame nebuvo aptikta HBsAg bei antikūnų prieš HCV ir ŽIV. Taikyti tyrimo metodai yra

patvirtinti FDA arba jų atitiktis patvirtinta pagal Europos Direktyvos 98/79/EB II priedą A sąrašą.

Serumas, sudėtyje turintis anti-ŽIV, naudojamas patvirtinančiame reagente (HIV Ag Confirmatory Test 1), buvo iširtas dėl hepatito B ir hepatito C infekcijų. Rezultatai buvo neigiami. Serumas su anti-ŽIV buvo inaktyvintas, naudojant β-propiolaktoną ir UV spindulius.

Vis dėlto, kadangi jokiais inaktyvinimo ar tyrimo metodais negalime visiškai atvesti infekcijos galimybių, su medžiaga reikia elgtis taip pat atsargiai, kaip ir su pacientų mėginiais. Kontakto su medžiaga atveju laikykitės atsakingų sveikatos tarnybų nurodymų.<sup>10,11</sup>

Dirbdami su visų rūšių reagentais ir mėginiais (mėginiais, kalibratoriais ir kontrolinėmis medžiagomis) venkite putų susidarymo.

### Reagentų paruošimas

Rinkinio reagentai yra paruošti naudojimui. Vengti užteršimo. Po naudojimo laikykite 2-8 °C temperatūroje.

### Laikymo sąlygos ir stabilumas

Laikyti 2-8 °C temperatūroje.

Stabilumas:	
neatidarius, 2-8 °C temperatūroje	iki nurodytos galiojimo datos
atidarius, 2-8 °C temperatūroje	4 savaitės

### Mėginių surinkimas ir paruošimas

Mėginiai, kurie buvo pakartotinai reaktyvūs Elecsys HIV Ag tyrimu.

Čia taip pat taikomos sąlygos dėl stabilumo ir mėginių surinkimo, kurios buvo aprašytos Elecsys HIV Ag tyrimuose.

### Pateiktos medžiagos

Apie reagentus skaitykite skyriuje „Reagentai - darbiniai tirpalai“.

### Reikalingos (bet nepateikiamos) medžiagos

- REF 1197161122, HIV Ag reagentų rinkinys, skirtas 100 tyrimų (medžiagos, kurių reikia atliekant Elecsys HIV Ag tyrimą, yra išvardintos Elecsys HIV Ag metodo lape)
- Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 arba cobas e analizatorius

### Tyrimas

#### Mėginių paruošimas:

- Teigiami ir ribiniai mėginiai, kurių ribinės reikšmės indeksas  $\geq 0.95$   
200 µL mėginio + 50 µL patvirtinančio reagento  
200 µL mėginio + 50 µL kontrolinio reagento  
Gerai sumaišykite.

Teigiamos kontrolinės medžiagos, PreciControl HIV 3, tyrimas visada turi būti atliekamas lygiagrečiai tyrimo atlikimo charakteristikų patikrinimui.

- Kontrolinė medžiaga  
200 µL PreciControl HIV 3 + 50 µL patvirtinančio reagento  
200 µL PreciControl HIV 3 + 50 µL kontrolinio reagento  
Gerai sumaišykite.

#### Reaguojančių medžiagų inkubacija:

30-120 minučių 15-25 °C temperatūroje arba per naktį 2-8 °C temperatūroje.

#### Elecsys HIV Ag tyrimas:

Paruošti mėginiai yra dedami į mėginių zoną ir registruojami įvedant mėginių identifikacijos duomenis.

Elecsys HIV Ag tyrimas yra atliekamas pagal tyrimo reagentų rinkinio pakuotės lapelyje pateiktas instrukcijas.

### Kalibravimas

Kalibravimo, kalibravimo dažnio ir kalibravimo patikimumo patvirtinimo duomenis žr. Elecsys HIV Ag tyrimo pakuotės lapelyje.

# HIV Ag Confirmatory Test

ŽIV Ag patvirtinantis tyrimas

cobas®

## Kokybės kontrolė

PreciControl HIV 3 visada turi būti atliekami lygiagrečiai su tais mėginiais, kuriems reikia patvirtinimo. Naudojant PreciControl HIV 1 tyrimo patikimumo patvirtinimui reikalingas Elecsys HIV Ag tyrimo ribinės reikšmės indeksas. Patikimumo patvirtinimą atlieka vartotojas.

Elecsys HIV Ag tyrimui taikomos sąlygos, nurodytos pakuotės lapelyje.

## Skaiciavimas

Analizatorius automatiškai apskaičiuoja ribinę reikšmę (cutoff), remdamasis dviejų rinkinyje esančių Elecsys HIV Ag kalibratorių (HIV Ag Cal1, HIV Ag Cal2) matavimais.

Mėginio rezultatas pateikiamas kaip reaktyvus, abejotinas arba nereaktyvus, o taip pat ribinės reikšmės indekso (cutoff index, COI) forma (signal sample/cutoff).

Ribinės reikšmės indeksas yra reikalingas patvirtinančio tyrimo įvertinimui.

## Apribojimai - poveikiai

Elecsys HIV Ag tyrimo duomenys pateikti tyrimo reagentų pakuotės lapelyje, skyriuje „Apribojimai - poveikiai“.

Labai retais atvejais, poveikį darantys veiksniai gali nulemti reaktyvius Elecsys HIV Ag tyrimo rezultatus, kurie nėra patvirtinami atliekant Elecsys HIV Ag Confirmatory Test, nors mėginyje yra nedidelė koncentracija ŽIV-1 p24 antigeno.

Mėginiai, neigiami dėl ŽIV antikūnų, gauti iš asmenų su ŽIV infekcijos požymiais, turi būti tiriami naudojant ŽIV-RNR tyrimus ir/ar tiriant pakartotinius mėginius, jeigu siekiant patvirtinti anksčiau gautus rezultatus Elecsys HIV Ag tyrime buvo nustatyti neigiami ar klaidingai reaktyvūs rezultatai.

Diagnozuojant, rezultatai visada turėtų būti vertinami kartu su paciento anamneze, fizinio ištyrimo duomenimis ir kitais radiniais.

## Rezultatų vertinimas ir interpretavimas

*Tyrimo patikimumo patvirtinimas:*

Prieš vertinimą reikia patvirtinti tyrimo patikimumą. Vertinimas gali būti atliekamas, kai kartu su Elecsys HIV Ag tyrimui keliamomis sąlygomis yra laikomasi ir šių kriterijų:

- PreciControl HIV 3 neutralizacija (N) patvirtinimo reakcijoje turi būti > 90 % kontrolinės reakcijos neutralizacijos:

$$N = \frac{\text{COI kontrolinė reakc. PC HIV3} - \text{COI patvirt. reakc. PC HIV3}}{\text{COI kontrolinė reakc. PC HIV3} - \text{COI PC HIV1 (HIV Ag tyrimas)}} \times 100$$

Jei  $N < 90\%$ , reikia patikrinti tyrimo sąlygas. Kai tinkama, pakartokite tyrimą su šviežiu reagentu.

- Kad mėginio vertinimas būtų patikimas, mėginio su kontroliniu reagentu ribinės reikšmės indeksas turi būti  $\geq 0.9$ .

*Rezultatų vertinimas ir interpretavimas:*

- Neutralizacijos apskaičiavimas - N (%):

$$N = \frac{\text{COI kontr. reakc. mėginio} - \text{COI patvirt. reakc. mėginio}}{\text{COI kontr. reakc. mėginio} - \text{COI PC HIV1 (HIV Ag tyrimas)}} \times 100$$

Norint patvirtinti teigiamą rezultatą, mėginio neutralizacija patvirtinamosios reakcijos metu turi būti > 50 % kontrolinės reakcijos su mėginiu.

Interpretacija:

$N < 50\%$  = neigiamas arba klaidingai reaktyvus

$N > 50\%$  = teigiamas

\* Neparašyto PreciControl HIV 1 ribinės reikšmės indeksas, naudojamas Elecsys HIV Ag tyrimo kokybės kontrolei.

## Specifiniai tyrimo atlikimo duomenys

Reprezentaciniai tyrimo duomenys rankiniu būdu atliekamam mėginių paruošimui prieš tyrimą Elecsys 2010 analizatoriuose yra pateikiami žemiau. Atskirose laboratorijose gauti rezultatai gali skirtis.

## Glaudumas

Rankiniu būdu atliekamo tyrimo etapų tikslumas buvo nustatytas naudojant 3 skirtingų ŽIV Ag koncentracijų serumus (su vienu mėginiu 8-10 kartų ir tiek su kontroliniais, tiek su patvirtinančiais reagentais). Po 30 minučių trukusio inkubacijos laikotarpio 20 °C temperatūroje, paruošti mėginiai buvo

tiriami Elecsys 2010 analizatoriuose su Elecsys reagentais, kalibratoriais ir kontrolinėmis medžiagomis.

Originalaus Elecsys HIV Ag tyrimo rezultatai - be mėginių paruošimo (atkartojamumas,  $n = 8-10$ ):

Mėginys	Vidurkis COI	SD COI	CV %
Žmogaus serumas, neigiamas	0.46	0.04	9.4
Žmogaus serumas, silpnai teigiamas	5.06	0.14	2.8
Žmogaus serumas, teigiamas	58.0	1.56	2.7
PreciControl HIV 3	141	1.31	0.9

Rezultatai po rankinio mėginių paruošimo:

Kontrolinė reakcija			
Mėginys	Vidurkis COI	SD COI	CV %
Žmogaus serumas, neigiamas	0.44	0.03	7.0
Žmogaus serumas, silpnai teigiamas	4.13	0.12	2.9
Žmogaus serumas, teigiamas	31.5	1.22	3.9
PreciControl HIV 3	68.3	0.70	1.0

Rezultatai po rankinio mėginių paruošimo:

Patvirtinamoji reakcija			
Mėginys	Vidurkis COI	SD COI	CV %
Žmogaus serumas, neigiamas	0.42	0.04	8.8
Žmogaus serumas, silpnai teigiamas	0.46	0.03	7.4
Žmogaus serumas, teigiamas	0.64	0.06	9.5
PreciControl HIV 3	0.43	0.02	4.6

## Nuorodos

- “Akte AIDS” Supplement of the MMW to the World AIDS Day 1 Dec. München Med Wschr 1997;139 Suppl 1:1-129.
- Hammer S, Crumpacker C, D'Aquila R, et al. Use of Virologic Assays for Detection of Human Immunodeficiency Virus in Clinical Trials: Recommendation of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. J Clin Microbiol 1993;31(10):2557-2564.
- Chamberland ME, Castro KG, Haverkos HW, et al. Acquired Immunodeficiency Syndrome in the United States: An Analysis of Cases Outside High-Incidence Groups. Ann Intern Med 1984;101(5):617-623.
- Arlevsky NZ, Pollack H, Rigaud M, et al. Shortened survival in infants vertically infected with human immunodeficiency virus with elevated p24 antigenemia. J Pediatr 1995;127(4):538-543.
- Goudsmit J, Lange JM, Krone WJ, et al. Pathogenesis of HIV and its implications for the serodiagnosis and monitoring of antiviral therapy. J Virol Methods 1987;17(1/2):19-34.
- Couroucé AM, Barin F, Maniez M, et al. Effectiveness of assays for antibodies to HIV and p24 antigen to detect very recent HIV infections in blood donors. AIDS 1992;6(12):1548-1550.
- Mulder JW, Lange JMA, de Wolf F, et al. Serum p24 antigen levels in untreated and zidovudine-treated HIV-1 infected subjects. J Med 1990;37:4-10.
- Bowen PA, Lobel SA, Caruana RJ, et al. Transmission of Human Immunodeficiency Virus (HIV) by Transplantation: Clinical Aspects and Time Course Analysis of Viral Antigenemia and Antibody Production. Ann Int Med 1988;108:46-48.
- Schüpbach J, Flepp M, Pontelli D, et al. Heat-mediated immune complex dissociation and enzyme-linked immunosorbent assay signal amplification render p24 antigen detection in plasma as sensitive as HIV-1 RNA detection by polymerase chain reaction. AIDS 1996;10(10):1085-1090.

# HIV Ag Confirmatory Test

ŽIV Ag patvirtinantis tyrimas

cobas®

- 10 Occupational Safety and Health Standards: bloodborne pathogens. (29 CFR Part 1910.1030). Fed. Register.
- 11 Directive 2000/54/EC of the European Parliament and Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work.

Išsamesnės informacijos ieškokite jus dominančio analizatoriaus naudotojo vadove, atitinkamuose pritaikymo aprašuose, produkto informacijoje ir visų reikiamų komponentų pakuočių informaciniuose lapeliuose (jeigu jie prieinami jūsų šalyje).

Šiuose informaciniuose lapeliuose kaip dešimtainės trupmenos skyriklis visada naudojamas taškas, skiriantis sveikąjį skaičių nuo dešimtainės trupmenos skaitmenų. Tūkstančių skyrikliai nenaudojami.

## Simboliai

Roche Diagnostics papildomai naudoja šiuos simbolius ir ženklus, be išvardintų standarte ISO 15223-1.

CONTENT	Rinkinio turinys
SYSTEM	Analizatoriai/instrumentai, su kuriais gali būti naudojami reagentai
REAGENT	Reagentas
CALIBRATOR	Kalibratorius
→	Tūris po atskiedimo arba maišymo
GTIN	Visuotinis prekybos identifikacijos numeris (angl. Global Trade Item Number)

Reikšmingi papildymai ar pakeitimai yra pažymėti pakeitimų juosta parašėje.

© 2014, Roche Diagnostics

CE 0123



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim  
www.roche.com

