

## Instrucțiuni de utilizare

# AltoStar<sup>®</sup> HIV RT-PCR Kit 1.5

07/2024 RO



# AltoStar<sup>®</sup>

## HIV RT-PCR Kit 1.5

Pentru utilizare cu

CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad)



AS0221513



96



07 2024



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg • Germany

## Cuprins

<b>1.</b>	<b>Despre aceste instrucțiuni de utilizare .....</b>	<b>7</b>
<b>2.</b>	<b>Utilizare prevăzută .....</b>	<b>8</b>
<b>3.</b>	<b>Conținutul setului.....</b>	<b>9</b>
<b>4.</b>	<b>Depozitare și manevrare.....</b>	<b>10</b>
4.1	Depozitare .....	10
4.2	Manevrare .....	11
4.2.1	Master A și Master B.....	11
4.2.2	Standardele de cuantificare și No Template Control (Control fără șablon).....	12
<b>5.</b>	<b>Descrierea produsului .....</b>	<b>12</b>
5.1	Informații generale.....	13
5.2	Descrierea componentelor .....	14
5.2.1	Master A și Master B.....	14
5.2.2	Standarde de cuantificare.....	14
5.2.3	No Template Control (Control fără șablon).....	14
5.3	AltoStar® Workflow (flux de lucru).....	15
5.4	Probe .....	16
5.4.1	Tipuri de probe .....	16
5.4.2	Colectarea și manipularea probelor.....	16
<b>6.</b>	<b>Avertismente, măsuri de precauție și limitări.....</b>	<b>17</b>
<b>7.</b>	<b>Utilizarea setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 cu AltoStar® Workflow (flux de lucru) .....</b>	<b>19</b>
7.1	Volumul probei.....	19
7.2	Tuburi pentru probe .....	20
7.3	Codurile de bare ale probelor .....	20

7.4	Materiale și dispozitive necesare, dar care nu sunt furnizate.....	20
7.5	Materiale și dispozitive generale .....	22
7.6	Procedură.....	22
7.6.1	Prezentare generală pentru AltoStar® Workflow (flux de lucru).....	22
7.6.2	Programarea unui ciclu AltoStar® .....	28
7.6.3	Pornirea unui ciclu de configurare PCR .....	28
7.6.3.1	Pregătirea reactivilor pentru un ciclu de configurare PCR .....	29
7.6.3.2	Încărcarea sistemului de automatizare AltoStar® AM16 pentru un ciclu de configurare PCR .....	30
7.6.3.3	În timpul ciclului de configurare PCR .....	33
7.6.4	Sfârșitul ciclului de configurare PCR .....	33
7.6.4.1	Rezultatele ciclului de configurare PCR.....	35
7.6.5	Sigilarea plăcii PCR.....	36
7.6.5.1	Stabilitatea amestecului PCR.....	38
7.6.6	Pornirea unui ciclu PCR .....	38
7.6.6.1	În timpul ciclului PCR .....	39
7.6.6.2	Atribuirea testelor la grupuri de godeuri .....	39
7.6.7	Analiza datelor PCR .....	42
7.6.7.1	Corecție de referință.....	44
7.6.7.2	Excluderea semnalelor PCR neregulate .....	46
7.6.7.3	Setarea pragurilor.....	50
7.6.8	Validitatea rezultatelor PCR.....	54
7.6.8.1	Excluderea godeurilor care conțin date invalide.....	54
7.6.8.2	Validitatea unui ciclu PCR de diagnosticare.....	57
7.6.8.3	Validitatea rezultatelor pentru o probă.....	58
7.6.9	Exportul rezultatelor PCR pentru interpretare automată a rezultatelor.....	59
7.6.10	Exportul rezultatelor PCR pentru interpretarea manuală a rezultatelor.....	60

7.6.10.1	Interpretarea manuală a rezultatelor .....	62
<b>8.</b>	<b>Date de performanță .....</b>	<b>63</b>
8.1	Plasmă.....	64
8.1.1	Sensibilitate analitică .....	64
8.1.2	Specificitate analitică .....	66
8.1.2.1	Probe negative .....	66
8.1.2.2	Substanțe interferente .....	66
8.1.2.3	Reactivitate încrucișată .....	67
8.1.3	Interval liniar .....	68
8.1.4	Precizie.....	69
8.1.5	Rată totală de eșec.....	71
8.1.6	Transfer .....	71
8.1.7	Performanță clinică.....	72
<b>9.</b>	<b>Depozitare.....</b>	<b>74</b>
<b>10.</b>	<b>Controlul calității.....</b>	<b>74</b>
<b>11.</b>	<b>Asistență tehnică .....</b>	<b>75</b>
<b>12.</b>	<b>Literatura de specialitate.....</b>	<b>75</b>
<b>13.</b>	<b>Mărcile comerciale și declinările de răspundere .....</b>	<b>76</b>
<b>14.</b>	<b>Simboluri.....</b>	<b>77</b>
<b>15.</b>	<b>Protocol de testare pentru AltoStar® Connect software și informații pentru integrarea în LIMS .....</b>	<b>79</b>
<b>16.</b>	<b>Istoricul revizuirilor.....</b>	<b>81</b>

## 1. Despre aceste instrucțiuni de utilizare

Aceste instrucțiuni de utilizare ghidează utilizatorul în folosirea setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 pe sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16 (Hamilton; denumit în continuare AltoStar® AM16), împreună cu AltoStar® Connect software (versiunea 1.7.4 sau superioară, Hamilton) pentru configurarea automată a PCR, și pe sistemul CFX96™ Deep Well Dx (Bio-Rad; denumit în continuare CFX96™ DW Dx) împreună cu CFX Manager™ Dx software (versiunea 3.1, Bio-Rad) pentru PCR în timp real. Pentru detalii privind utilizarea sistemului de automatizare AltoStar® AM16, a AltoStar® Connect software, a setului AltoStar® Purification Kit 1.5, a AltoStar® Internal Control 1.5 și a sistemului CFX96™ DW Dx, consultați instrucțiunile de utilizare corespunzătoare enumerate mai jos:

- Manual de utilizare al AltoStar® Automation System AM16 IVD (Hamilton)
- Manual de utilizare al AltoStar® Connect Software IVD (Hamilton)
- Instrucțiuni de utilizare pentru AltoStar® Purification Kit 1.5
- Instrucțiuni de utilizare pentru AltoStar® Internal Control 1.5
- Manual de utilizare pentru sistemele CFX96™ Dx și CFX96™ Deep Well Dx (Bio-Rad)

Pe parcursul acestui manual, termenii ATENȚIE și NOTĂ au următoarele semnificații:

### ATENȚIE



Evidențiază instrucțiuni sau proceduri de operare care, dacă nu sunt urmate corect, pot duce la vătămări corporale sau pot afecta performanța produsului. Contactați asistența tehnică altona Diagnostics pentru ajutor.

### NOTĂ



Informații furnizate utilizatorului care sunt utile, dar nu esențiale, pentru sarcina în cauză.

Citiți cu atenție instrucțiunile de utilizare înainte de a utiliza produsul.

## 2. Utilizare prevăzută

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este un test de diagnostic *in vitro*, bazat pe tehnologia PCR în timp real, pentru detectarea și cuantificarea virusul imunodeficienței umane 1 (HIV-1) specific ARN în plasma EDTA umană. Este configurat pentru utilizare cu CFX96™ Deep Well Dx System (Bio-Rad) în combinație cu sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16, setul AltoStar® Purification Kit 1.5 și AltoStar® Internal Control 1.5.

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este destinat monitorizării încărcăturii virale la persoanele infectate cu HIV.

Rezultatele obținute cu setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 trebuie interpretate împreună cu celelalte rezultate clinice și de laborator.

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este destinat pentru a fi utilizat de către utilizatori profesioniști instruiți în tehnici de biologie moleculară și proceduri de diagnostic *in vitro*.

### 3. Conținutul setului

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 conține următoarele componente:

**Tabelul 1:** Componentele setului

Culoarea capacului	Componentă	Număr de tub	Volum nominal [μl/tub]
Albastru	Master A <sup>1)</sup>	8	240 <sup>2)</sup>
Violet	Master B <sup>1)</sup>	8	300 <sup>3)</sup>
Roșu	QS1 <sup>4)</sup>	2	550
Roșu	QS2 <sup>4)</sup>	2	550
Roșu	QS3 <sup>4)</sup>	2	550
Roșu	QS4 <sup>4)</sup>	2	550
Alb	NTC <sup>5)</sup>	2	550

<sup>1)</sup> Conține material biologic de origine animală

<sup>2)</sup> Conține un volum suplimentar de 40 μl pentru a compensa volumul mort la manipularea lichidelor sistemului de automatizare AltoStar® AM16

<sup>3)</sup> Conține un volum suplimentar de 52 μl pentru a compensa volumul mort la manipularea lichidelor sistemului de automatizare AltoStar® AM16

<sup>4)</sup> Standard de cuantificare (control pozitiv)

<sup>5)</sup> No Template Control (control negativ)

#### ATENȚIE



Înainte de prima utilizare, verificați integritatea produsului și a componentelor sale în ceea ce privește numărul, tipul și nivelul predefinit de umplere. Nu utilizați un produs defect sau incomplet; performanța produsului poate fi afectată.

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 conține suficienți reactivi pentru a efectua 96 reacții într-un număr maxim de 8 de teste.

Produsul este expediat pe gheață carbonică. La primire și înainte de prima utilizare, verificați produsul și componentele acestuia în ceea ce privește:

- Integritate
- Completitudine în ceea ce privește numărul, tipul și nivelul de umplere
- Etichetare corectă
- Data de expirare
- Starea congelată
- Claritate și absența particulelor

Dacă unul sau mai multe componente ale produsului nu sunt congelate la primire sau dacă tuburile au fost deteriorate în timpul transportului sau lipsesc, contactați asistența tehnică Altona Diagnostics pentru ajutor (consultați capitolul 11. Asistență tehnică).

## 4. Depozitare și manevrare

Toți reactivii incluși în setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 sunt soluții gata de utilizare.

### 4.1 Depozitare

Toate componentele setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 trebuie depozitate la temperaturi între -25 °C și -15 °C la primire.

#### ATENȚIE



Condițiile de depozitare necorespunzătoare ar putea compromite performanța produsului.

#### ATENȚIE



Nu utilizați produsele după data de expirare. Utilizarea produselor expirate ar putea compromite performanța produsului.

## 4.2 Manevrare

### ATENȚIE



Nu depășiți durata secvenței de decongelare-congelare și durata de manevrare specificate în aceste instrucțiuni de utilizare, deoarece acest lucru ar putea compromite performanța produsului.

### ATENȚIE



Manevrarea necorespunzătoare a componentelor produsului și a probelor poate cauza contaminarea și ar putea compromite performanța produsului:

- Nu schimbați capacele fiolelor sau ale flacoanelor.
- Depozitați materialele pozitive și/sau potențial pozitive separat de componentele setului.
- Utilizați zone de lucru separate pentru pregătirea probelor/configurarea reacției și pentru activitățile de amplificare/detecție.
- Aruncați întotdeauna mănușile după manevrarea materialelor pozitive și/sau potențial pozitive.
- Nu deschideți plăcile PCR după amplificare.

### ATENȚIE



Nu amestecați componente din loturi diferite ale setului. Utilizarea loturilor diferite poate compromite performanța produsului.

### 4.2.1 Master A și Master B

După decongelare, Master A și Master B sunt stabili timp de 5 ore la temperaturi de până la +30 °C.

### NOTĂ



Dacă Master A și Master B au fost decongelați, dar nu au fost utilizați, pot fi recongelați și decongelați o singură dată pentru cicluri ulterioare. Dacă sunt deschise, aruncați capacele și folosiți capace noi pentru a evita contaminarea reactivilor.

## 4.2.2 Standardele de cuantificare și No Template Control (Control fără șablon)

1. După decongelare, standardele de cuantificare (QS) și No Template Control (Control fără șablon, NTC) sunt stabile timp de 5 ore la temperaturi de până la +30 °C.
2. Aruncați capacele tuburilor QS și NTC la fiecare utilizare și folosiți capace noi pentru a evita contaminarea reactivilor.
3. După utilizare, închideți tuburile QS și NTC cu capace noi și congelați-le imediat.
4. Nu depășiți următoarea secvență de decongelare-congelare pentru fiecare tub QS și NTC: *Decongelare 1* → *Congelare 1* → *Decongelare 2* → *Congelare 2* → *Decongelare 3* → *Congelare 3* → *Decongelare 4*

## 5. Descrierea produsului

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este un test de diagnostic *in vitro* pentru detectarea și cuantificarea HIV-1 specific ARN (grupele M, N și O) în plasma EDTA umană.

Se bazează pe tehnologia RT-PCR în timp real, utilizând reacția de revers transcriptază (RT) pentru a converti ARN-ul în ADN complementar (ADNc), reacția de polimerizare în lanț (PCR) pentru amplificarea secvențelor target de HIV specific și sonde specifice target, marcate fluorescent, pentru detectarea ADN-ului amplificat.

În plus față de sistemul de amplificare și detecție specific HIV ARN, testul include oligonucleotide pentru amplificarea și detecția controlului intern (abreviat în continuare IC; AltoStar® Internal Control 1.5).

Sondele specifice pentru HIV ARN sunt etichetate cu fluoroforul FAM™. Sonda specifică pentru IC este etichetată cu un fluorofor (JOE™) detectabil în canalul VIC™.

Utilizarea sondelor asociate cu coloranți care se pot distinge permite detecția în paralel a HIV specific ARN și a IC în canalele de detecție corespunzătoare ale instrumentului CFX96™ DW Dx.

## 5.1 Informații generale

Virusul imunodeficienței umane (HIV) aparține genului *Lentivirus*, care este un subgrup în cadrul familiei *Retroviridae*. Există două specii descrise de HIV, și anume HIV de tip 1 (HIV-1) și HIV de tip 2 (HIV-2). HIV-1 este tulpina cea mai răspândită, având un genom ARN monocatenar cu sens pozitiv de aproximativ 9,8 kb în lungime [1]. HIV-1 poate fi subdivizat într-un grup major (și anume grupul M) și cel puțin două grupuri minore (și anume grupul N și O). O variabilitate genetică ridicată a genomului reprezintă factorul fundamental în evoluția HIV [2], deși genomul viral codifică un număr redus de gene, ceea ce necesită exploatarea proteinelor celulei gazdă de către virus. HIV pătrunde în celulele imune care exprimă CD4 (CD4+), precum celulele T helper, macrofagele și celulele dendritice [3]. În celulele gazdă CD4+ infectate, genomul ARN viral este convertit în ADN prin revers transcriptază înainte de asamblarea virală.

Din punct de vedere epidemiologic, HIV a cauzat 1,7 milioane (1,4-2,3 milioane) de noi infecții (la toate vârstele) la nivel global în 2018. Deși infecțiile cu HIV sunt diagnosticate la nivel mondial, cea mai mare prevalență se înregistrează în Africa Subsahariană [4]. Transmiterea HIV are loc în principal pe cale sexuală (contact cu sânge, lichid preejaculator, spermă și secreții vaginale), însă infecțiile cu HIV sunt cauzate și de transfuzii de sânge contaminat, reutilizarea acelor de injecție, transmiterea perinatală în timpul sarcinii și alăptare [5].

Pacienții care suferă de o infecție cu HIV pot experimenta o fază acută scurtă cu simptome asemănătoare gripei. Infecțiile netratate duc la sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA), caracterizat prin deteriorarea progresivă a sistemului imunitar [6]. Scăderea numărului de celule imune CD4+ permite răspândirea infecțiilor oportuniste și a tumorilor la pacienții imunocompromiși [3]. Afecțiunile tipice ale SIDA sunt infecțiile tractului respirator, pneumonia cu *Pneumocystis* și cașexia.

Deoarece nu există un tratament curativ pentru infecțiile cu HIV, tratamentul medical al HIV se bazează pe controlul infecției prin terapie antiretrovirală (ART) [5]. Monitorizarea și reducerea încărcăturii virale duc la o afecțiune cronică, prevenind progresia către SIDA [7]. Până în prezent, nu există niciun vaccin disponibil.

## 5.2 Descrierea componentelor

### 5.2.1 Master A și Master B

Master A și Master B conțin toate componentele (buffer PCR, revers transcriptază, ADN polimerază, săruri de magneziu, primeri și sonde) necesare pentru transcrierea inversă, precum și pentru amplificarea mediată de PCR, detectarea target HIV specifice ARN și a IC într-o singură configurație de reacție.

### 5.2.2 Standarde de cuantificare

QS conține concentrații standardizate de HIV specific ARN (consultați tabelul 2). Acestea au fost calibrate în conformitate cu cel de-al 4-lea Standard Internațional al OMS pentru ARN-ul HIV-1 (cod NIBSC: 16/194; subtipul B). QS sunt utilizate pentru a verifica funcționalitatea sistemului de amplificare și detecție a HIV specific ARN, precum și pentru a genera o curbă standard, care permite cuantificarea HIV specific ARN într-o probă.

**Tabelul 2:** Standarde de cuantificare

Standard de cuantificare	Concentrație [UI/μl]
QS1	1,00E+04
QS2	1,00E+03
QS3	1,00E+02
QS4	1,00E+01

#### NOTĂ



Unitatea de măsură a concentrației QS este unitatea internațională (UI). Conversia în copii este posibilă prin utilizarea următorului factor de conversie: 0,42 copii/UI (1 UI = 0,42 copii).

### 5.2.3 No Template Control (Control fără șablon)

NTC nu conține HIV specific ARN dar conține șablonul IC. NTC este utilizat drept control negativ pentru HIV ARN specific în timp real RT-PCR și indică posibila contaminare a Master A și Master B.

### 5.3 AltoStar® Workflow (flux de lucru)

AltoStar® Workflow (flux de lucru) cuprinde următoarele produse IVD:

- Sistem de automatizare AltoStar® Automation System AM16 (Hamilton)
- AltoStar® Connect software versiunea 1.7.4 sau o versiune superioară (Hamilton)
- Sistem CFX96™ Deep Well Dx (Bio-Rad) cu software CFX Manager™ Dx versiunea 3.1 (Bio-Rad)

Fluxul de lucru include următoarele etape:

1. Programarea unui ciclu AltoStar®.
2. Ciclu de purificare pe AltoStar® AM16 utilizând setul AltoStar® Purification Kit 1.5 și AltoStar® Internal Control 1.5.
3. Ciclu de configurare RT-PCR pe sistemul de automatizare AltoStar® AM16 utilizând setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5.
4. Ciclu RT-PCR în timp real executat pe un CFX96™ DW Dx.

Pentru mai multe detalii despre etapele 3 și 4 ale fluxului de lucru, consultați capitolul 7. Utilizarea setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 cu AltoStar® Workflow (flux de lucru). Toate tipurile și volumele probelor specificate pentru utilizarea cu setul AltoStar® Purification Kit 1.5 pot fi prelucrate simultan pe sistemul de automatizare AltoStar® AM16. Fiecare probă poate fi analizată cu atâtea teste PCR în timp real în paralel câte permite eluatul disponibil.

#### NOTĂ



Testele cu profiluri de temperatură PCR diferite sunt sortate automat în plăci PCR separate.

## 5.4 Probe

### 5.4.1 Tipuri de probe

Următoarele tipuri de probe sunt validate pentru utilizarea cu setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5:

- Plasmă EDTA umană

#### ATENȚIE



Nu utilizați alte tipuri de probe! Utilizarea altor tipuri de probe ar putea compromite performanța produsului.

### 5.4.2 Colectarea și manipularea probelor

Sângele trebuie recoltat cu sisteme standard de recoltare a sângelui disponibile în comerț (de exemplu, Sarstedt, Becton Dickinson, Greiner sau echivalente). Conținutul tubului trebuie amestecat imediat după recoltarea probei. Probele de sânge trebuie transportate la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C. Transportul trebuie efectuat în conformitate cu instrucțiunile locale și naționale privind transportul materialului biologic.

Pentru generarea plasmei EDTA, sângele integral trebuie centrifugat în conformitate cu instrucțiunile furnizate de producătorul sistemului de recoltare în termen de 24 de ore de la recoltare. Înainte de utilizare, plasmă EDTA nu trebuie păstrată mai mult de 48 de ore la temperatura camerei (+20 °C până la +25 °C), 5 zile la temperaturi cuprinse între +2 °C și +8 °C sau 2 luni la temperaturi cuprinse între -25 °C și -15 °C.

#### ATENȚIE



Tratați întotdeauna probele ca material infecțios și periculos (biologic), conform procedurilor de siguranță și de laborator. Pentru vărsările de material de probă, utilizați imediat un dezinfectant adecvat. Manevrați materialele contaminate ca fiind periculoase biologic.

**NOTĂ**

Depozitarea probelor în congelator nu afectează performanța setului. Când lucrați cu probe congelate, asigurați-vă că probele sunt complet dezghețate și amestecate corespunzător înainte de utilizare.

## 6. Avertismente, măsuri de precauție și limitări

- Înainte de prima utilizare, verificați integritatea produsului și a componentelor sale în ceea ce privește numărul, tipul și nivelul predefinit de umplere. Nu utilizați un produs defect sau incomplet; performanța produsului poate fi afectată.
- Condițiile de depozitare necorespunzătoare ar putea compromite performanța produsului.
- Nu utilizați produsele după data de expirare. Utilizarea produselor expirate ar putea compromite performanța produsului.
- Nu depășiți durata secvenței de decongelare-congelare și durata de manevrare specificate în aceste instrucțiuni de utilizare, deoarece acest lucru ar putea compromite performanța produsului.
- Manevrarea necorespunzătoare a componentelor produsului și a probelor poate cauza contaminarea și ar putea compromite performanța produsului:
  - Nu schimbați capacele fiolelor sau ale flacoanelor.
  - Depozitați materialele pozitive și/sau potențial pozitive separat de componentele setului.
  - Utilizați zone de lucru separate pentru pregătirea probelor/configurarea reacției și pentru activitățile de amplificare/detecție.
  - Aruncați întotdeauna mănușile după manevrarea materialelor pozitive și/sau potențial pozitive.
  - Nu deschideți plăcile PCR după amplificare.
- Nu amestecați componente din loturi diferite ale setului. Utilizarea de loturi diferite ale setului ar putea compromite performanța produsului.
- Nu utilizați alte tipuri de probe! Utilizarea altor tipuri de probe ar putea compromite performanța produsului.

- Tratați întotdeauna probele ca material infecțios și periculos (biologic), conform procedurilor de siguranță și de laborator. Pentru vărsările de material de probă, utilizați imediat un dezinfectant adecvat. Manevrați materialele contaminate ca fiind periculoase biologic.
- Depozitarea eluațiilor în condiții necorespunzătoare poate duce la degradarea secvenței target de HIV și poate compromite performanța produsului.
- Nu utilizați o versiune a protocolului de testare diferită de cea indicată pe codul de bare 2D din aceste instrucțiuni de utilizare. Utilizarea unei versiuni incorecte a protocolului de testare poate compromite performanța produsului.
- Lipsa centrifugării componentelor produsului după dezghețare poate cauza contaminarea cu reziduuri de reactivi din capace și poate compromite performanța produsului.
- Nu reutilizați capacele tuburilor pentru a evita contaminarea reactivilor, nu reutilizați capacele, deoarece acest lucru ar putea compromite performanța produsului.
- Ca în cazul oricărui test de diagnostic, rezultatele trebuie interpretate ținând cont de toate constatările clinice și de laborator.
- Prezența inhibitorilor PCR (de exemplu, heparina) ar putea determina rezultate fals negative sau invalide.
- Nu depășiți durata de depozitare a amestecului PCR, deoarece acest lucru ar putea compromite performanța produsului.
- În cazul în care proba conține alți agenți patogeni în afară de HIV, poate apărea o competiție cu amplificarea target sau reacții încrucișate, ceea ce poate duce la rezultate incorecte ale examinării IVD.
- Eliminarea deșeurilor periculoase și biologice trebuie să fie conformă cu reglementările locale și naționale, pentru a evita contaminarea mediului.
- Mutațiile potențiale din regiunile target ale genomului de HIV acoperite de primerii și/sau sondele utilizate în set pot duce la subcuantificare și/sau la eșecul detectării prezenței agentului patogen.

## 7. Utilizarea setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 cu AltoStar® Workflow (flux de lucru)

Următoarea parte a acestor instrucțiuni de utilizare descrie utilizarea setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 împreună cu AltoStar® Workflow (flux de lucru). AltoStar® Workflow (flux de lucru) cuprinde diferite produse IVD (sistemul de automatizare AltoStar® AM16, software-ul AltoStar® Connect software, setul AltoStar® Purification Kit 1.5, AltoStar® Internal Control 1.5 și CFX96™ DW Dx). Utilizarea acestor produse este descrisă în detaliu în instrucțiunile de utilizare respective.

- Manual de utilizare al AltoStar® Automation System AM16 IVD (Hamilton)
- Manual de utilizare al AltoStar® Connect Software IVD (Hamilton)
- Instrucțiuni de utilizare pentru AltoStar® Purification Kit 1.5
- Instrucțiuni de utilizare pentru AltoStar® Internal Control 1.5
- Manual de utilizare pentru sistemele CFX96™ Dx și CFX96™ Deep Well Dx (Bio-Rad)

### 7.1 Volumul probei

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este validat pentru purificarea acidului nucleic dintr-un volum de probă de 1.000 µl utilizând sistemul de automatizare AltoStar® AM16. Trebuie furnizat un volum suplimentar de probă pentru a compensa volumul mort al tubului cu probă utilizat (consultați capitolul 7.2 Tuburi pentru probe).

#### NOTĂ



Până la 48 de probe de 1.000 µl pot fi procesate simultan într-un singur ciclu de purificare.

## 7.2 Tuburi pentru probe

Tuburile cu probă adecvate pentru utilizarea cu sistemul de automatizare AltoStar® AM16 pot fi achiziționate de la altona Diagnostics (tub de 7 ml cu capac, 82 x 13 mm, VK000010). Alte tuburi cu probă pot fi testate de utilizator pentru a se verifica aplicabilitatea lor. Pentru detalii, consultați instrucțiunile de utilizare ale setului AltoStar® Purification Kit 1.5.

## 7.3 Codurile de bare ale probelor

Pentru identificarea automată a probelor de către sistemul de automatizare AltoStar® AM16, toate tuburile cu probă trebuie să fie etichetate cu un cod de bare adecvat. Pentru detalii, consultați instrucțiunile de utilizare ale setului AltoStar® Purification Kit 1.5.

## 7.4 Materiale și dispozitive necesare, dar care nu sunt furnizate

Materialele și dispozitivele prezentate în tabelul 3 trebuie comandate de la altona Diagnostics.

**Tabelul 3:** Materiale și dispozitive necesare

Material	Descriere	Nr. de comandă
AltoStar® Molecular Diagnostic Workflow	Pachet de produse care conține sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16, software-ul AltoStar® Connect software (versiunea 1.7.4 sau superioară) și hardware IT	AM16
AltoStar® Detection	Pachet de produse care conține sistemul CFX96™ Deep Well Dx cu software-ul CFX Manager™ Dx (versiunea 3.1), un scanner de coduri de bare și hardware IT	DT16

Material	Descriere	Nr. de comandă
AltoStar® Purification Kit 1.5	Chimie de izolare și purificare a acidului nucleic pentru utilizare împreună cu sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16	PK15-16/ PK15-46
AltoStar® Internal Control 1.5	Extracția acidului nucleic și amplificarea și controlul detecției PCR	IC15-16/ IC15-46
PCR Plate	Placă cu 96 de godeuri, cu cod de bare și semi-manta, cu godeuri albe	VK000005
PCR Plate Sealing Foil	Folie de sigilare pentru placa PCR	VK000006
1,000 µl CO-RE Tips	Vârfuri de filtru de 1.000 µl pentru utilizare cu sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16	VK000007
300 µl CO-RE Tips	Vârfuri de filtru de 300 µl pentru utilizare cu sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16	VK000008
Pooling Tube	Tab cu cod de bare pentru recoltarea reactivilor PCR	VK000002
Waste Bag	Pungă sterilă autoclavabilă pentru utilizare cu sistemul de automatizare AltoStar® Automation System AM16	VK000009
Screw Cap - red	Capac cu filet pentru tuburi QS1-QS4 (roșu)	VK000012
Screw Cap - blue	Capac cu filet pentru tuburi Master A (albastru)	VK000013
Screw Cap - purple	Capac cu filet pentru tuburi Master B (mov)	VK000015
Screw Cap - white	Capac cu filet pentru tuburi NTC (alb)	VK000016

**Tabelul 4:** Material și dispozitive suplimentare de laborator

Material	Descriere	Nr. de comandă
Material de etanșare a plăcilor	de ex., dispozitiv AltoStar® Plate Sealer	VK000023
	de ex., PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	VK000033

## 7.5 Materiale și dispozitive generale

- Agitator vortex
- Mănuși nepudrate (de unică folosință)
- Centrifugă pentru centrifugarea componentelor setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5
- Centrifugă pentru centrifugarea plăcilor PCR

## 7.6 Procedură

### 7.6.1 Prezentare generală pentru AltoStar® Workflow (flux de lucru)

Etapele fluxului de lucru AltoStar® Workflow complet sunt rezumate în tabelul 5. Informații privind setările specifice pentru utilizarea cu setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 sunt furnizate în capitolul 7.6.2 Programarea unui ciclu AltoStar®. Pentru instrucțiuni detaliate privind etapele 1-5, consultați instrucțiunile de utilizare ale setului AltoStar® Purification Kit 1.5, ale AltoStar® Connect software și ale sistemului de automatizare AltoStar® AM16.

Etapele 6-11 sunt descrise mai detaliat în capitolele 7.6.3 Pornirea unui ciclu de configurare PCR până la 7.6.10 Exportarea rezultatelor PCR pentru interpretarea manuală a rezultatelor.

**Tabelul 5:** Prezentare generală pentru AltoStar® Workflow (flux de lucru)

Etapă	Acțiune
1. Pornirea sistemului de automatizare AltoStar® AM16	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Porniți sistemul de automatizare AltoStar® AM16.</li> <li>• Porniți computerul și monitorul.</li> <li>• Porniți AltoStar® Connect software.</li> </ul>
2. Efectuarea întreținerii	<ul style="list-style-type: none"> <li>• În bara de meniu, faceți clic pe <b>Application</b> → <b>Instrument Maintenance</b> (Aplicație → Întreținerea instrumentului). <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Dacă este necesară efectuarea întreținerii săptămânale, faceți clic pe <b>Start Weekly Maintenance</b> (Pornire întreținere săptămânală).</li> <li>◦ Dacă este necesară efectuarea întreținerii zilnice, faceți clic pe <b>Start Daily Maintenance</b> (Pornire întreținere zilnică).</li> </ul> </li> <li>• Urmați instrucțiunile de pe ecran pentru procesul de întreținere.</li> </ul>
3. Programarea unui ciclu AltoStar®	<ul style="list-style-type: none"> <li>• În bara de meniu, faceți clic pe <b>Program Run</b> → <b>Program Run (AltoStar® Purification)</b> [Executare program → Executare program (Purificare AltoStar®)]. Sau reveniți la ecranul Start (Pornire) și faceți clic pe butonul <b>Program Run</b> (Executare program).</li> <li>• Introduceți probe sau importați-le din LIMS.</li> <li>• Selectați următorul test pentru probe, cu excepția cazului în care acesta a fost deja importat din LIMS: <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5</li> </ul> </li> <li>• Faceți clic pe butonul <b>Create Run</b> (Creare ciclu) din bară de instrumente pentru a crea ciclul AltoStar®.</li> </ul>

Etapă	Acțiune
4. Începerea unui ciclu de purificare	<ul style="list-style-type: none"> <li>• În bara de meniu, faceți clic pe <b>Purification</b> → <b>Start Purification</b> (Purificare → Pornire purificare). Sau reveniți la ecranul Start (Pornire) și faceți clic pe butonul <b>Start Purification</b> (Pornire purificare).</li> <li>• Selectați ciclul de purificare care urmează să fie pornit pentru a afișa probele incluse în ciclul de purificare selectat.</li> <li>• Pregătiți reactivii de purificare: <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Asigurați-vă că reactivii de purificare care urmează să fie utilizați au același număr de încărcare (cu excepția AltoStar® Internal Control 1.5) și nu sunt expirați.</li> <li>◦ Dacă precipitatele sunt vizibile în Lysis Buffer (Soluție-tampon de liză), încălziți-l (<math>\leq +50</math> °C) până la dizolvarea completă.</li> <li>◦ Dezghețați IC (AltoStar® Internal Control 1.5) și omogenizați prin agitare timp de 5 secunde.</li> <li>◦ Omogenizați prin agitare Magnetic Beads (Granulele magnetice) timp de 5 secunde fără a uda capacul.</li> </ul> </li> <li>• Pregătiți probele pentru procesul de purificare care urmează să fie pornit, conform instrucțiunilor de utilizare a setului AltoStar® Purification Kit 1.5.</li> <li>• Faceți clic pe butonul <b>Start Run</b> (Pornire ciclu) din bară de instrumente.</li> <li>• Urmați dialogurile de încărcare și încărcăți instrumentul în consecință.</li> <li>• Confirmați mesajul Loading complete (Încărcare finalizată) cu <b>OK</b> sau așteptați 10 secunde.</li> </ul> <p>Sistemul va efectua acum automat ciclul de purificare.</p>

Etapă	Acțiune
5. Finalizarea ciclului de purificare	<ul style="list-style-type: none"><li>• Asigurați-vă că tava de încărcare este goală și confirmați dialogul Run finished (Ciclu finalizat) cu <b>OK</b>.</li><li>• Urmați instrucțiunile din dialogul Maintenance (Întreținere) și confirmați cu <b>OK</b>.</li><li>• Sigilați și depozitați componentele setului AltoStar® Purification Kit 1.5 care pot fi reutilizate.</li></ul> <p>Eluatele din placa pentru eluat desigilată sunt stabile la temperatura camerei (max. +30 °C) timp de 4 ore în total.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Dacă ciclul de configurare PCR aferent nu este pornit imediat, sigilați placa de eluat cu o folie de sigilare a plăcii de eluat și păstrați-o la o temperatură cuprinsă între +2 °C și +8 °C timp de maximum 24 de ore.</li><li>• Vizualizați rezultatele ciclului de purificare pentru a confirma procesarea cu succes a fiecărei probe.</li></ul>

Etapă	Acțiune
6. Pornirea unui ciclu de configurare PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• În bara de meniu, faceți clic pe <b>PCR Setup</b> → <b>Start PCR Setup</b> (Configurare PCR → Pornire configurare PCR). Sau reveniți la ecranul Start (Pornire) și faceți clic pe butonul <b>Start PCR Setup</b> (Pornire configurare PCR).</li> <li>• Selectați ciclul de configurare PCR care urmează să fie pornit pentru a afișa placă pentru eluat și reactivii incluși în ciclul de configurare PCR selectat.</li> <li>• Pregătiți reactivii PCR: <ul style="list-style-type: none"> <li>◦ Asigurați-vă că probele principale și de control care urmează să fie utilizate provin din același lot de seturi și nu sunt expirate.</li> <li>◦ Dezghețați cantitatea necesară de eprubete master și de control, omogenizați-le scurt prin agitare și centrifugați-le într-o centrifugă.</li> </ul> </li> <li>• Dacă placa pentru eluat este sigilată, centrifugați-o scurt și desigilați-o cu atenție.</li> <li>• Faceți clic pe butonul <b>Start Run</b> (Pornire ciclu) din bară de instrumente.</li> <li>• Urmați dialogul Loading (Se încarcă) și încărcați instrumentul în consecință.</li> <li>• Confirmați mesajul Loading complete (Încărcare finalizată) cu <b>OK</b> sau așteptați 10 secunde.</li> </ul> <p>Sistemul va efectua acum automat ciclul de configurare PCR.</p>
7. Finalizarea unui ciclu de configurare PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Asigurați-vă că tava de încărcare este goală și confirmați dialogul Run finished (Ciclu finalizat) cu <b>OK</b>.</li> <li>• Urmați instrucțiunile din dialogul Maintenance (Întreținere) și confirmați cu <b>OK</b>.</li> <li>• Închideți și depozitați componentele setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 care pot fi reutilizate.</li> <li>• Vizualizați rezultatele ciclului de configurare PCR pentru a confirma procesarea cu succes a fiecărei probe.</li> </ul>
8. Sigilarea plăcii PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sigilați placa PCR cu o folie de sigilare a plăcii PCR.</li> </ul>

Etapă	Acțiune
9. Pornirea ciclului PCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Porniți CFX96™ DW Dx, computerul conectat și monitorul.</li> <li>• Porniți software-ul CFX Manager™ Dx.</li> <li>• Deschideți CFX96™ DW Dx.</li> <li>• Centrifugați placa PCR și introduceți-o în CFX96™ DW Dx.</li> <li>• Selectați <b>File</b> → <b>Open</b> → <b>LIMS File...</b> (Fișier → Deschidere → Fișier LIMS...) din bara de meniu.</li> <li>• Scanați codul de bare al plăcii PCR cu scannerul de coduri de bare portabil.</li> <li>• Închideți CFX96™ DW Dx.</li> <li>• Faceți clic pe butonul <b>Start Run</b> (Pornire ciclu) pentru a porni ciclul PCR. Denumiți și salvați fișierul ciclului PCR.</li> </ul> <p>CFX96™ DW Dx va efectua acum automat ciclul PCR.</p>
10. Separarea testelor pentru analiza individuală	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Separați toate testele din ciclul PCR în grupuri de godeuri distincte.</li> </ul>
11. Analizarea datelor și interpretarea rezultatelor ciclului PCR	<p>Pentru fiecare grup de godeuri în parte:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Efectuați corecția de referință în toate godeurile pentru toate canalele de detecție utilizate.</li> <li>• Excludeți godeurile cu semnale PCR neregulate.</li> <li>• Setări limitele tuturor canalelor de detecție în conformitate cu controalele.</li> <li>• Excludeți godeurile care conțin date invalide.</li> <li>• Generați fișierul cu rezultate LIMS pentru exportul rezultatelor către LIMS.</li> <li>• Generați raportul cu rezultate pentru interpretarea manuală a rezultatelor.</li> </ul>

**ATENȚIE**

Depozitarea eluatelor în condiții necorespunzătoare poate duce la degradarea secvenței target HIV și poate compromite performanța produsului.

## 7.6.2 Programarea unui ciclu AltoStar®

Pentru informații detaliate privind pornirea unui ciclu AltoStar®, consultați instrucțiunile de utilizare a setului AltoStar® Purification Kit 1.5, a software-ului AltoStar® Connect software și a sistemului de automatizare AltoStar® AM16. Setările specifice pentru utilizarea cu setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 sunt prezentate mai jos:

- Pentru aplicații de testare cantitativă sunt selectate QS1-4 și NTC, iar pentru aplicația de testare calitativă sunt selectate QS4 și NTC.
- Volumul necesar de probă este 1.000 µl plus volumul mort pentru tubul de probă respectivă (consultați capitolele 7.1 Volumul probei și 7.2 Tuburi pentru probe).
- Volumul necesar de eluat pentru setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este de 45 µl.
- Asigurați-vă că se utilizează versiunea corectă a protocolului de testare pentru ciclu. Pentru informații despre versiunea actuală a protocolului, consultați capitolul 15. Protocol de testare pentru AltoStar® Connect software și informații pentru integrarea în LIMS. Protocolul de testare respectiv este codificat în codul de bare 2D afișat acolo. Pentru informații privind purificarea și importarea protocolului de testare în software-ul AltoStar® Connect software, consultați instrucțiunile de utilizare respective.

### ATENȚIE



Nu utilizați o versiune a protocolului de testare diferită de cea indicată pe codul de bare 2D din aceste instrucțiuni de utilizare. Utilizarea unei versiuni incorecte a protocolului de testare poate compromite performanța produsului.

## 7.6.3 Pornirea unui ciclu de configurare PCR

1. Selectați **PCR Setup** → **Start PCR Setup** (Configurare PCR → Pornire configurare PCR) din bara de meniu. Alternativ, reveniți la ecranul Start al AltoStar® Connect software și selectați butonul **Start PCR Setup** (Pornire configurare PCR). Ecranul Start PCR Setup Run (Pornire ciclu de configurare PCR) este afișat.

Ciclurile de configurare PCR în așteptare sunt afișate în tabelul Programmed PCR Setup Runs (Cicluri de configurare PCR programare) din partea stângă a ecranului.

2. Selectați configurarea PCR care urmează să fie pornită din tabelul Programmed PCR Setup Runs (Cicluri de configurare PCR programare).
  - Probele incluse în ciclul de configurare PCR selectat sunt afișate în tabelul din partea dreaptă sus a ecranului [Samples in selected PCR Setup Run (Probe din ciclul de configurare PCR selectat)].
  - QS și controalele necesare pentru configurarea PCR selectată sunt afișate în tabelul din partea dreaptă, la mijlocul ecranului [Controls in selected PCR Setup Run (Controale din ciclul de configurare PCR selectat)].
  - Numărul de tuburi master necesare pentru configurarea PCR selectată este afișat în tabelul din partea dreaptă jos a ecranului [Required master tubes for the selected PCR Setup Run (Tuburi master necesare pentru ciclul de configurare PCR selectat)].

#### NOTĂ



Numărul de probe prioritizate dintr-un ciclu de configurare PCR este afișat în coloana **No. of prioritized Samples** (Nr. de probe prioritizate). Efectuați mai întâi configurările PCR care includ probe prioritare pentru a facilita procesarea cât mai rapidă a acestora.

Înainte de a face clic pe butonul **Start Run** (Pornire ciclu) din bara de instrumente, pregătiți reactivii necesari conform descrierii din capitolul 7.6.3.1 Pregătirea reactivilor pentru un ciclu de configurare PCR. Dacă placa pentru eluat necesară pentru ciclul de configurare PCR selectat a fost sigilată pentru stocare, pregătiți-o conform instrucțiunilor de utilizare din AltoStar® Purification Kit 1.5.

### 7.6.3.1 Pregătirea reactivilor pentru un ciclu de configurare PCR

1. Dezghețați complet la temperatura camerei (max. +30 °C) CI necesară, controalele și numărul necesar de tuburi master.
2. Amestecați reactivii prin agitare ușoară cu vortexul.
3. Centrifugați tuburile pentru scurt timp pentru a îndepărta picăturile de pe capac.

#### ATENȚIE



Lipsa centrifugării componentelor produsului după dezghețare poate cauza contaminarea cu reziduuri de reactivi din capace și poate compromite performanța produsului.

### 7.6.3.2 Încărcarea sistemului de automatizare AltoStar® AM16 pentru un ciclu de configurare PCR

Pentru informații detaliate privind procesul de încărcare, consultați instrucțiunile de utilizare ale sistemului de automatizare AltoStar® AM16 și ale AltoStar® Connect software.

1. Faceți clic pe butonul **Start Run** (Pornire ciclu) din bara de instrumente a ecranului Start PCR Setup Run (Pornire ciclu de configurare PCR) pentru a afișa caseta de dialog Loading (Se încarcă).

Caseta de dialog Loading (Se încarcă) conține o reprezentare vizuală a platformei sistemului de automatizare AltoStar® AM16 în partea de sus și un tabel care specifică transportoarele, traseele respective de pe platforma sistemului de automatizare AltoStar® AM16 pentru fiecare transportor, materialul care trebuie încărcat pe fiecare transportor și comentarii referitoare la încărcarea transportorului.

#### NOTĂ

Pentru a vizualiza poziția unui element pe un transportor și poziția transportorului pe platforma sistemului de automatizare AltoStar® AM16, selectați rândul corespunzător din tabelul din caseta de dialog Loading (Se încarcă).

#### **i**

Poziția elementului și a transportorului său este vizualizată:

- Evidențiată cu roșu în reprezentarea vizuală a platformei instrumentului
- Pe sistemul de automatizare AltoStar® AM16 prin aprinderea intermitentă a luminițelor de încărcare deasupra traseelor unde trebuie amplasat transportorul selectat

2. Încărcați materialul necesar, placa pentru eluat pregătită și reactivii pregătiți pe transportoarele adecvate.
  - Înlocuiți numai stativele pentru vârfuri de 1.000 µl **complet goale** cu stativele pentru vârfuri de 1.000 µl **complet pline** de pe transportorul pentru vârfuri.
  - Înlocuiți numai stativele pentru vârfuri de 300 µl **complet goale** cu stativele pentru vârfuri de 300 µl **complet pline** de pe transportorul pentru vârfuri și plăci.

**NOTĂ**

Schimbarea stativei pentru vârfuri care nu sunt complet goale, precum și manipularea vârfurilor individuale pot interfera cu gestionarea automată a vârfurilor și pot provoca întreruperea ciclului.

- Așezați placa pentru eluat necesară cu godeul A1 în stânga poziției plăcii negre.
- Așezați o placă PCR cu godeul A1 în stânga plăcii frontale argintii.
- Încărcați un transportor de tuburi 24 cu un tub de colectare neutilizat pentru fiecare test din ciclul de configurare PCR.
- Împingeți ușor tuburile până la fundul transportorului și rotiți tuburile până când codurile de bare ale tuburilor sunt vizibile prin fereastra transportorului.
- Încărcați transportorul de tuburi pentru reactivi 32 cu componentele de testare necesare pentru ciclul de configurare PCR.
- Împingeți ușor tuburile până la fundul transportorului și rotiți tuburile până când codurile de bare ale tuburilor sunt vizibile prin fereastra transportorului.

**NOTĂ**

Poziția tuburilor individuale pe transportoare este arbitrară.

**NOTĂ**

Volumul componentelor încărcate nu este verificat de sistem înainte de procesare. Volumul insuficient al componentelor va împiedica finalizarea configurării PCR pentru testul afectat.

**NOTĂ**

Pornirea unui ciclu de configurare PCR cu capacele încă pe tuburi poate provoca întreruperea procesului în timpul procesării.

3. Încărcați transportoarele cu codul de bare al transportatorului spre partea din spate, orientat spre dreapta.
4. Introduceți transportoarele umplute pe traseele corespunzătoare dintre glisoarele din față și din spate ale tăvii de încărcare, până când acestea ating cârligele de oprire de pe partea opusă a tăvii de încărcare.

**NOTĂ**

Împingerea transportoarelor dincolo de cârligele de oprire poate deteriora instrumentul și poate interfera cu procesul de încărcare.

5. Verificați dacă fișa de ejectare a vârfurilor și recipientul pentru deșeuri de vârfuri sunt în poziția corectă și dacă în recipient este introdusă o pungă nouă pentru deșeuri.
6. Faceți clic pe **OK** în caseta de dialog Loading (Se încarcă) pentru a continua procesul de încărcare.

**NOTĂ**

Dacă faceți clic pe **Cancel** (Anulare), ciclul de configurare PCR va fi anulat, dar poate fi repornit (consultați capitolul 7.6.3 Pornirea unui ciclu de configurare PCR).

Sistemul de automatizare AltoStar® AM16 atrage transportoarele în interiorul instrumentului și efectuează verificarea codurilor de bare.

**NOTĂ**

Sistemul de automatizare AltoStar® AM16 verifică automat:

- Tipul și localizarea corectă a transportoarelor încărcate
- Identitatea și poziția corectă a articolelor încărcate pe transportoare
- Sincronizarea loturilor componentelor seturilor individuale de teste AltoStar®
- Valabilitatea tuturor componentelor testului AltoStar® încărcate
- Poziționarea corectă a fișei de ejectare a vârfurilor

Dacă vreuna dintre aceste verificări nu are un rezultat pozitiv, utilizatorul primește un mesaj care specifică problema și instrucțiuni pentru remedierea acesteia. Pentru mai multe informații privind gestionarea erorilor, consultați instrucțiunile de utilizare ale AltoStar® Connect software.

**NOTĂ**

Modificarea poziției oricărui element încărcat după ce transportatorul a fost introdus în instrument poate duce la întreruperea ciclului de configurare PCR și/sau la deteriorarea instrumentului.

După ce toate verificările au fost efectuate cu succes, se afișează caseta de dialog Loading complete (Încărcare finalizată).

7. Confirmați caseta de dialog Loading complete (Încărcare finalizată) făcând clic pe **OK** sau așteptați 10 secunde pentru pornirea automată a procesului.

**NOTĂ**

Dacă faceți clic pe **Cancel** (Anulare), ciclul de configurare PCR va fi anulat, dar poate fi repornit (consultați capitolul 7.6.3 Pornirea unui ciclu de configurare PCR).

Ciclul de configurare PCR este inițiat și va fi efectuat fără intervenția utilizatorului.

**7.6.3.3 În timpul ciclului de configurare PCR**

Nu este necesară nicio altă interacțiune din partea utilizatorului până la finalizarea ciclului de configurare PCR. Se afișează ecranul Processing Status (Starea de prelucrare), care arată starea ciclului de configurare PCR și timpul estimat rămas.

**NOTĂ**

Împingerea sau tragerea transportoarelor sau a ușii sistemului de automatizare AltoStar® AM16 în timpul unui ciclu de configurare PCR poate întrerupe ciclul.

**7.6.4 Sfârșitul ciclului de configurare PCR**

La finalul ciclului de configurare PCR, se afișează dialogul Run finished (Ciclu finalizat).

1. Asigurați-vă că tava de încărcare este goală.

2. Confirmați dialogul Run finished (Ciclu finalizat) făcând clic pe **OK**.

Sistemul de automatizare AltoStar® AM16 va descărca transportoarele. Asigurați-vă că nu stați în calea transportoarelor care se descarcă.

După descărcare, se afișează dialogul Maintenance (Întreținere).

3. Urmați instrucțiunile din dialogul Maintenance (Întreținere).

Tabelul din dialog afișează numărul de reacții din tuburile master care nu au fost utilizate în ciclul de configurare PCR.

4. Dacă urmează să se înceapă imediat un alt ciclu de configurare PCR folosind placa pentru eluat deja încărcată, placa pentru eluat poate rămâne nesigilată pe poziția transportorului. Dacă acest lucru **nu** este cazul, sigilați și depozitați placa pentru eluat. Pentru mai multe detalii, consultați instrucțiunile de utilizare ale setului AltoStar® Purification Kit 1.5.

### NOTĂ



Eluatele din placa pentru eluat sunt stabile la temperatura camerei (max. +30 °C) pentru un total de 4 ore după finalizarea ciclului de purificare.

5. Închideți tuburile cu reactivi folosind capace de tuburi neutilizate și potrivite.

### ATENȚIE



Nu reutilizați capacele de tub pentru a evita contaminarea reactivilor, deoarece acest lucru ar putea compromite performanța produsului.

6. Depozitați reactivii pentru reutilizare conform descrierii din capitolul 4.2 Manevrare.
7. Eliminați materialele utilizate (consultați capitolul 9. Depozitare).
8. Confirmați dialogul Maintenance (Întreținere) făcând clic pe **OK**.

### 7.6.4.1 Rezultatele ciclului de configurare PCR

Rezultatele ciclului de configurare PCR sunt salvate în AltoStar® Connect software.

1. Faceți clic pe **PCR Setup** → **PCR Setup Results** (Configurare PCR → Rezultate configurare PCR) din bara de meniu pentru a accesa ecranul Results (Rezultate).

Ecranul Results (Rezultate) afișează un tabel cu toate probele utilizate în ultimul ciclu de configurare PCR și o coloană **Status** (Stare) în partea dreaptă, care indică dacă procesul de configurare PCR pentru o anumită probă a fost finalizat (consultați tabelul 6).

**Tabelul 6:** Rezultatele ciclului de configurare PCR

Stare	Rezultatul ciclului de configurare PCR
Processed (Prelucrat)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eluatul a fost prelucrat cu succes în ciclul de configurare PCR.</li> <li>• Amestecul RT-PCR rezultat este gata pentru utilizare într-un ciclu PCR.</li> </ul>
Error (Eroare)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eluatul nu a fost prelucrat cu succes.</li> <li>• Amestecul RT-PCR respectiv va fi omis automat în următoarea analiză PCR.</li> </ul>

2. Pentru a vizualiza rezultatele ciclurilor de configurare PCR anterioare, faceți clic pe butonul **Load** (Încărcare) din bara de meniu, selectați ciclul de configurare PCR dorit din lista din caseta de dialog Load Results (Încărcare rezultate) care se deschide și faceți clic pe **OK**.

3 fișiere cu rezultatele ciclului de configurare PCR sunt generate automat de AltoStar® Connect software:

- Un fișier LIMS (.XML) pentru a transmite informații detaliate despre ciclul de configurare PCR, inclusiv rezultatele, înapoi la LIMS
- Un raport (.PDF) care conține informații detaliate despre ciclul de configurare PCR, inclusiv rezultatele, în scopuri de documentare
- Un fișier pentru ciclator (.PLRN) pentru programarea automată a CFX96™ DW Dx

Aceste fișiere sunt salvate în locația specificată în setările de sistem ale AltoStar® Connect software.

**NOTĂ**

Fișierele cu rezultatele ciclului de configurare PCR pot fi generate din nou încărcând ciclul de configurare PCR respectiv și făcând clic pe butonul **Create LIMS File** (Creare fișier LIMS) pentru a genera fișierul LIMS, pe butonul **Create Report** (Creare raport) pentru a genera raportul sau pe butonul **Create Bio-Rad Cycler File** (Creare fișier pentru ciclatorul Bio-Rad) pentru a genera fișierul pentru ciclator.

**7.6.5 Sigilarea plăcii PCR**

După finalizarea ciclului de configurare PCR, placa PCR trebuie sigilată cu folie de sigilare a plăcii PCR. Se recomandă utilizarea AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)] sau PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad). Compatibilitatea altor materiale de etanșare a plăcilor decât cele recomandate trebuie evaluată de utilizator.

Dacă se folosește unul dintre materialele de etanșare a plăcilor recomandate pentru sigilare, procedați astfel:

1. Porniți materialul de etanșare a plăcilor și asigurați-vă că adaptorul pentru plăci nu se află în tava de încărcare.
2. Asigurați-vă că setările materialului de etanșare a plăcilor sunt următoarele:

**Tabelul 7:** Setările materialului de etanșare a plăcilor

Material de etanșare a plăcilor	Setări	
	Temperatură [°C]	Timp [s]
AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]	170	2
PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)	175	3

3. Așteptați până când se atinge temperatura setată. Acest lucru poate dura câteva minute.
4. Așezați placa PCR pe adaptorul de plăci al materialului de etanșare a plăcilor.
5. Plasați o folie de sigilare a plăcii PCR pe placa PCR astfel încât inscripția „THIS SIDE UP” (această parte în sus) să fie lizibilă. Asigurați-vă că toate godeurile plăcii PCR sunt acoperite de folie și că niciun godeu nu este acoperit de scris.

#### NOTĂ



Folosirea materialului de etanșare a plăcilor fără adaptorul de plăci plasat în tava de încărcare poate face ca echipamentul să nu funcționeze. În acest caz, contactați suportul tehnic altona Diagnostics pentru asistență tehnică (consultați capitolul 11. Asistență tehnică).

#### NOTĂ



Dacă folia de sigilare a plăcii PCR sau cadrul acesteia este plasată incorect, folia se poate lipi de placa de încălzire din materialul de etanșare a plăcilor în timpul sigilării. Acest lucru va face ca echipamentul să nu funcționeze. În acest caz, sau dacă pasul de sigilare a fost inițiat fără o folie de sigilare pentru placa PCR, lăsați materialul de etanșare a plăcilor să se răcească la temperatura camerei și contactați suportul tehnic altona Diagnostics pentru asistență tehnică (consultați capitolul 11. Asistență tehnică).

6. Asamblați cadrul de sigilare deasupra pentru a fixa folia de sigilare.
7. Deschideți sertarul apăsând butonul **Operate** (Operare)\*/ \*\*.
8. Plasați ansamblul format din adaptorul de plăci, placa PCR, folia de sigilare a plăcii PCR și cadrul de sigilare în materialul de etanșare a plăcilor și apăsați butonul **Operate** (Operare)\*/ \*\*.
9. Tava de încărcare se închide automat, sigilează pentru timpul setat și se redeschide automat.
10. Scoateți placa PCR sigilată și adaptorul de plăci din materialul de etanșare a plăcilor și închideți materialul de etanșare a plăcilor apăsând butonul **Close** (Închidere)\*/ \*\*.

\* AltoStar® Plate Sealer [4s3™ Semi-Automatic Sheet Heat Sealer (4titude)]

\*\* PX1 PCR Plate Sealer (Bio-Rad)

### 7.6.5.1 Stabilitatea amestecului PCR

După finalizarea configurării PCR, amestecul RT-PCR din placa PCR sigilată este stabil la temperatura camerei (max. +30 °C) timp de 30 de minute.

#### ATENȚIE



Nu depășiți timpul de păstrare al amestecului PCR, deoarece acest lucru ar putea compromite performanța produsului.

### 7.6.6 Pornirea unui ciclu PCR

Ciclul PCR se efectuează pe un CFX96™ DW Dx sub controlul CFX Manager™ Dx software.

1. Porniți CFX96™ DW Dx, computerul atașat și monitorul.
2. Porniți CFX Manager™ Dx software.
3. În bara de meniu a CFX Manager™ Dx software selectați **File** → **Open** → **LIMS File...** (Fișier → Deschidere → Fișier LIMS) pentru a deschide dialogul Open LIMS File (Deschidere fișier LIMS).
4. În dialogul Open LIMS File (Deschidere fișier LIMS) care se deschide, asigurați-vă că cursorul clipește în câmpul **File name** (Denumire fișier) din partea de jos. Dacă nu clipește, faceți clic în câmpul **File name** (Denumire fișier).
5. Scanați codul de bare al plăcii PCR cu scannerul de coduri de bare portabil pentru a selecta și deschide automat fișierul LIMS corect. Dialogul Run Setup (Configurare ciclu) este afișat.

#### NOTĂ



Toți parametrii necesari pentru pornirea ciclului PCR sunt transferați automat din AltoStar® Connect software către CFX96™ DW Dx prin intermediul fișierului ciclator.

6. Faceți clic pe butonul **Open Lid** (Deschidere capac) în dialogul Run Setup (Configurare ciclu) pentru a deschide capacul CFX96™ DW Dx.
7. Centrifugați scurt placa PCR sigilată pentru a asigura că tot lichidul se află la fundul godeurilor.

8. Introduceți placa PCR sigilată în blocul de încălzire al CFX96™ DW Dx cu godeul A1 în partea stângă.
9. Închideți CFX96™ DW Dx făcând clic pe butonul **Close Lid** (Închidere capac) din dialogul Run Setup (Configurare ciclu).
10. Porniți ciclul PCR făcând clic pe butonul **Start Run** (Pornire ciclu) din dialogul Run Setup (Configurare ciclu).

### 7.6.6.1 În timpul ciclului PCR

Nu este necesară nicio interacțiune din partea utilizatorului până la finalizarea ciclului PCR. Se afișează dialogul Run Details (Detalii ciclu), care indică starea ciclului PCR și timpul estimat rămas.

#### NOTĂ



Deschiderea capacului CFX96™ DW Dx în timpul unui ciclu PCR, fie prin apăsarea butonului frontal de pe capac, fie făcând clic pe **Open Lid** (Deschidere capac) în dialogul Run Details (Detalii ciclu) va anula rularea și va invalida toate rezultatele.

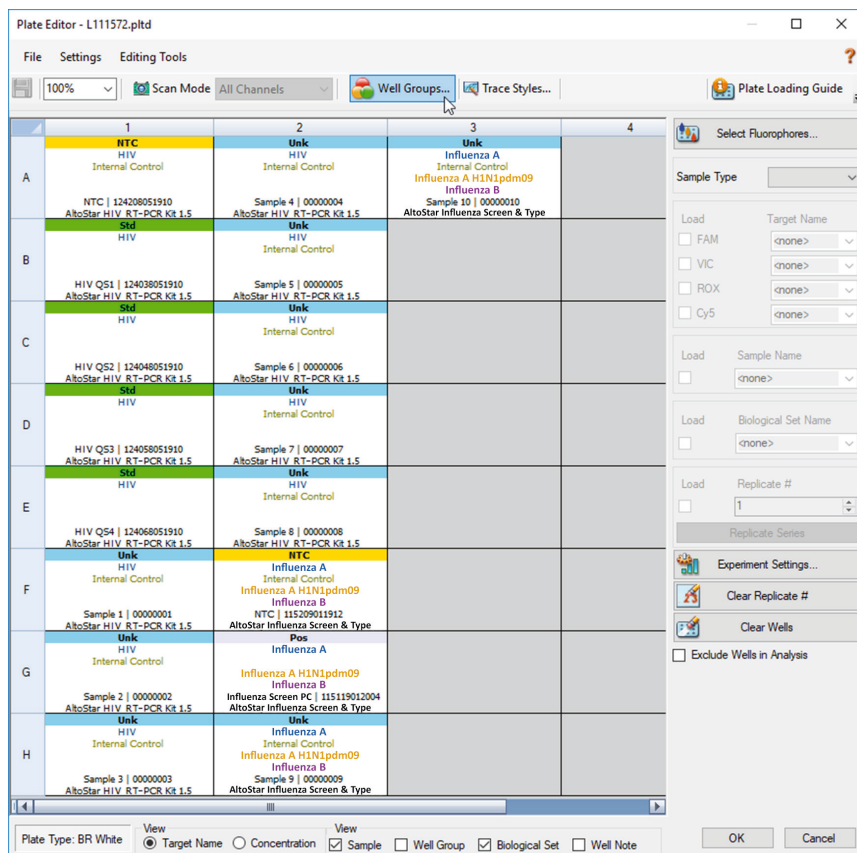
La finalul rulării PCR, se afișează fereastra Data Analysis (Analiza datelor), care arată curbele de amplificare, dispunerea plăcii și rezultatele.

### 7.6.6.2 Atribuirea testelor la grupuri de godeuri

AltoStar® Workflow (flux de lucru) procesează unul sau mai multe teste PCR simultan pe o singură placă PCR. Totuși, fiecare test trebuie analizat separat de utilizator conform instrucțiunilor de utilizare ale testului respectiv.

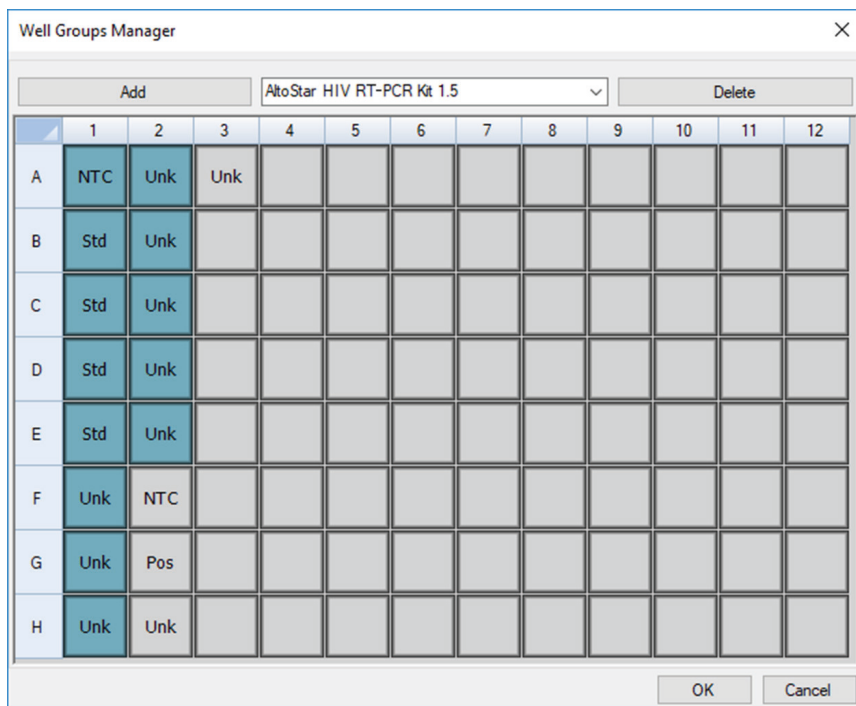
În acest scop, toate testele de pe o placă PCR trebuie atribuite grupurilor individuale de godeuri în CFX Manager™ Dx software de către utilizator.

1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor) faceți clic pe butonul **Plate Setup** (Configurare placă) din bara de instrumente și selectați **View/Edit Plate** (Vizualizare/editare placă). Dialogul Plate Editor (Editor placă) este afișat (consultați ilustrația 1).



**Ilustr. 1:** Caseta de dialog Plate Editor (Editor placă)

2. În dialogul Plate Editor (Editor placă), faceți clic pe **Well Groups...** (Grupuri de godeuri...) din bara de instrumente. Dialogul Well Groups Manager (Manager grupuri de godeuri) este afișat (consultați ilustrația 2).
3. Faceți clic pe butonul **Add** (Adăugare).
4. Introduceți numele primului test în caseta de text.
5. Selectați toate godeurile din zona plăcii PCR care aparțin primului test (consultați ilustrația 2). Godeurile care aparțin unui test individual pot fi identificate în dialogul Plate Editor (Editor placă) prin intrarea din câmpul **Biological Set** (Set biologic).

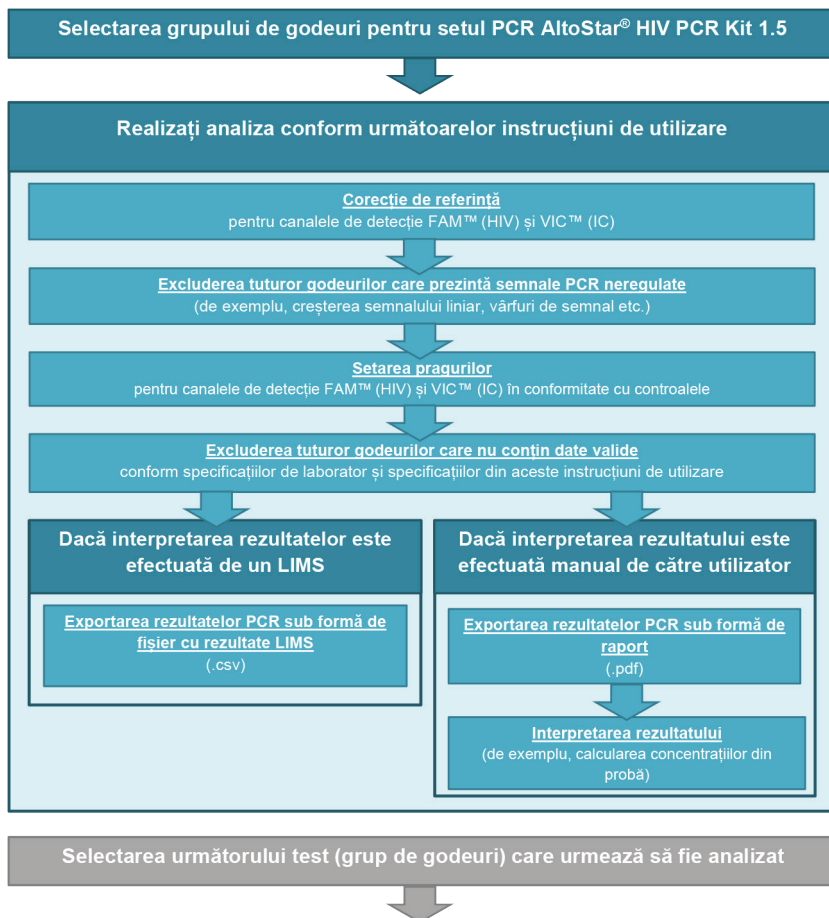


**Ilustr. 2:** Caseta de dialog Well Groups Manager (Manager grupuri de godeuri)

6. Repetați pașii 3-5 pentru toate testele de pe placa PCR.
7. Confirmați atribuirea grupurilor de godeuri făcând clic pe **OK**. Dialogul Well Groups Manager (Manager grupuri de godeuri) se închide.
8. Închideți caseta de dialog Plate Editor (Editor placă) făcând clic pe **OK**.
9. Confirmați aplicarea modificărilor făcând clic pe **Yes** (Da).

### 7.6.7 Analiza datelor PCR

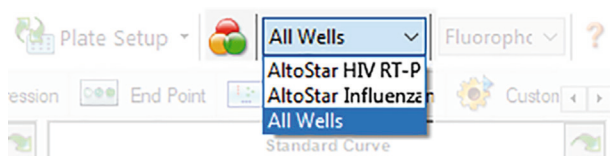
Rezultatele tuturor testelor (grupurilor de godeuri) de pe placa PCR trebuie analizate în ordinea prezentată în ilustrația 3.



**Ilustr. 3:** Procesul de analiză a datelor PCR

În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente. Nu utilizați „All Wells” (Toate godeurile) **Well Group** (Grup de godeuri). Selectarea din ilustrația 4 este utilizată doar ca exemplu general.

Înainte de a analiza rezultatele, asigurați-vă că grupul de godeuri al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 conține toate godeurile setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 și niciun godeu din alte teste.



**Ilustr. 4:** Butonul Well Group (Grup de godeuri) și meniul vertical Well Group (Grup de godeuri)

#### NOTĂ



Analiza combinată a mai multor teste poate conduce la rezultate incorecte.

#### ATENȚIE



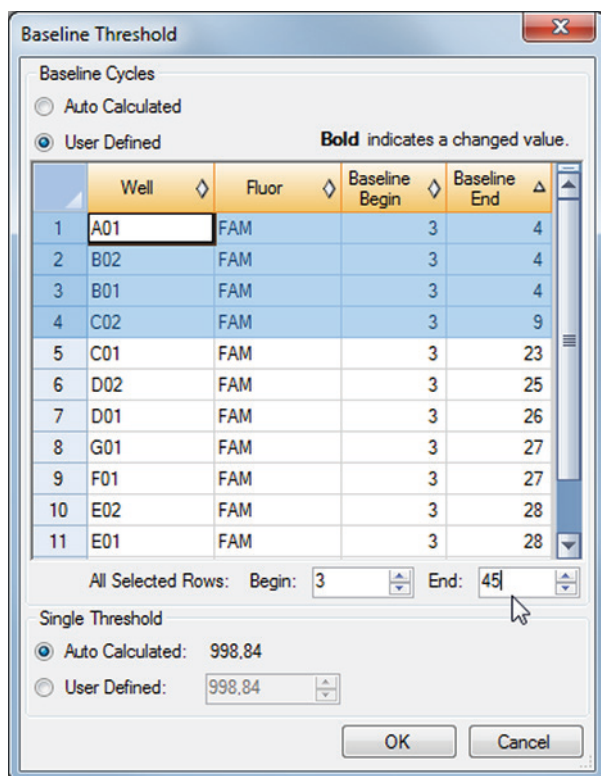
Ca în cazul oricărui test de diagnostic, rezultatele trebuie interpretate ținând cont de toate constatările clinice și de laborator.

### 7.6.7.1 Corecție de referință

Setările de referință utilizate de software-ul CFX Manager™ Dx pot necesita să fie corectate pentru godeurile individuale ale testului [**Well Group** (Grup de godeuri)] în curs de analizare.

1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente.
2. În partea stângă a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), activați numai caseta de selectare **FAM** pentru canalul de detecție a target HIV.
3. În bara de meniu a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), faceți clic pe **Settings** → **Baseline Threshold...** (Setări → Prag valoare de referință...) pentru a deschide caseta de dialog Baseline Threshold (Prag valoare de referință) (consultați ilustrația 5).
4. Faceți clic o dată pe simbolul  $\diamond$  din antetul coloanei **Baseline End** (Valoare finală a liniei de bază) pentru a sorta tabelul în ordinea crescătoare a valorilor **Baseline End** (Valoare finală a liniei de bază).

5. Selectați toate liniile care prezintă o valoare **Baseline End** (Valoare finală a liniei de bază) cuprinsă între 1 și 9 (consultați ilustrația 5).



**Ilustr. 5:** Caseta de dialog Baseline Threshold (Prag valoare de referință)

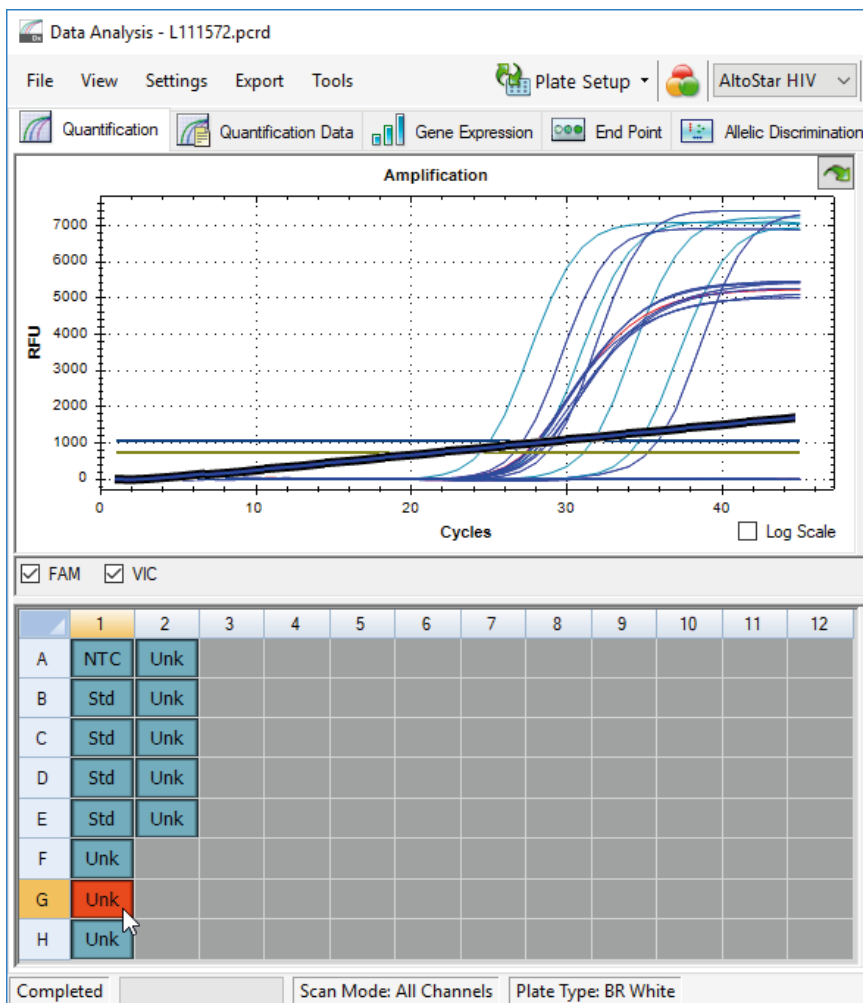
6. Setați valoarea în câmpul **End**: (Sfârșit:) la 45 pentru liniile selectate (consultați ilustrația 5).
7. Confirmați setările făcând clic pe **OK**.
8. În partea stângă a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), debifați caseta de selectare **FAM** și bifați numai caseta de selectare **VIC** pentru canalul de detecție a target IC.
9. Repetați pașii 3-7 pentru canalul de detecție VIC™ (IC).

### 7.6.7.2 Excluderea semnalelor PCR neregulate

Rezultatele valide pot fi obținute doar din semnale PCR fără artefacte, care pot fi cauzate, de exemplu, de impurități sau bule în amestecul RT-PCR. Semnalele PCR care conțin artefacte trebuie excluse de utilizator.

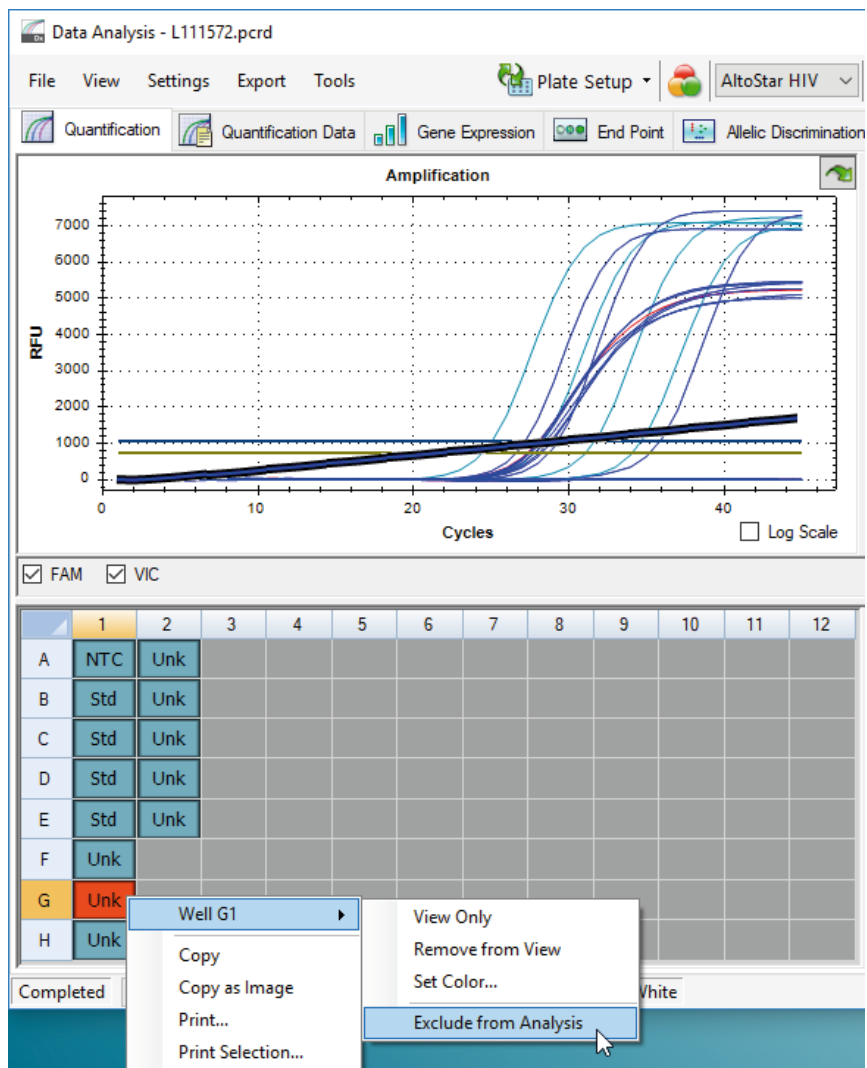
1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente.

2. Identificați godeurile cu semnale PCR neregulate (creșterea semnalului linear, vârfuri de semnal etc.) în oricare dintre canalele de detecție FAM™ (HIV target) și VIC™ (IC) (consultați ilustrația 6).



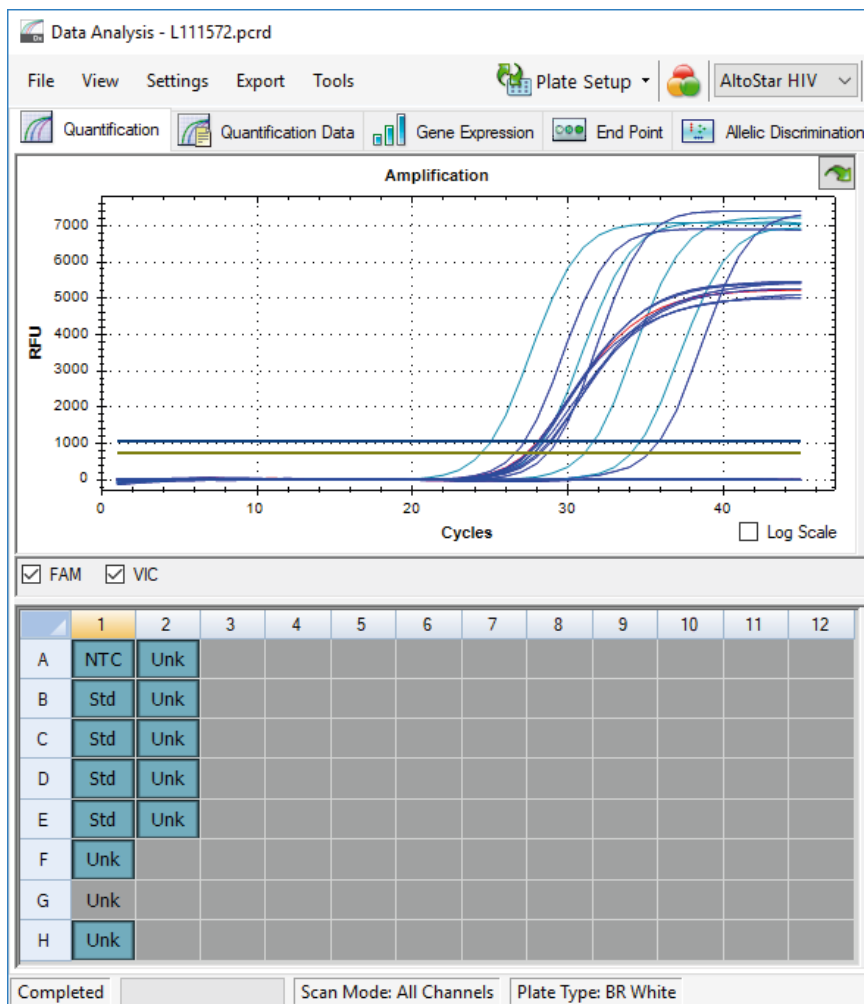
**Ilustr. 6:** Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): semnal PCR neregulat

3. Faceți clic dreapta pe fiecare godeu afectat și selectați **Well...** → **Exclude from Analysis** (Godeu... → Excludere din analiză) (consultați ilustrația 7).



Ilustr. 7: Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): excluderea godeului din analiză

4. Godeul selectat este exclus din analiză. Nu se vor genera rezultate pentru acest godeu (consultați ilustrația 8).



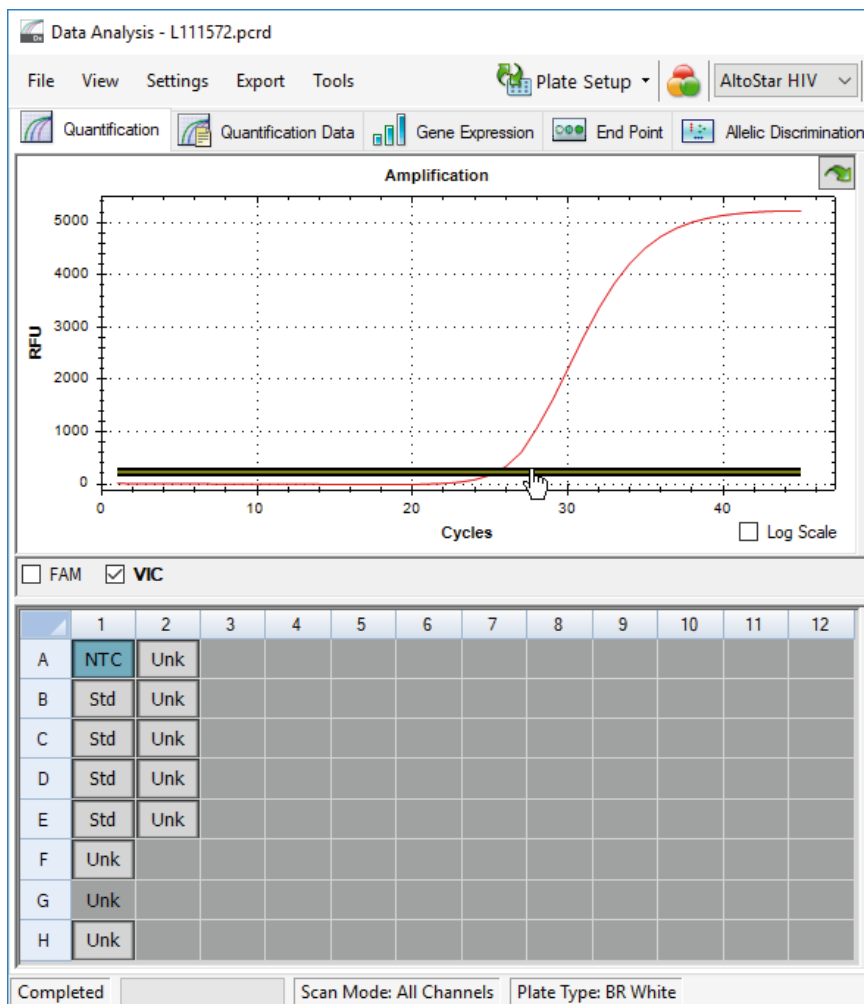
Ilustr. 8: Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): godeu exclus

### 7.6.7.3 Setarea pragurilor

Pragurile pentru canalele de detecție FAM™ (HIV target) și VIC™ (IC) trebuie setate manual de către utilizator conform semnalelor controalelor.

1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente.

2. În partea stângă a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), activați doar caseta de selectare **VIC** pentru canalul de detecție al IC (consultați ilustrația 9).



Ilustr. 9: Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): setarea pragului VIC™

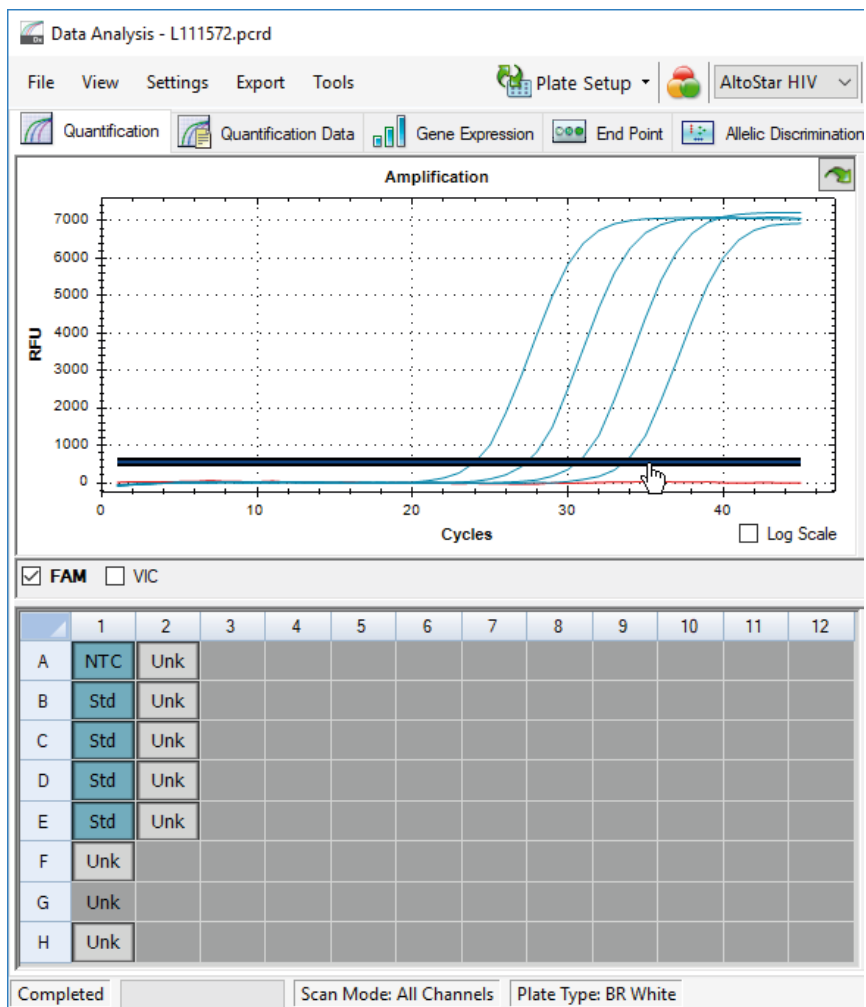
3. Selectați doar godeul NTC în vizualizarea plăcii din fereastra Data Analysis (Analiza datelor) (consultați ilustrația 9).
4. Trageți pragul în zona exponențială a semnalului NTC (consultați ilustrația 9).

#### NOTĂ



NTC conține șablonul IC, ceea ce duce la un semnal IC într-un godeu NTC valid.

5. În partea stângă a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor) debifați caseta de selectare **VIC** și bifați caseta de selectare **FAM** pentru canalul de detecție al target HIV (consultați ilustrația 10).



**Ilustr. 10:** Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): setarea pragului FAM™

6. Selectați doar godeurile care conțin NTC și QS în vizualizarea plăcii din fereastra Data Analysis (Analiza datelor) (consultați ilustrația 10).
7. Trageți pragul bine deasupra semnalului NTC în zona exponențială a semnalelor QS (consultați ilustrația 10).

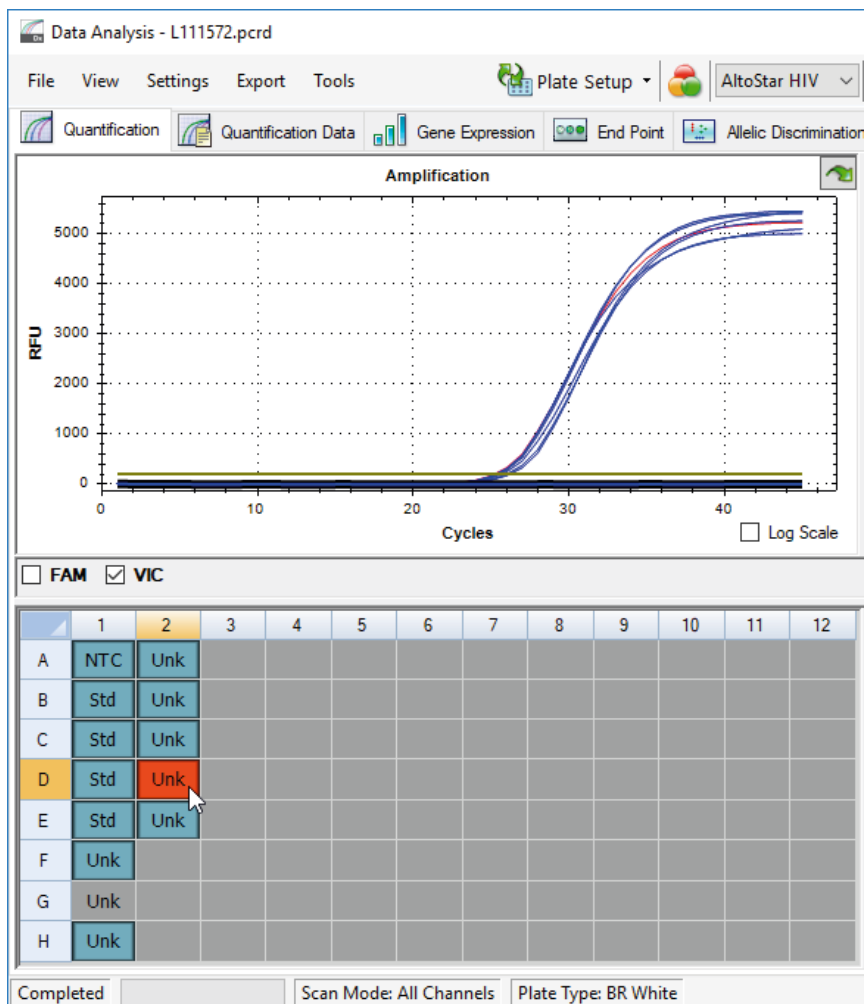
## 7.6.8 Validitatea rezultatelor PCR

### 7.6.8.1 Excluderea godeurilor care conțin date invalide

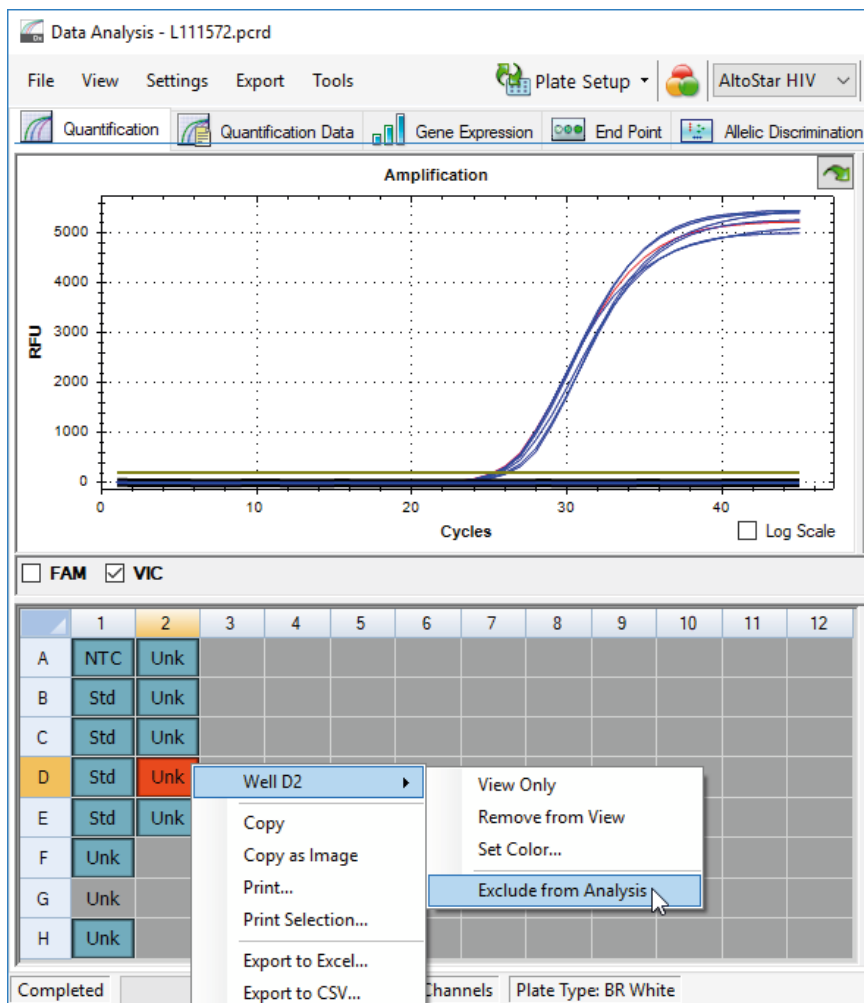
Godeurile care nu conțin date valide trebuie excluse din generarea rezultatelor de către utilizator.

1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente.
2. Identificați toate godeurile care conțin date invalide. Un godeu este invalid dacă se aplică oricare dintre următoarele condiții:
  - a) Întregul ciclu este invalid (consultați capitolul 7.6.8.2 Validitatea unui ciclu PCR de diagnosticare).
  - b) Datele godeului nu respectă condițiile de control pentru un rezultat valid (consultați capitolul 7.6.8.3 Validitatea rezultatelor pentru o probă).

3. Faceți clic dreapta pe fiecare godeu care conține date nevalide conform capitolelor 7.6.8.2 Validitatea unui ciclu PCR de diagnosticare până la 7.6.8.3 Validitatea rezultatelor pentru o probă și selectați **Well... → Exclude from Analysis** (Godeu... → Excludere din analiză) (consultați ilustrațiile 11 și 12).



**Ilustr. 11:** Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): godeu invalid



**Ilustr. 12:** Fereastra Data Analysis (Analiza datelor): excluderea godeului invalid din analiză

Godeul selectat este exclus din analiză. Nu se vor genera rezultate pentru acest godeu.

### 7.6.8.2 Validitatea unui ciclu PCR de diagnosticare

Un ciclu PCR diagnostic este **valid** dacă:

a) sunt îndeplinite următoarele condiții de control:

**Tabelul 8:** Condiții de control pentru un ciclu PCR valid

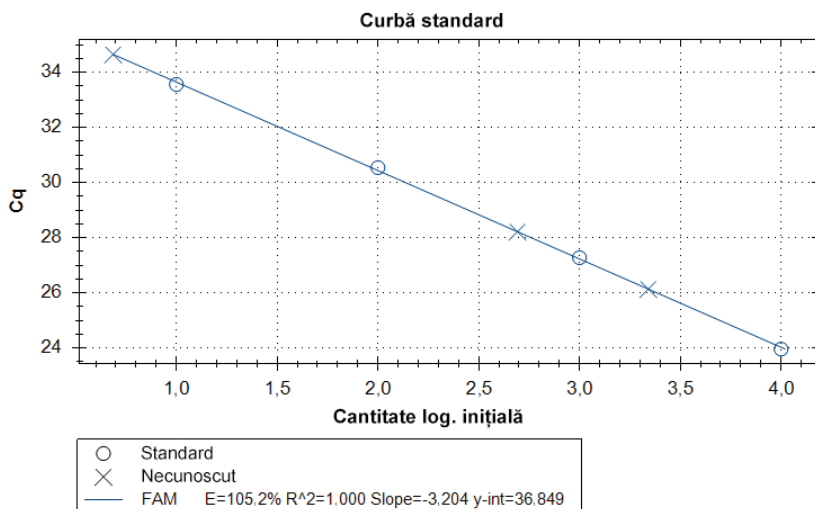
Control	Canal de detecție	
	FAM™ (HIV target)	VIC™ (IC)
QS	+	Nu se aplică
NTC	-	+

și b) curba standard generată atinge următoarea valoare a parametrului de control:

**Tabelul 9:** Parametru de control al curbei standard

Parametru de control	Valoare validă
R la pătrat ( $R^2$ )	$\geq 0,98$

Parametrul de control al curbei standard este afișat sub graficul Standard curve (Curbă standard) în fereastra Data Analysis (Analiza datelor) (consultați ilustrația 13).



**Ilustr. 13:** Date curbă standard

Un ciclu PCR diagnostic este **invalid** dacă:

- Ciclul nu a fost finalizat.
- Oricare dintre condițiile de control pentru un ciclu PCR diagnostic valid nu este îndeplinită.

În cazul unei rulări PCR diagnostice invalide, excludeți toate godeurile din analiză și repetați ciclul AltoStar® începând de la probele originale.

### 7.6.8.3 Validitatea rezultatelor pentru o probă

Rezultatul pentru o probă individuală este **invalid** dacă semnalele din canalul de detecție VIC™ (IC) și din canalul de detecție FAM™ (HIV target) sunt negative (consultați tabelul 10). În cazul unui rezultat invalid pentru o probă, excludeți godeul din analiză și repetați testarea probei inițiale sau recoltați și testați o probă nouă.

**Tabelul 10:** Validitatea rezultatului

Canal de detecție		Validitatea rezultatului
FAM™ (HIV target)	VIC™ (IC)	
+	+	Rezultat valid
+	-	Rezultat valid*
-	+	Rezultat valid
-	-	<b>Rezultat invalid</b>

\* Detecția IC nu este necesară atunci când target HIV este detectată. O încărcătură ridicată a target-ului HIV ARN în probă poate duce la un semnal IC redus sau absent.

### 7.6.9 Exportul rezultatelor PCR pentru interpretare automată a rezultatelor

Pentru ca rezultatele ciclului PCR să fie disponibile pentru un LIMS conectat pentru interpretarea automată a rezultatelor, acestea trebuie exportate sub forma unui fișier cu rezultate LIMS (.csv).

1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) pentru setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente.
2. Asigurați-vă că toate etapele procesului de analiză (consultați capitolul 7.6.7.1 Corecție de referință până la 7.6.8.1 Excluderea godeurilor care conțin date invalide) au fost finalizate pentru grupul de godeuri al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5.
3. În bara de meniu a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), faceți clic pe **Export** → **Export All Data Sheets** (Exportare → Exportarea tuturor fișierelor de date) pentru a deschide caseta de dialog Browse For Folder (Caută în fișier).
4. În caseta de dialog Browse For Folder (Caută în fișier), specificați locația în care vor fi generate fișierele cu rezultatele LIMS și faceți clic pe **OK**.

**NOTĂ**

Integrarea în LIMS trebuie implementată în conformitate cu specificațiile altona Diagnostics. Pentru informații privind integrarea în LIMS, consultați capitolul 15. Protocol de testare pentru AltoStar® Connect software și informații pentru integrarea în LIMS și/sau contactați asistența tehnică altona Diagnostics (consultați capitolul 11. Asistență tehnică).

**NOTĂ**

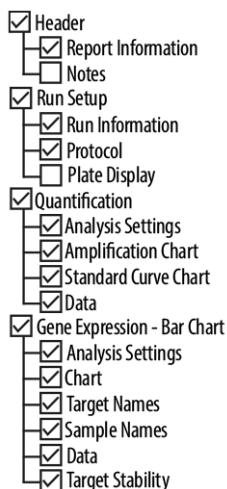
Salvarea rezultatelor mai multor teste (grupuri de godeuri) dintr-un ciclu PCR în același fișier duce la înlocuirea fișierelor cu rezultatele LIMS ale primului test (grup de godeuri) cu fișierele cu rezultatele LIMS ale celui de-al doilea test (grup de godeuri). În acest caz, fișierele cu rezultatele LIMS ale primului test (grup de godeuri) pot fi exportate din nou.

## 7.6.10 Exportul rezultatelor PCR pentru interpretarea manuală a rezultatelor

Dacă rezultatele nu sunt transmise către un LIMS pentru interpretare automată a rezultatelor, interpretarea rezultatelor acestora trebuie efectuată manual de către utilizator. În acest scop, rezultatele analizei fiecărui test (grup de godeuri) trebuie exportate sub forma unui raport.

1. În fereastra Data Analysis (Analiza datelor), asigurați-vă că selectați **Well Group** (Grup de godeuri) pentru setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Așadar, faceți clic pe meniul vertical **Well Group** (Grup de godeuri) de lângă butonul **Well Group** (Grup de godeuri) (consultați ilustrația 4) din bara de instrumente.
2. În partea stângă a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), bifați casetă de selectare **VIC**, precum și casetă de selectare **FAM**.
3. Asigurați-vă că toate etapele procesului de analiză (consultați capitolul 7.6.7.1 Corecție de referință până la 7.6.8.1 Excluderea godeurilor care conțin date invalide) au fost finalizate pentru grupul de godeuri al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5.
4. În bara de meniu a ferestrei Data Analysis (Analiza datelor), faceți clic pe **Tools** → **Reports...** (Instrumente → Rapoarte...) pentru a deschide caseta de dialog Report (Raport).

- Asigurați-vă că cel puțin următorul conținut este selectat pentru generarea raportului în partea stângă sus a casetei de dialog Report (Raport) (consultați ilustrația 14):



**Ilustr. 14:** Caseta de dialog Report (Raport)

- Selecțați sau deselecțați conținutul suplimentar al raportului bifând casetele de selectare corespunzătoare, după cum este necesar.
- În bara de meniu a casetei de dialog Report (Raport), faceți clic pe **File** → **Save As...** (Fișier → Salvare ca...) pentru a deschide caseta de dialog Save Report (Salvare raport).
- În caseta de dialog Save Report (Salvare raport), specificați numele și locația fișierului raportului care urmează să fie generat și faceți clic pe **Save** (Salvare).

### 7.6.10.1 Interpretarea manuală a rezultatelor

1. Deschideți fișierul de raport generat pentru grupul de godeuri al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 (consultați capitolul 7.6.10 Exportarea rezultatelor PCR pentru interpretarea manuală a rezultatelor).
2. Consultați tabelul Quantification Data (Date de cuantificare) din raport (consultați ilustrația 15). Tabelul cuprinde 2 rânduri pentru fiecare **Sample** (Probă) – unul pentru **Target** (Target) *HIV* și unul pentru **Target** (Target) *Internal Control* (Control intern).

Quantification Data

Well/Floor	Target	Content	Sample	Biological Set Name	Cq	Cq Mean	Cq Std. Dev	Starting Quantity (SQ)	Log Starting Quantity	SQ Mean	SQ Std. Dev	Well Note
A01	FAM	HIV	NTC   124208051910	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	
A02	FAM	HIV	Unkn   Sample 4   00000004	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
B01	FAM	HIV	Std   HIV QS1   124038051910	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	23.97	23.97	0.000	1.000E+04	4.000	1.00E+04	0.00E+00	
B02	FAM	HIV	Unkn   Sample 5   00000005	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	34.65	34.65	0.000	4.855E+00	0.686	4.85E+00	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
C01	FAM	HIV	Std   HIV QS2   124048051910	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	27.28	27.28	0.000	1.000E+03	3.000	1.00E+03	0.00E+00	
C02	FAM	HIV	Unkn   Sample 6   00000006	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
D01	FAM	HIV	Std   HIV QS3   124058051910	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	30.54	30.54	0.000	1.000E+02	2.000	1.00E+02	0.00E+00	
E01	FAM	HIV	Std   HIV QS4   124068051910	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	33.56	33.56	0.000	1.000E+01	1.000	1.00E+01	0.00E+00	
E02	FAM	HIV	Unkn   Sample 8   00000008	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	28.22	28.22	0.000	4.924E+02	2.692	4.92E+02	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
F01	FAM	HIV	Unkn   Sample 1   00000001	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	26.14	26.14	0.000	2.195E+03	3.341	2.20E+03	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
H01	FAM	HIV	Unkn   Sample 3   00000003	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	N/A	0.00	0.000	N/A	N/A	0.00E+00	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
A01	VIC	Internal Control	NTC   124208051910	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	25.27	25.27	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	
A02	VIC	Internal Control	Unkn   Sample 4   00000004	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	26.08	26.08	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
B02	VIC	Internal Control	Unkn   Sample 5   00000005	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	25.46	25.46	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
C02	VIC	Internal Control	Unkn   Sample 6   00000006	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	25.33	25.33	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
E02	VIC	Internal Control	Unkn   Sample 8   00000008	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	26.25	26.25	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
F01	VIC	Internal Control	Unkn   Sample 1   00000001	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	25.45	25.45	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml
H01	VIC	Internal Control	Unkn   Sample 3   00000003	AltoStar HIV RT-PCR Kit 1.5	25.70	25.70	0.000	N/A	N/A	N/A	0.00E+00	Concentration factor: 80.00 IU/ml

Ilustr. 15: Raport: date de cuantificare

Rezultatele sunt marcate cu un *Concentration factor* (Factor de concentrare) în coloana **Well Note** (Notă referitoare la godeu) din tabelul Quantification Data (Date de cuantificare) (consultați ilustrația 15).

3. Consultați coloana **Starting Quantity (SQ)** [Cantitate inițială (CI)] pentru concentrația targetului HIV măsurată în eluatul pentru **Sample** (Proba) respectivă. Pentru a calcula rezultatul pentru proba inițială a pacientului, valoarea **Starting Quantity (SQ)** [Cantitate inițială (CI)] trebuie înmulțită de utilizator cu *Concentration factor* (Factorul de concentrare) corespunzător (inclusiv unitatea).

## 4. Consultați tabelul 11 pentru interpretarea rezultatelor.

Tabelul 11: Interpretarea rezultatului

Starting Quantity (SQ) [Cantitate inițială (CI)] a targetului HIV	Interpretarea rezultatului
> 0	ARN specifică HIV detectată. Înmulțiți valoarea <b>Starting Quantity (SQ)</b> [Cantitate inițială (CI)] cu <i>Concentration factor</i> (Factorul de concentrare) din coloana <b>Well Note</b> (Notă referitoare la godeu) (inclusiv unitatea) pentru a calcula concentrația probei inițiale a pacientului.
Nu se aplică	Nu a fost detectată nicio ARN specifică HIV. Proba nu conține cantități detectabile de ARN specifică HIV.

## NOTĂ



Rezultatele obținute după înmulțirea cu factorul de concentrație indică încărcătura virală (a probei) în UI/ml. Pentru conversia încărcăturii virale (a probei) în copii/ml, utilizați următorul factor de conversie: 0,48 copii/UI (1 UI = 0,48 copii).

## 8. Date de performanță

Performanța setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 a fost evaluată utilizând al 4-lea Standard Internațional al OMS pentru ARN-ul HIV-1 (cod NIBSC: 16/194; subtipul B), furnizat de NIBSC (Institutul Național pentru Standarde și Controale Biologice), și material viral HIV disponibil comercial, calibrat conform Standardului Internațional al OMS.

## 8.1 Plasmă

### 8.1.1 Sensibilitate analitică

Pentru determinarea limitei de detecție (LD) a fost generată o serie de diluție conformă cu cel de-al 4-lea Standard Internațional al OMS pentru ARN-ul HIV-1 (cod NIBSC: 16/194; subtipul B) în plasmă EDTA, variind de la 5,00E+02 la 1,00E+00 UI/ml.

Fiecare diluție a fost testată în 8 replici în 3 cicluri diferite (total n = 24 per diluție) utilizând combinații de:

- 3 loturi AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5
- 3 loturi AltoStar® Purification Kit 1.5
- 3 loturi AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 instrumente AltoStar® AM16
- 3 instrumente CFX96™ DW Dx

Datele din toate ciclurile au fost combinate și s-a efectuat o analiză probit pentru a determina valoarea LD de 95 %.

**Tabelul 12:** Rezultatele PCR utilizate pentru calcularea sensibilității analitice a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5

Concentrație [UI/ml]	N [total]	N [pozitive]	Rată de succes [%]
5,00E+02	24	24	100
2,00E+02	24	24	100
1,00E+02	24	24	100
8,00E+01	24	24	100
5,00E+01	24	23	96
2,00E+01	24	22	92
1,00E+01	24	15	63
5,00E+00	24	6	25
1,00E+00	24	0	0

LD a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 pentru detectarea HIV în plasmă EDTA este de 30 UI/ml (interval de încredere 95 %: 21-54 UI/ml).

Limita de detecție (LD) pentru subtipurile HIV conținute în grupul M (A, C, D, E, F, G, H, AG), grupul N, precum și în grupul O, a fost confirmată conform protocolului descris în ghidul CLSI EP17-A2 („Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures” – Evaluarea capacității de detecție pentru procedurile de măsurare în laboratorul clinic; Ghid aprobat – Ediția a doua).

Pentru fiecare subtip de HIV, plasma EDTA negativă a fost îmbogățită cu HIV până la o concentrație finală egală cu valoarea LD (30 UI/ml) determinată pentru al 4-lea Standard Internațional al OMS pentru ARN-ul HIV-1 (cod NIBSC: 16/194; subtipul B).

**Tabelul 13:** Confirmarea sensibilității analitice pentru subtipurile de HIV

Subtip HIV	N [total]	N [pozitive]	Rată de succes [%]
A	60	56	93
C	60	55	92
D	60	56	93
E	60	58	97
F	60	54	90
G	60	60	100
H	60	54	90
AG	60	55	92
Grupa N	60	60	100
Grupa O	59*	55	93

\* O probă nu a fost procesată.

Rezultatele au confirmat o limită de detecție (LD) de cel puțin 30 UI/ml pentru subtipurile de HIV conținute în grupul M (A, C, D, E, F, G, H, AG), grupul N, precum și în grupul O.

## 8.1.2 Specificitate analitică

Specificitatea analitică a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este asigurată prin selecția riguroasă a oligonucleotidelor (primeri și sonde). Oligonucleotidele au fost verificate prin analiza comparativă a secvențelor cu secvențele disponibile public, pentru a garanta că toate genotipurile HIV relevante vor fi detectate.

Pentru verificarea specificității analitice a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 au fost efectuate următoarele experimente (consultați capitolele 8.1.2.1 Probe negative până la 8.1.2.3 Reactivitate încrucișată).

### 8.1.2.1 Probe negative

103 probe de plasmă EDTA negative de HIV provenite de la donatori individuali au fost testate cu setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5. Toate probele (103 din 103) au fost testate cu rezultat negativ pentru ARN-ul specific HIV și pozitiv pentru IC. Specificitatea analitică a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 pentru probele de plasmă EDTA este  $\geq 99\%$ .

### 8.1.2.2 Substanțe interferente

Pentru a evalua influența substanțelor endogene și exogene cu potențial de interferență asupra performanței setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5, substanțele selectate au fost adăugate în probe de plasmă EDTA. Aceste probe de plasmă conțineau HIV într-o concentrație de 3 x LD (9,00E+01 UI/ml), 5,00E+03 UI/ml și, respectiv, zero HIV.

Rezultatele obținute pentru probele care conțineau substanțe potențial interferente au fost comparate cu rezultatele generate pentru probele de plasmă EDTA care nu conțineau substanțe interferente adăugați. Fiecare probă a fost prelucrată în 3 replici.

Nu s-au observat interferențe pentru probele care conțineau niveluri ridicate de:

- Substanțe endogene
  - Bilirubină

- Hemoglobină
- ADN genomic uman
- Albumină serică umană
- Trigliceride
  
- Substanțe exogene
  - Abacavir
  - Atazanavir
  - Efavirenz
  - Emtricitabin
  - Lamivudină
  - Raltegravir
  - Tenofovir

În plus, au fost testate probe de plasmă EDTA de la pacienți care suferă de boli autoimune (lupus eritematos sistemic și artrită reumatoidă). Nu s-au observat interferențe în ceea ce privește specificitatea, sensibilitatea și cuantificarea fiabilă.

#### ATENȚIE



Prezența inhibitorilor PCR (de exemplu, heparina) ar putea determina rezultate fals negative sau invalide.

### 8.1.2.3 Reactivitate încrucișată

Specificitatea analitică a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 în ceea ce privește reactivitatea încrucișată cu alți agenți patogeni decât HIV a fost evaluată prin testarea:

- Virusurilor asociate cu HIV
- Virusurilor care provoacă simptome similare cu cele ale unei infecții cu HIV
- Virusurilor care pot fi prezente la pacienții care suferă de o infecție cu HIV

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 nu a prezentat reacții încrucișate cu niciunul dintre următorii agenți patogeni:

- *Candida albicans*
- Citomegalovirus (CMV)
- Virusul hepatitei A (HAV)
- Virusul hepatitei B (HBV)
- Virusul hepatitei C (HCV)
- Virusul herpes simplex 1 (HSV-1)
- Virusul herpes simplex 2 (HSV-2)
- Virusul imunodeficienței umane 2 (HIV-2)
- Virusul T-limfotrop ic uman I (HTLV-I)
- Virusul T-limfotrop ic uman II (HTLV-II)
- Parvovirusul B19

#### ATENȚIE



În cazul în care proba conține alți agenți patogeni în afară de HIV, poate apărea o competiție cu amplificarea targetului sau reacții încrucișate, ceea ce poate duce la rezultate incorecte ale examinării IVD.

### 8.1.3 Interval liniar

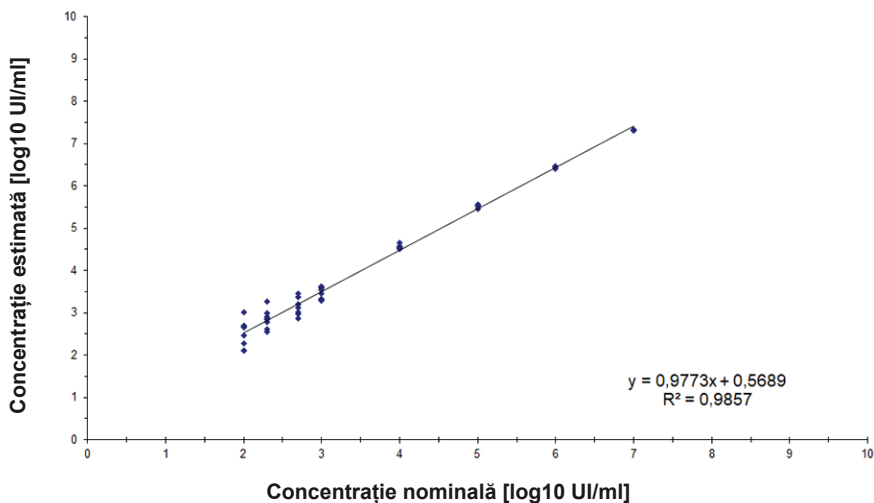
Pentru determinarea intervalului liniar al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5, a fost testată o serie de diluție de HIV în plasmă EDTA cuprinsă între 1,00E+07 și 1,00E+02 UI/ml:

- Diluțiile cu o concentrație cuprinsă între 1,00E+07 și 1,00E+05 UI/ml au fost testate în 4 replici.
- Diluțiile cu o concentrație cuprinsă între 1,00E+04 și 1,00E+02 UI/ml au fost testate în 8 replici.

Analiza a fost efectuată pe baza unei regresii polinomiale.

Intervalul liniar al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 pentru cuantificarea HIV în plasmă EDTA este 1,00E+02-1,00E+07 UI/ml. O reprezentare grafică a datelor este prezentată în ilustrația 16.

### Concentrația estimată log<sub>10</sub> vs. concentrația nominală log<sub>10</sub> a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5



**Ilustr. 16:** Analiza de regresie liniară a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 cu probe de plasmă EDTA

#### 8.1.4 Precizie

Precizia setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 a fost evaluată utilizând un grup format din:

- 1 probă de plasmă EDTA pozitivă cu valori înalte de HIV (5,00E+03 UI/ml)
- 1 probă de plasmă EDTA pozitivă cu valori scăzute de HIV [5,00E+02 UI/ml (5 x limita inferioară de cuantificare (LIC))]
- 1 probă de plasmă EDTA negativă pentru HIV

Fiecare membru al setului a fost testat în cel puțin 4 replici pe ciclu.

Au fost efectuate 5 cicluri pe parcursul a 5 zile diferite, utilizând combinații de:

- 3 loturi AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5
- 3 loturi AltoStar® Purification Kit 1.5

- 3 loturi AltoStar® Internal Control 1.5
- 3 instrumente AltoStar® AM16
- 3 instrumente CFX96™ DW Dx

Repetabilitatea (variabilitatea între cicluri), variabilitatea între loturi și reproductibilitatea (variabilitatea totală) au fost determinate pe baza:

- Valorilor de cuantificare pentru probele pozitive cu valori înalte și scăzute de HIV (consultați tabelul 14)
- Valorilor ciclului de prag ( $C_q$ ) pentru IC din proba negativă pentru HIV (consultați tabelul 15)

**Tabelul 14:** Datele de precizie (CV % pe baza datelor de cuantificare log10) pentru probele de plasmă EDTA pozitive cu valori înalte și scăzute de HIV

	Probă pozitivă cu valori înalte de HIV (5,00E+03 UI/ml)	Probă pozitivă cu valori scăzute de HIV (5,00E+02 UI/ml)
Variabilitate între cicluri	0,35-0,89	1,82-3,21
Variabilitate între loturi	1,49	2,54
Variabilitate totală	1,25	2,92

**Tabelul 15:** Datele de precizie (CV % pe baza valorilor  $C_q$ ) pentru IC în probele de plasmă EDTA negative pentru HIV

	IC
Variabilitate între cicluri	0,27-2,94
Variabilitate între loturi	2,40
Variabilitate totală	3,13

În plus, variabilitatea de la centru la centru a fost evaluată prin testarea grup de probe în 3 laboratoare diferite. Grupul de probe a cuprins probe de plasmă EDTA pozitive de HIV la 3 concentrații diferite [ $5,00E+03$  UI/ml,  $5,00E+02$  UI/ml ( $5 \times$  LIC) și  $9,00E+01$  UI/ml ( $3 \times$  LD)], precum și probe negative de HIV. Rezultatele obținute pentru probele  $5,00E+03$  UI/ml și  $5,00E+02$  UI/ml sunt rezumate în tabelul 16.

**Tabelul 16:** Variabilitatea de la centru la centru a datelor de precizie (CV % pe baza datelor de cuantificare  $\log_{10}$ )

	Probă pozitivă cu valori înalte de HIV ( $5,00E+03$ UI/ml)	Probă pozitivă cu valori scăzute de HIV ( $5,00E+02$ UI/ml)
Variabilitatea de la centru la centru	0,97	2,71

### 8.1.5 Rată totală de eșec

Rezistența setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 a fost evaluată prin testarea a 108 probe de plasmă EDTA negative pentru HIV, provenite de la donatori individuali, îmbogățite cu HIV până la o concentrație finală de  $3 \times$  LD ( $9,00E+01$  UI/ml). 99,1 % (107 din 108) dintre probe au fost testate cu rezultat pozitiv în canalul de detecție a fluorescenței specifice HIV (FAM™).

### 8.1.6 Transfer

Transferul este în mare parte un risc dependent de fluxul de lucru și independent de testul PCR utilizat. Pentru AltoStar® Workflow (flux de lucru) s-a utilizat ca model exemplar setul AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Contaminarea încrucișată potențială prin transferul de la probe pozitive cu valori înalte a fost evaluată prin testarea alternativă a probelor pozitive cu valori înalte pentru parvovirusul B19 ( $1,00E+07$  UI/ml) și a probelor negative ( $n = 23$  fiecare per ciclu; 5 de cicluri) cu setul AltoStar® Parvovirus B19 PCR Kit 1.5. Nu s-a observat niciun caz de transfer, adică toate probele negative pentru parvovirusul B19 au avut rezultate negative.

### 8.1.7 Performanță clinică

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 a fost evaluat într-un studiu comparativ cu testul cobas® HIV-1 test marcat CE (Roche). Retrospectiv, 244 de probe de plasmă EDTA din monitorizarea de rutină a HIV au fost testate în paralel cu testul cobas® HIV-1 test marcat CE (Roche) și setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5.

Testul cobas® HIV-1 test (Roche) a fost utilizat în combinație cu sistemul cobas® 6800 system (Roche).

Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 a fost utilizat în combinație cu setul AltoStar® Purification Kit 1.5 și AltoStar® Internal Control 1.5 pe sistemul de automatizare AltoStar® AM16 și CFX96™ DW Dx.

Pentru analiza sensibilității și specificității diagnostice au fost utilizate 238 de probe valide. Rezultatele sunt afișate în tabelul 17.

**Tabelul 17:** Rezultatele evaluării sensibilității și specificității diagnosticului pentru HIV în probele de plasmă EDTA

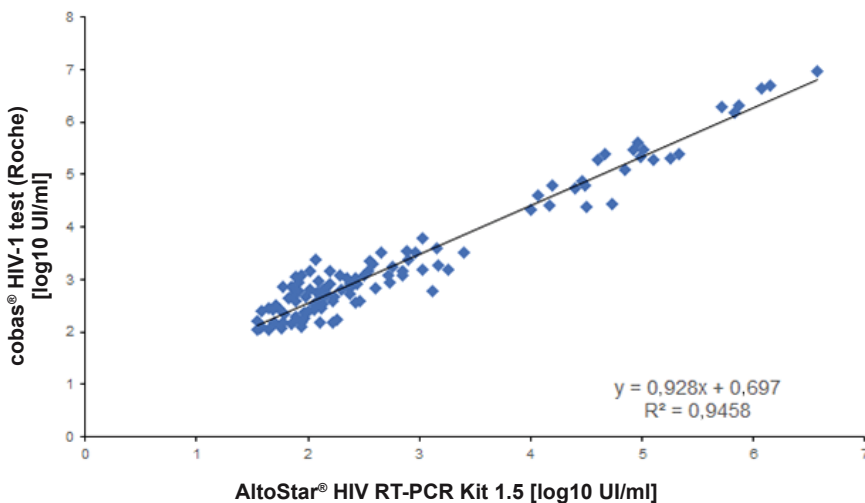
		cobas® HIV-1 test (Roche)	
		POZITIVĂ	NEGATIVĂ
AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5	POZITIVĂ	140	1
	NEGATIVĂ	6	91

Sensibilitatea și specificitatea de diagnosticare a setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 comparativ cu testul cobas® HIV-1 test (Roche) au fost de 96 % (interval de încredere între 91,3 % și 98,5 %) și, respectiv, 99 % (interval de încredere între 94,1 % și 99,9 %).

Pentru corelația cantitativă, probele cu rezultat negativ la unul sau ambele teste și probele cu un rezultat cantitativ sub LIC la unul sau ambele teste au fost excluse.

Rezultatele celor 116 de probe rămase au fost utilizate pentru corelația cantitativă prin analiză de regresie liniară (consultați ilustrația 17).

### cobas® HIV-1 test (Roche) comparativ cu AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5



**Ilustr. 17:** Analiza de regresie liniară a rezultatelor obținute cu testul cobas® HIV-1 test (Roche) (referință) și setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5

A existat o corelație foarte bună între rezultatele cantitative obținute cu setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 și testul cobas® HIV-1 test (Roche) [coeficient de corelație  $R = 0,97$  ( $R^2 = 0,95$ )].

## 9. Depozitare

Depozitați deșeurile periculoase și biologice în conformitate cu reglementările locale și naționale. Componentele rămase ale produsului și deșeurile nu trebuie lăsate să ajungă în canalizare, cursuri de apă sau în sol.

### ATENȚIE



Tratați întotdeauna probele ca material infecțios și periculos (biologic), conform procedurilor de siguranță și de laborator. Pentru vărsările de material de probă, utilizați imediat un dezinfectant adecvat. Manevrați materialele contaminate ca fiind periculoase biologic.

### ATENȚIE



Eliminarea deșeurilor periculoase și biologice trebuie să fie conformă cu reglementările locale și naționale, pentru a evita contaminarea mediului.

### NOTĂ



Placa PCR trebuie eliminată în stare sigilată, deoarece folia de sigilare a plăcii PCR nu poate fi îndepărtată.

## 10. Controlul calității

În conformitate cu sistemul de management al calității al Altona Diagnostics GmbH certificat EN ISO 13485, fiecare lot al setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este testat conform specificațiilor predefinite pentru a asigura o calitate constantă a produsului.

## 11. Asistență tehnică

Pentru ajutor pentru clienți, contactați asistența tehnică altona Diagnostics:

**e-mail:** support@altona-diagnostics.com

**telefon:** +49-(0)40-5480676-0

### NOTĂ



Orice incident grav care a avut loc în legătură cu acest produs trebuie raportat către altona Diagnostics și autoritatea competentă din țara dvs.

## 12. Literatura de specialitate

- [1] Zhou H, et al., "Genome-Scale RNAi Screen for Host Factors Required for HIV Replication". Cell Host & Microbe. 2008 Nov 13; Vol. 4, Issue 5, pp. 495-504.
- [2] Rambaut A, et al. "The causes and consequences of HIV evolution". Nature Reviews Genetics. 2004 Jan 4; Vol. 5, Issue 1, pp. 52-61.
- [3] Weiss RA. "How does HIV cause AIDS?" Science. 1993 May 28; Vol. 260, Issue 5112, pp. 1273-1279.
- [4] Joint United Nations Programme on AIDS/HIV (UNAIDS). UN AIDS Data 2019. Available at [https://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/2019-UNAIDS-data\\_en.pdf](https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2019-UNAIDS-data_en.pdf) (2019), accessed September 26, 2019.
- [5] Eisinger R et al. "HIV viral load and transmissibility of HIV infection: Undetectable equals untransmittable". JAMA. 2019 Feb 5, Vol. 321, Issue 5, pp. 451-452.
- [6] Miedema, et al. "AIDS pathogenesis: a dynamic interaction between HIV and the immune system". Trends in Immunology. 1990 Aug, Vol. 11, Issue 8, pp. 293-297.
- [7] Deeks SG, et al. "The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease". Lancet. 2013 Nov 2, Vol. 382, Issue 9903, pp. 1525-1533.

### 13. Mărcile comerciale și declinările de răspundere

4s3™ (4titude); AltoStar® (altona Diagnostics); CFX96™, CFX Manager™ (Bio-Rad); LOINC® (Regenstrief Institute, Inc.); cobas® (Roche); FAM™, VIC™ (Thermo Fisher Scientific).

Numele, mărcile comerciale etc. înregistrate utilizate în acest document, chiar dacă nu sunt marcate în mod specific ca atare, nu trebuie considerate neprotejate de lege.













Setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 este un set de diagnostic marcat CE conform directivei europene pentru diagnostic *in vitro* 98/79/CE.







Produs nelicențiat de Health Canada și neaprobat sau neautorizat de FDA.

Nu este disponibil în toate țările.

© 2026 altona Diagnostics GmbH; toate drepturile rezervate.

## 14. Simboluri

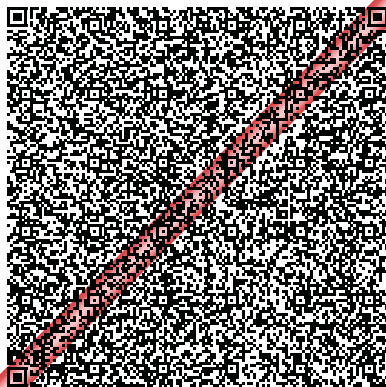
Simbol	Explicație
	Dispozitiv medical pentru diagnostic <i>in vitro</i>
	Numărul articolului comercial global
	Codul lotului
	Conținut
	Culoare capac
	Număr de catalog
	Număr
	Componentă
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	Conținut suficient pentru „n” teste/reacții (rxns)
	Limită de temperatură
	Data expirării

Simbol	Explicație
	Producător
	Atenție
	Numărul materialului
	Versiune
	Notă
	Conține material biologic de origine animală

## 15. Protocol de testare pentru AltoStar® Connect software și informații pentru integrarea în LIMS

Codul de bare 2D din ilustrația 18 trebuie utilizat pentru instalarea celui mai recent protocol de testare pentru utilizarea setului AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5 cu sistemul de automatizare AltoStar® AM16. Codul de bare poate fi scanat numai în formă tipărită. Puteți scana codul de bare direct din manual sau îl puteți imprima pe o foaie separată. Vă rugăm să rețineți că dimensiunea tipăririi afectează capacitatea de scanare a codului de bare. Asigurați-vă că scalați dimensiunea la 100 %. Pentru scanare, îndreptați scannerul către linia roșie de pe codul de bare. Pentru detalii privind gestionarea protocoalelor de testare, consultați capitolul corespunzător din instrucțiunile de utilizare ale software-ului AltoStar® Connect software. Pentru informații privind integrarea în LIMS, consultați tabelul 19.

AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5



**Protocol Version:**

Checksum: 0F53F22C7C7F8FBED3323E149972CBA93CF68953

**1**

**Ilustr. 18:** Codul de bare al protocolului de testare pentru setul AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5

**Tabelul 18:** Istoricul modificărilor pentru protocolul de testare

Versiunea protocolului	Actualizări ale versiunilor
1	Versiunea inițială

**Tabelul 19:** Informații pentru integrarea în LIMS

Utilizare	Date
Ordinea de testare (LIMS → sistem de automatizare AltoStar® AM16)	AltoStar® HIV RT-PCR Kit 1.5
Rezultatul testului (CFX96™ DW Dx → LIMS) unitate	IU/ml
Rezultatul testului (CFX96™ DW Dx → LIMS) canalul 1	HIV
Rezultatul testului (CFX96™ DW Dx → LIMS) canalul 2	Internal Control

Pentru LOINC® (Logical Observation Identifiers Names and Codes) vă rugăm să consultați site-ul [altona Diagnostics GmbH \(www.altona-diagnostics.com\)](http://www.altona-diagnostics.com) sau să contactați asistența tehnică [altona Diagnostics](http://www.altona-diagnostics.com) (consultați capitolul 11. Asistență tehnică).

## 16. Istoricul revizuirilor

**Tabelul 20:** Istoricul revizuirilor

Identificator	Data emiterii [lună/an]	Modificări
MAN-AS0221510-RO-S01	03/2025	Versiunea inițială

**pagina a fost lăsată în mod intenționat necompletată**



**always a drop ahead.**

altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

**[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)**

