

Abbott RealTime HIV-1

(Набір реагентів для ампліфікації
Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit)

uk

Abbott RealTime HIV-1



REF 02G31-010

G33786R09

B2G3BU

ПРИМІТКА: ЗМІНИ ВИДІЛЕНО СІРИМ

Умовні позначення

REF	Каталожний номер/Номер за каталогом
LOT	Номер партії/Код партії
IVD	Медичний виріб для діагностики in vitro
In Vitro Test	Тест in vitro
	Використати до
	Вмісту вистачить на <n> тестів
CONTROL -	Негативний контроль
CONTROL L	Позитивний контроль низької концентрації
CONTROL H	Позитивний контроль високої концентрації
CAL A	Калібратор А
CAL B	Калібратор В
INTERNAL CONTROL	Внутрішній контроль
AMPLIFICATION REAGENT PACK	Набір реагентів для ампліфікації
	Максимально дозволений час
	Верхня межа температури
	Дивіться інструкцію з використання
	Засторога! Ознайомитися із супровідними документами
	Попередження
EC REP	Уповноважений представник Європейського Союзу
	Виробник
GTIN	Глобальний номер товару
uk	Мова (українська)
CE	Знак відповідності ЄС
	Знак відповідності технічним регламентам

Детальний опис умовних позначень назв компонентів реагентів дивіться в розділі «РЕАГЕНТИ».

ІНФОРМАЦІЯ ДЛЯ КОРИСТУВАЧА

Якщо дії, пов'язані з використанням даного виробу, призвели до серйозного інциденту, то про це потрібно повідомити виробника або відповідні уповноважені органи держави, де знаходиться користувач та/або пацієнт. Щоб повідомити виробника, див. контактну інформацію, надану у розділі «Служба підтримки» чи «Технічна підтримка» даної інструкції з використання.

МІЖНАРОДНА СЛУЖБА ПІДТРИМКИ: ЗВЕРНІТЬСЯ ДО МІСЦЕВОГО ПРЕДСТАВНИКА КОМПАНІЇ АБВОТТ

Перед використанням уважно прочитайте дану інструкцію з використання. Дотримуйтесь вказівок, зазначених у даній інструкції з використання. При будь-якому відхиленні від вказівок даної інструкції з використання достовірність результатів аналізу не гарантується.

НАЗВА

Abbott RealTime HIV-1

ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз Abbott RealTime HIV-1 призначений для проведення полімеразної ланцюгової реакції зі зворотною транскрипцією (ЗТ-ПЛР) в умовах in vitro з метою кількісного визначення вірусу імунодефіциту людини типу 1 (ВІЛ-1) у зразках цільної крові методом сухої краплі крові (dried blood spots - DBS) (при заборі крові з вени чи капілярної крові) або у плазмі крові ВІЛ-1-інфікованих осіб. Аналіз Abbott RealTime HIV-1 призначений для використання в поєднанні з клінічними проявами та іншими лабораторними маркерами як індикатор прогнозу захворювання, а також в якості допоміжного тесту при оцінці вірусної відповіді на антиретровірусну терапію, що визначається за зміною рівнів РНК ВІЛ-1 у плазмі крові чи зразках DBS. Даний аналіз не призначений для використання в якості скринінгового тесту для виявлення ВІЛ-1 або в якості діагностичного тесту для підтвердження наявності ВІЛ-1 інфекції.

ЦІЛЬОВИЙ КОРИСТУВАЧ

Цільові користувачі аналізу Abbott RealTime HIV-1 - лабораторії та медичні працівники.

КОРОТКИЙ ОПИС ТЕСТУ

Вірус імунодефіциту людини (ВІЛ) є етіологічним фактором синдрому набутого імунодефіциту (СНІД).¹⁻³ Він може передаватися при статевому контакті, контакт з зараженою кров'ю або препаратами крові або від інфікованої матері до плоду.⁴ Гострий ВІЛ-синдром, що характеризується грипоподібними симптомами, розвивається через 3-5 тижнів після первинного інфікування і пов'язаний з високими рівнями віремії.^{5,6} Протягом 4-6 тижнів після появи симптомів захворювання можна виявити характерну для ВІЛ імунну відповідь.^{7,8} Після сероконверсії вірусне навантаження в периферичній крові знижується і більшість пацієнтів переходить до безсимптомної фази, яка може тривати роками.⁹

Кількісне визначення рівнів ВІЛ у периферичній крові вносить значний вклад у розуміння патогенезу ВІЛ-інфекції^{10,11} і, як було показано, є основним параметром у прогнозі та лікуванні ВІЛ-інфікованих осіб.¹²⁻¹⁷ Рішення стосовно початку антиретровірусної терапії або внесення в неї змін супроводжується контролем рівнів РНК ВІЛ плазми крові чи зразків DBS (вірусного навантаження), кількості Т-клітин CD4+ та клінічного стану пацієнта.¹⁷⁻¹⁹ Мета антиретровірусної терапії – зниження рівнів ВІЛ у плазмі крові чи зразках DBS до рівнів, нижчих за ті, що виявляються доступними тестами для визначення вірусного навантаження.^{17,20}

Рівні РНК ВІЛ у плазмі крові чи зразках DBS можуть бути кількісно визначені за допомогою технологій ампліфікації нуклеїнових кислот та посилення сигналу.¹⁹⁻²³ В основу аналізу з використанням

аналізу Abbott RealTime HIV-1 покладена технологія полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) з гомогенною флуоресцентною детекцією в режимі «реального часу». Частково дволанцюговий дизайн флуоресцентного зонду дозволяє виявити різноманітні субтипи групи М та ізоляти групи О. Аналіз стандартизований на підставі вірусного стандарту²⁴ представленого Вірусологічною лабораторією з оцінки якості (VQA) Групи з клінічних досліджень СНІДу та на підставі 1-го Міжнародного стандарту РНК ВІЛ-1 (97/656)^{25,26} Міжнародної організації охорони здоров'я (ВООЗ). Результати аналізу можуть виражатись у копіях/mL або в Міжнародних одиницях/mL (IU/mL) чи їх еквіваленті в log₁₀.

БІОЛОГІЧНІ ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРИ

Аналіз Abbott RealTime HIV-1 складається з трьох наборів реагентів:

- Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit
- Набір контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit
- Набір калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit

Аналіз Abbott RealTime HIV-1 використовує ЗТ-ПЛР²⁷ для генерації ампліфікованого продукту з РНК геному ВІЛ-1, виявленого в клінічних зразках. На початку процесу пробопідготовки до кожного зразка вноситься РНК-послідовність, неспоріднена з послідовністю-мішенню ВІЛ-1. Ця неспоріднена РНК-послідовність одночасно ампліфікується за допомогою ЗТ-ПЛР і виступає в якості внутрішнього контролю (ВК), щоб показати, що процес ампліфікації проходить правильно для кожного зразка. Кількість послідовностей-мішеней ВІЛ-1, присутніх в кожному циклі ампліфікації, вимірюється за допомогою флуоресцентно-мічених олігонуклеотидних зондів на аналізаторі Abbott m2000rt. Зонди не генерують сигнал до того часу, доки вони певним чином не зв'язуються з продуктом ампліфікації. Цикл ампліфікації, на якому флуоресцентний сигнал реєструється аналізатором Abbott m2000rt є пропорційним логарифму концентрації РНК ВІЛ-1, що присутня у вихідному зразку.

Підготовка зразків

Мета підготовки зразків полягає в екстракції та концентрації цільових молекул РНК, щоб досягти цільового рівня, що піддається ампліфікації, та у видаленні потенційних інгібіторів ампліфікації з екстракту.

У наборі Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) використовується технологія магнітних частинок з метою захоплення нуклеїнових кислот і відмивання частинок для видалення незв'язаних компонентів зразка. Зв'язані нуклеїнові кислоти піддаються процесу елюції та переносяться в реакційні пробірки або в планшет на 96 глибоких лунок. Після цього нуклеїнові кислоти готові для проведення реакції ампліфікації. Внутрішній контроль (ВК) використовується впродовж всього етапу пробопідготовки разом з калібраторами, контролями та зразками.

Підготовку зразків до аналізу Abbott RealTime HIV-1 можна проводити на двох автоматизованих системах: Abbott m2000sp чи Abbott m1000. Система Abbott m2000sp забезпечує автоматичне перенесення елюату зразків та збирання компонентів реакції в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, в той час як система Abbott m1000 вимагає ручного перенесення елюату зразків та збирання компонентів реакції.

Зразки можна також підготувати вручну з використанням Abbott mSample Preparation System з подальшим збиранням компонентів реакції вручну.

Підготовка реагентів і реакційних планшетів

Аналізатор Abbott m2000sp поєднує компоненти для проведення реакції ампліфікації, що використовуються в аналізі Abbott RealTime HIV-1 (реагент з олігонуклеотидами HIV-1 Oligonucleotide Reagent, термостабільну полімеразу Thermostable rTth Polymerase Enzyme і реагент активації Activation Reagent). Потім аналізатор Abbott m2000sp вносить отриманий мастер-мікс в оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate разом з аликвотами зразків нуклеїнових кислот, підготовлених на аналізаторі Abbott m2000sp. Після ручного запечаткування планшета оптичною плівкою він готовий для перенесення в аналізатор Abbott m2000rt.

Користувачі аналізатора Abbott m1000 та користувачі методу ручної пробопідготовки поєднують компоненти для проведення реакції ампліфікації, що використовуються в аналізі Abbott RealTime HIV-1 вручну, щоб отримати мастер-мікс для проведення реакції ампліфікації та переносять аликвоти мастер-міксу та елюати зразків у реакційний планшет. Після ручного запечаткування планшета оптичною плівкою та центрифугування він готовий до перенесення в аналізатор Abbott m2000rt.

Ампліфікація

Під час реакції ампліфікації, що проходить в аналізаторі Abbott m2000rt, РНК-мішень перетворюється в кДНК за участю термостабільної ДНК-полімеразі rTth зі зворотною транскриптазною активністю. Спочатку зворотні праймери для виявлення ВІЛ-1 і ВК відпалюються зі своїми відповідними мішеннями та подовжуються під час тривалого періоду інкубації. Після етапу денатурації, під час якого температура реакції піднімається вище точки плавлення дволанцюгових кДНК:РНК, другий праймер відпалюється на кДНК-ланцюг та подовжується за участю ферменту rTth з ДНК-полімеразною активністю до утворення дволанцюгової ДНК.

Під час кожного циклу зміни температури продукти ампліфікації дисоціюють до одностанцюгових при високій температурі, що призводить до відпалювання праймерів та подовження при зниженій температурі. Експоненціальна ампліфікація продукту досягається за рахунок повторення циклів високих і низьких температур, що призводить до збільшення кількості копій послідовностей-мішеней в мільярди або більше разів. Ампліфікація обох мішеней (ВІЛ-1 і ВК) відбувається одночасно в одній і тій же реакції.

Послідовність-мішень аналізу Abbott RealTime HIV-1 знаходиться в області гену *pol*, що кодує синтез інтегрази, геному ВІЛ-1. Ця область є висококонсервативною.²⁸ Праймери призначені для проведення гібридизації в області гену *pol*, що кодує синтез інтегрази, з найменшою кількістю можливих невідповідностей між різними підтипами.

Послідовність-мішень ВК походить з гену гідроксипіруват редуکتаси, отриманої з гарбуза *Cucurbita pepo*, і входить до складу частинок захищеної РНК Armored RNA[®], розведеної негативною плазмою крові людини.

Детекція

Під час циклів зчитування результатів ампліфікації аналізатором Abbott m2000rt температура в подальшому знижується, сприяючи детекції флуоресцентного сигналу ампліфікаційних продуктів, що відбувається в міру того, як зонди ВІЛ-1 і ВК відпалюються зі своїми відповідними мішеннями (флуоресцентна детекція в «реальному часі»). Зонд ВІЛ-1 несе флуоресцентну мітку, ковалентно зв'язану з 5'-кінцем. Короткий олігонуклеотид (олігонуклеотид-гаситель) є комплементарним до 5'-кінця зонду ВІЛ-1 і несе молекулу-гаситель на своєму 3'-кінці. У разі відсутності послідовності-мішеней ВІЛ-1 флуоресценція зонду ВІЛ-1 гаситься шляхом гібридизації з олігонуклеотидом-гасителем. У разі наявності послідовності-мішеней ВІЛ-1 зонд ВІЛ-1 гібридується переважно з послідовністю-мішенню, відокремлюючись від олігонуклеотиду-гасителя, що призводить до детекції флуоресцентного сигналу.

Зонд ВК являє собою одностанцюговий ДНК-олігонуклеотид з флуорофором на 5'-кінці та гасителем на 3'-кінці. При відсутності послідовностей-мішеней ВК флуоресценція зонду гаситься. У разі наявності послідовностей-мішеней ВК гібридизація зонду з комплементарними послідовностями призводить до відокремлення флуорофору і гасителя, що призводить до емісії та детекції флуоресцентного сигналу.

Специфічні зонди ВІЛ-1 і ВК позначені кожен різним флуорофором, що дозволяє проводити одночасну детекцію обох ампліфікованих продуктів у кожному циклі. Цикл ампліфікації, на якому флуоресцентний сигнал реєструється аналізатором Abbott m2000rt, є пропорційним логарифму концентрації РНК ВІЛ-1, що присутня у вихідному зразку.

Додаткова функція пролонгованого використання реагентів для ампліфікації

Огляд даної функції наведено в Додатку 1 даної інструкції з використання.

Додаткова опція пролонгованого використання реагентів для ампліфікації дозволяє зберігати набори реагентів для ампліфікації, що містять підготовлені мастер-мікси, при температурі від -25 до -15°C, закритими, в захищеному від світла місці, протягом 7 днів до другого використання. Внутрішній контроль (ВК) може бути використаний повторно протягом 14 днів, якщо флакон залишався закритим при температурі від -25 до -15°C до другого використання. Додаткова опція пролонгованого використання реагентів для ампліфікації може застосовуватися до зразків підготованих на аналізаторі m2000sp. Набори реагентів для ампліфікації та ВК можуть використовуватися не більше 2 разів. У даній інструкції набори реагентів для ампліфікації та ВК, які ще не використовувались, називаються **новими** наборами реагентів для ампліфікації та ВК (тобто перше використання). Набори реагентів для ампліфікації, що вже один раз використовувались

і містять підготовлений мастер-мікс, називаються **неповними** наборами реагентів для ампліфікації. Флакони ВК, що вже один раз використовувались, називаються **неповними** флаконами ВК.

ЗАПОБІГАННЯ КОНТАМІНАЦІЇ НУКЛЕІНОВИМИ КИСЛОТАМИ

Можливість контамінації нуклеїновими кислотами зводиться до мінімуму, оскільки:

- Реакція зворотної транскрипції, ампліфікація ПЛР та гібридизація олігонуклеотидів проходять в запечатаному Оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
- Детекція здійснюється автоматично без необхідності відкривати Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.
- Піпетування здійснюється піпетками з наконечниками з аерозольним фільтром чи одноразовими піпетками для перенесення. Одноразові піпетки чи наконечники піпеток утилізуються після використання.
- Для проведення аналізу Abbott RealTime HIV-1 використовуються окремі, ретельно ізольовані зони. Дивіться розділ «СПЕЦІАЛЬНІ ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ» даної інструкції з використання.

РЕАГЕНТИ

Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (кат. № 02G31-010)

1. **INTERNAL CONTROL** Внутрішній контроль Abbott RealTime HIV-1 Internal Control (кат. № 2G31Y0002) (4 флакони по 1.2 mL)
 - < 0.01% неінфекційної захищеної РНК (Armored RNA) з послідовностями внутрішнього контролю в негативній плазмі крові людини. Негативна плазма крові людини протестована і визнана такою, що не містить антигену HBsAg, РНК ВІЛ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 та антитіл до ВГС. Консерванти: 0.1% ProClin 300 і 0.15% ProClin 950.
2. **AMPLIFICATION REAGENT PACK** Упаковка реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Pack (кат. № 2G31) (4 упаковки по 24 тести/упаковку)
 - 1 флакон (0.141 mL) із термостабільною полімеразою Thermostable rTth Polymerase Enzyme (2.9-3.5 Одиниць/μL) в буферному розчині.
 - 1 флакон (1.10 mL) з реагентом з олігонуклеотидами ВІЛ-1. < 0.1% синтетичних олігонуклеотидів (4 праймери, 2 зонди та 1 олігонуклеотид-гаситель) і < 0.3% дезоксинуклеозидтрифосфату (дНТФ) в буферному розчині з референтним барвником. Консерванти: 0.1% ProClin 300 і 0.15% ProClin 950.
 - 1 флакон (0.40 mL) Реагенту активації Activation Reagent. 30 mM розчин хлориду марганцю. Консерванти: 0.1% ProClin 300 та 0.15% ProClin 950.

ПРИМІТКА: для застосування функції пролонгованого використання реагенту для ампліфікації слід використовувати набір реагенту з 6-значним реєстраційним номером над штрих-кодом.

Набір контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (кат. № 2G31-80)

1. **CONTROL⁻** Негативний контроль Abbott RealTime HIV-1 Negative Control (кат. № 2G31Z) (8 флаконів по 1.8 mL/флакон) Негативна плазма крові людини протестована і визнана такою, що не містить антигену HBsAg, РНК ВІЛ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 та антитіл до ВГС. Консерванти: 0.1% ProClin 300 та 0.15% ProClin 950.
2. **CONTROL^L** Позитивний контроль низької концентрації Abbott RealTime HIV-1 Low Positive Control (кат. № 2G31W) (8 флаконів по 1.8 mL/флакон) Неінфекційна захищена РНК (Armored RNA) з послідовностями ВІЛ-1 в негативній плазмі крові людини. Негативна плазма крові людини протестована і визнана такою, що не містить антигену HBsAg, РНК ВІЛ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 та антитіл до ВГС. Консерванти: 0.1% ProClin 300 і 0.15% ProClin 950.
3. **CONTROL^H** Позитивний контроль високої концентрації Abbott RealTime HIV-1 High Positive Control (кат. № 2G31X) (8 флаконів по 1.8 mL/флакон). Неінфекційна захищена РНК (Armored RNA) з послідовностями ВІЛ-1 в негативній плазмі крові людини. Негативна плазма крові людини протестована і визнана такою, що не містить антигену HBsAg, РНК ВІЛ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 та антитіл до ВГС. Консерванти: 0.1% ProClin 300 і 0.15% ProClin 950.

Набір калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (кат. № 2G31-70)

1. **CAL^A** Калібратор Abbott RealTime HIV-1 (Calibrator A кат. № 2G31A) (12 флаконів по 1.8 mL/флакон). Неінфекційна захищена РНК (Armored RNA) з послідовностями ВІЛ-1 в негативній плазмі крові людини. Негативна плазма крові людини протестована і визнана такою, що не містить антигену HBsAg, РНК ВІЛ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 та антитіл до ВГС. Консерванти: 0.1% ProClin 300 і 0.15% ProClin 950.
2. **CAL^B** Калібратор Abbott RealTime HIV-1 Calibrator B (кат. № 2G31B) (12 флаконів по 1.8 mL/флакон). Неінфекційна захищена РНК (Armored RNA) з послідовностями ВІЛ-1 в негативній плазмі крові людини. Негативна плазма крові людини протестована і визнана такою, що не містить антигену HBsAg, РНК ВІЛ, РНК ВГС, ДНК ВГВ, антитіл до ВІЛ-1/ВІЛ-2 та антитіл до ВГС. Консерванти: 0.1% ProClin 300 і 0.15% ProClin 950.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

IVD

Для діагностики in vitro

Даний аналіз не призначений для використання в якості скринінгового тесту для виявлення ВІЛ-1 або в якості діагностичного тесту для підтвердження наявності ВІЛ-1 інфекції.

Заходи безпеки

Інструкції з техніки безпеки дивіться у розділі «Safety» (Заходи безпеки) Інструкції з експлуатації Abbott m1000, розділі «Handling Precaution» (Запобіжні заходи при роботі з аналізом) інструкції з пробідготовки при роботі з аналізом Abbott RealTime RNA або у розділі «Hazard» (Види потенційної небезпеки) Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp і Abbott m2000rt.



УВАГА: даний продукт містить біоматеріали людини та/або потенційно інфекційні компоненти. Компоненти, отримані з крові людини, були протестовані за допомогою FDA-ліцензованих тестів і визнані такими, що не містять антитіл до ВГС, антитіл до ВІЛ-1, антитіл до ВІЛ-2 та HBsAg-антигену. Матеріал також був протестований за допомогою FDA-ліцензованих ПЛР-методів і визнаний таким, що не містить РНК ВІЛ-1 та РНК ВГС. Жоден з відомих методів аналізу не може дати повної гарантії стосовно того, що продукти, отримані від людини, або продукти, що містять інактивовані мікроорганізми, не здатні переносити інфекцію. Працювати з цими реагентами та зразками, отриманими від людини, необхідно як з інфекційними, використовуючи лабораторні процедури з безпеки, такі як ті, що викладені в «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» (Біологічна безпека в мікробіологічних та біомедичних лабораторіях)²⁹, OSHA Standards on Bloodborne Pathogens (Стандарти роботи з патогенами крові OSHA),³⁰ CLSI M29-A3 (Документ M29-A3 CLSI),³¹ а також інші відповідні методи забезпечення біобезпеки.³² Тому всі матеріали людського походження слід розглядати як інфекційні.

Ці заходи безпеки включають, окрім іншого, наступне:

- При роботі зі зразками чи реагентами потрібно одягати рукавички.
- Забороняється піпетувати ротом.
- У місця роботи з даними матеріалами забороняється їсти, пити, палити, наносити косметику або знімати чи одягати контактні лінзи.
- Очищайте і дезінфікуйте місця розлиття зразків з використанням протитуберкульозних дезінфікуючих засобів, таких як 1.0% гіпохлорит натрію або іншого дезінфікуючого засобу.²⁹
- Дезінфікуйте та утилізуйте всі потенційно інфекційні матеріали відповідно до нормативних вимог місцевих, державних і федеральних організацій.³²

Компоненти Набору калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (кат. № 2G31-70), Набору контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (кат. № 2G31-80), Реагент з олігонуклеотидами HIV-1 Oligonucleotide Reagent, Внутрішній контроль HIV-1 Internal Control та Реагент активації Activation Reagent містять наступні компоненти:

- 2-метил-2Н-ізотиазол-3-он (ЕС № 220-239-6)
- Реакційна маса: 5-хлоро-2-метил-4-ізотиазолін-3-он (ЕС № 247-500-7) і 2-метил-2Н-ізотиазол-3-он (ЕС № 220-239-6)(3:1)
- Реакційна маса: 5-хлоро-2-метил-4-ізотиазолін-3-он (ЕС № 247-500-7) і 2-метил-4-ізотиазолін-3-он (ЕС № 220-239-6)(3:1)

Зверніть увагу на наступні попередження:



Попередження

H317	Може викликати алергічну реакцію шкіри.
P261	Уникати вдихання туману/випарів/аерозолу.
P272	Не виносити забруднений робочий одяг з робочого місця.
P280	Користуватись захисними рукавичками/захисним одягом/захистом для очей.
P302+P352	ПРИ ПОТРАПЛЯННІ НА ШКІРУ: промити великою кількістю води.
P333+P313	При подразненні шкіри чи появі висипу: звернутись до лікаря.
P362+P364	Зняти забруднений одяг і випрати його перед наступним використанням.
P501	Утилізувати вміст/контейнер згідно місцевих нормативних вимог.

СПЕЦІАЛЬНІ ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

Заходи безпеки при роботі зі зразками плазми крові пацієнтів

Аналіз Abbott RealTime HIV-1 призначений виключно для роботи зі зразками плазми крові, що використовувалися та зберігалися в закритих кришках пробірках, як описано в розділі «ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ ДО МІСЦЯ ТЕСТУВАННЯ».

Заходи безпеки при роботі зі зразками DBS

Аналіз Abbott RealTime HIV-1 призначений виключно для роботи зі зразками цільної крові чи зразками DBS, що використовувалися та зберігалися, як описано в розділі «ЗАБІР, ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ ЗРАЗКІВ ДО МІСЦЯ ТЕСТУВАННЯ».

При підготовці зразків дотримуйтеся належної лабораторної практики, щоб звести до мінімуму ризик перехресної контамінації зразків і випадкового введення рибонуклеаз (РНКаз) у зразки під час і після процедури екстракції. При роботі з РНК потрібно завжди використовувати відповідні методи асептики.

Методи ампліфікації, такі як ПЛР, чутливі до випадкового введення продукту з попередніх реакцій ампліфікації. Причиною некоректних результатів можуть стати реагенти або клінічні зразки, що були контаміновані шляхом випадкового введення навіть кількох молекул продукту ампліфікації. Заходи зі зниження ризику контамінації в лабораторії включають фізичне розділення процесів, що беруть участь у проведенні ПЛР, та дотримання належної лабораторної практики.

Робочі зони

При проведенні аналізу Abbott RealTime HIV-1 на аналізаторі Abbott m1000 або при ручній пробопідготовці з використанням Abbott mSample Preparation System та Abbott m2000rt потрібно виділити в лабораторії три спеціальні зони:

- **Зона підготовки реагентів** призначена для приготування з компонентів набору реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 мастер-міксу для проведення реакції ампліфікації і для внесення аликвот мастер-міксу в реакційний планшет. Лабораторні халати, піпетки, наконечники піпеток та вортекси, що використовуються в зоні підготовки реагентів, повинні залишатись в її межах і не переноситись до зони підготовки зразків чи зони ампліфікації.
- **Зона підготовки зразків** призначена для роботи зі зразками (зразками пацієнтів, контролями Abbott RealTime HIV-1 Controls та калібраторами Abbott RealTime HIV-1 Calibrators), а також для внесення оброблених зразків, контролів і калібраторів в оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. **Всі реагенти, що використовуються в зоні підготовки зразків, повинні завжди залишатись в її межах. Лабораторні халати, піпетки, наконечники піпеток та вортекси, що використовуються в зоні підготовки зразків, повинні залишатись в її межах і не переноситись до зони підготовки реагентів чи зони ампліфікації. Не заносьте продукт ампліфікації у зону підготовки зразків.**
- **Зона ампліфікації** призначена для процесів ампліфікації та детекції продуктів ампліфікації. Лабораторний одяг і обладнання, що використовуються в зоні ампліфікації повинні залишатись в її межах і не переноситись до зони підготовки реагентів чи зони підготовки зразків.

При роботі з аналізаторами Abbott m2000sp та Abbott m2000rt рекомендується використання тільки двох вказаних зон – зони підготовки зразків і зони ампліфікації.

Компоненти, що входять до складу набору, призначені для сумісного використання. Не слід використовувати компоненти з різних партій наборів. Наприклад, не використовуйте негативний контроль з набору контролів партії «X» з позитивними контролями з набору контролів партії «Y».

Не використовуйте набори або реагенти після дат, зазначених на етикетках наборів.

Зони проведення аналізів і робочі поверхні аналізаторів слід розглядати як потенційні джерела контамінації. Змінюйте рукавички після контакту з потенційними джерелами контамінації (зразки, елюати та/або продукти ампліфікації) перед початком роботи з нерозпакованими реагентами, негативними контролями, позитивними контролями, калібраторами або зразками пацієнтів. Опис процедур з очищення аналізаторів дивіться у Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp та Abbott m2000rt.

Якщо робота аналізатора Abbott m1000 чи Abbott m2000sp переривається, утилізуйте всі матеріали, що використовувалися, та реагенти згідно з вказівками Інструкції з експлуатації Abbott m1000 чи Abbott m2000sp.

ПРИМІТКА: нові реагенти для ампліфікації можна зберігати та використовувати вразі, як описано в даній інструкції з використання.

Якщо виконання протоколу додавання реакцій-міксу Abbott m2000sp було відмінено, запечатайте оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет і утилізуйте разом з рукавичками, що використовувалися для роботи з планшетом, згідно з вказівками розділу «Hazards» (Види потенційної небезпеки) Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp.

Якщо робота аналізатора Abbott m2000rt призупиняється або переривається, запечатайте оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет і утилізуйте відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott m2000rt разом з рукавичками, що використовувалися при роботі з планшетом.

Дезінфікуйте та утилізуйте всі потенційно біологічно небезпечні матеріали відповідно до нормативних вимог місцевих, державних і федеральних організацій.³¹ Всі матеріали повинні бути оброблені таким чином, щоб знизити ризик можливої контамінації в робочих зонах.

ПРИМІТКА: автоклавування запечатаного реакційного планшета не призведе до розкладання продукту ампліфікації, але може призвести до виділення продукту ампліфікації при відкриванні запечатаного планшета. Приміщення лабораторії може бути контаміноване продуктом ампліфікації, якщо відходи не обробляються і не зберігаються належним чином.

Контамінація аерозолями

Для зниження ризику контамінації нуклеїновими кислотами через аерозолі, що утворюються при ручному піпетуванні, необхідно використовувати наконечники піпетки з аерозольним фільтром. Наконечники піпеток слід використовувати лише один раз. Проведіть очищення і дезінфекцію розлитих зразків пацієнтів і реагентів, як зазначено в Інструкції з експлуатації Abbott m1000 або Abbott m2000sp та Abbott m2000rt.

Контамінація та інгібування

Щоб звести до мінімуму ризику контамінації РНКазою, перехресної контамінації між зразками і інгібування, дотримуйтеся наступних запобіжних заходів:

- Завжди одягайте засоби індивідуального захисту.
- Використовуйте рукавички без тальку.
- Змінюйте рукавички після контакту з потенційними джерелами контамінації (такими як зразки, елюати, та/або продукти ампліфікації).
- Для зниження ризику контамінації нуклеїновими кислотами через аерозолі, що утворюються при піпетуванні, необхідно використовувати піпетки з наконечниками з аерозольним фільтром для піпетування. Довжина наконечника повинна бути достатньою для запобігання контамінації трубки піпетки. Під час піпетування будьте обережними й не торкайтеся трубкою піпетки до внутрішньої поверхні пробірки або контейнера. Рекомендується використовувати наконечники піпетки з вдовженим аерозольним фільтром.

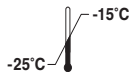
- Мінняйте наконечники з аерозольним фільтром перед КОЖНИМ перенесенням рідин вручну.
- Реагенти набору Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) призначені тільки для одноразового використання. При кожному проведенні аналізу Abbott RealTime HIV-1 використовуйте нові лотки або ємності для реагентів, реакційні пробірки та щойно відкриті реагенти. Після кожної постановки приберіть всі залишки реагентів з робочої поверхні, як описано в Інструкції з експлуатації Abbott m1000 чи Abbott m2000sp та в інформаційному листку Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps).
- Дотримуйтесь вказівок даної інструкції з використання, щодо згинання і зберігання реагентів для ампліфікації, які повинні використовуватись повторно.

Контамінація зовнішнім dU-вмісним продуктом ампліфікації

Лабораторії, які використовують або раніше використовували аналізи ампліфікації HIV-1, що включали пост-обробку продуктів ампліфікації, можуть бути контаміновані dU-вмісним продуктом ампліфікації. Така контамінація може стати причиною неточних результатів аналізу Abbott RealTime HIV-1. Дивіться розділ «Моніторинг лабораторії на наявність продукту ампліфікації» даної інструкції з використання. Якщо негативні контролю постійно дають реактивні результати або якщо існує ймовірність контамінації dU-вмісними продуктами ампліфікації HIV-1, лабораторіям рекомендується використовувати набір урацил-N-глікозилази (UNG) (кат. № 06L87-02) для процедури контролю деконтамінації, якщо процедури деконтамінації в лабораторії не були успішними. Інформацію про додаткову процедуру UNG дивіться у Додатку 2.

ІНСТРУКЦІЇ ЗІ ЗБЕРІГАННЯ

Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (кат. № 02G31-010)



- **Нові та неповні** Набори реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Packs та флакони Внутрішнього контролю (ВК) Abbott RealTime HIV-1 Internal Control повинні зберігатися при температурі від -25 до -15°C , якщо вони не використовуються. Будьте обережні, намагайтесь використовувати Набори реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Pack без прямого контакту із зразками і контролями.
- **Неповний** набір реагентів для ампліфікації та ВК повинні зберігатися при температурі від -25 до -15°C закритими та в захищеному від світла місці до наступного використання. При дотриманні цих умов зберігання **неповний** набір реагентів для ампліфікації, що містить підготований мастер-мікс, може бути використаний повторно протягом 7 днів з моменту першого використання. ВК також можна використовувати вдруге протягом 14 днів після розморожування, якщо він зберігається закритим при температурі від -25 до -15°C .
- Після другого використання утилізуйте набір реагентів для ампліфікації та ВК.

Набір контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (кат. № 2G31-80)



- Негативні контролю і позитивні контролю Abbott RealTime HIV-1 повинні зберігатися при температурі -10°C або нижче.

Набір калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (кат. № 2G31-70)



- Калібратор А та калібратор В Abbott RealTime HIV-1 повинні зберігатися при температурі -10°C або нижче.

УМОВИ ТРАНСПОРТУВАННЯ

- Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit: транспортувати на сухому льоду.
- Набір контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit: транспортувати на сухому льоду.
- Набір калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit: транспортувати на сухому льоду.

ОЗНАКИ НЕСТАБІЛЬНОСТІ АБО ПСУВАННЯ РЕАГЕНТІВ

Якщо значення позитивного чи негативного контролю виходять за межі очікуваного діапазону, це може свідчити про псування реагентів. Отримані результати тесту слід вважати недійсними і провести повторне тестування зразків. Аналіз може вимагати повторного калібрування.

ПРОЦЕДУРА РОБОТИ НА АНАЛІЗАТОРІ

Програмне забезпечення для тестування нуклеїнових кислот (NAT) необхідно встановити на аналізатор Abbott m1000 до проведення аналізу. Детальну інформацію щодо встановлення програмного забезпечення NAT дивіться в розділі «Putting into Operation» (Введення в експлуатацію) Інструкції з експлуатації Abbott m1000. Файли з програмним забезпеченням Abbott RealTime HIV-1 з функцією пролонгованого використання необхідно встановити на аналізатори Abbott m2000sp та Abbott m2000rt з компакт-диска Abbott RealTime HIV-1 m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (кат. № 1L68-014 чи вище) до проведення аналізу. Детальну інформацію щодо встановлення файлів з програмним забезпеченням дивіться у розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp та Abbott m2000rt.

ЗБІР ЗРАЗКІВ, ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ ДО МІСЦЯ ТЕСТУВАННЯ

Збір зразків та зберігання

Свіжозібрані зразки цільної крові (антикоагулянт ACD-A та EDTA) можуть зберігатися при температурі $15-30^{\circ}\text{C}$ протягом 24 годин чи при температурі $2-8^{\circ}\text{C}$ протягом 48 годин до проведення аналізу. Зразки плазми крові (ACD-A та EDTA) можна використовувати в аналізі Abbott RealTime HIV-1. Дотримуйтесь інструкцій виробника при роботі з пробірками для забору плазми.

Для підготовки зразків плазми EDTA та ACD-A дотримуйтесь інструкцій виробника при роботі з пробірками для забору плазми. Після підготовки плазми крові вона може зберігатися при температурі $15-30^{\circ}\text{C}$ протягом 24 годин чи $2-8^{\circ}\text{C}$ протягом 5 днів. Зразки плазми крові можна зберігати при $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ до 60 днів. За необхідності більш тривалого зберігання зразки плазми крові можна зберігати при температурі від -70°C чи нижче.^{33,34} Слід уникати багаторазових циклів заморожування/розморожування зразків. Якщо зразки плазми крові заморожені, то розморожують їх при температурі $15-30^{\circ}\text{C}$ або при температурі $2-8^{\circ}\text{C}$. Після розморожування, якщо зразки плазми крові негайно не обробляються, їх можна зберігати при температурі $2-8^{\circ}\text{C}$ до 6 годин.

ПРИМІТКА: зразки плазми крові не слід заморожувати, якщо вони були взяті в безгелеві пробірки для збору крові.

- Для підготовки зразків DBS використовуйте капілярну кров чи зразки цільної крові з EDTA (але не зразки цільної крові з ACD). Якщо є потреба у зберіганні чи транспортуванні зразків цільної крові з EDTA перед нанесенням на папір, зразки цільної крові потрібно зберігати при контрольованій, стабільній температурі (в холодильнику при температурі $2-8^{\circ}\text{C}$ та транспортувати протягом не більше як 48 годин. Якщо зразки зберігаються при $15-30^{\circ}\text{C}$, не можна перевищувати температурний поріг 30°C , а часовий 24 години). Перед нанесенням краплі перемішайте кров за допомогою піпетки. Нанесіть краплю на півдюймові (12 міліметрів) кружки на перфорованій картці паперу Munkell (чи еквівалент, такий як Whatman 903 та Ahlstrom 226) так, щоб кружок був повністю закритий. Рекомендується використовувати не менше $70 \mu\text{L}$ крові (приблизно 3-5 крапель) для кожного кружка, щоб покрити його повністю.
- Дайте картці просохнути при кімнатній температурі.
- Запечатуйте кожну картку в герметичний пластиковий пакет з 2-3 пакетиками сикативу. Картки можна зберігати при кімнатній температурі до 8 тижнів. В умовах підвищеної вологості (85%) картки можна зберігати при кімнатній температурі до 2 тижнів. Також картки можна зберігати при температурі $2 - 8^{\circ}\text{C}$ чи при температурі -10°C або нижче до 12 тижнів.

Транспортування зразків

Зразки транспортують відповідно до рекомендованих температури зберігання і часу, зазначених вище в розділі «Збір зразка та зберігання». Для внутрішніх та міжнародних перевезень зразки повинні бути запаковані та промарковані відповідно до чинних державних і міжнародних нормативів, що стосуються транспортування клінічних, діагностичних або біологічних зразків.

ПРИМІТКА: якщо є потреба у зберіганні чи транспортуванні зразків цільної крові з EDTA перед нанесенням на папір, зразки цільної крові потрібно зберігати при контрольованій, стабільній температурі (в холодильнику при температурі 2-8°C та транспортувати протягом не більше як 48 годин. Якщо зразки зберігаються при 15-30°C, не можна перевищувати температурний поріг 30°C, а часовий 24 години).

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ ABBOTT REALTIME HIV-1

Дана інструкція з використання Abbott RealTime HIV-1 містить три протоколи проведення аналізу:

- Підготовка зразків плазми крові для проведення реакції ампліфікації з використанням аналізатора Abbott m1000 чи метод ручної підготовки зразків, як описано у «**ПРОТОКОЛІ АНАЛІЗУ I**».
- Підготовка зразків плазми крові для проведення реакції ампліфікації з використанням аналізатора Abbott m2000sp, як описано у «**ПРОТОКОЛІ АНАЛІЗУ II**».

Аналіз Abbott RealTime HIV-1 дозволяє використовувати до чотирьох варіантів об'єму зразків (0.2 mL, 0.5 mL, 0.6 mL та 1.0 mL). (Див. протокол аналізу, пункт 6, та розділ «**РЕЗУЛЬТАТИ ПЛАЗМИ КРОВІ**»).

- Підготовка зразків DBS для проведення реакції ампліфікації з використанням аналізатора Abbott m2000sp, як описано у «**ПРОТОКОЛІ АНАЛІЗУ III**».

Надані матеріали

- Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (кат. № 02G31-010)

Необхідні, але не надані матеріали

- Набір калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (кат. № 2G31-70)
- Набір контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (кат. № 2G31-80)
- Набір Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (кат. № 09N02-001) (якщо використовуються зразки DBS)

Інформацію про ручний метод пробопідготовки див. у розділі «Materials and Equipment Required» (Матеріали та необхідне обладнання) інструкції з ручної пробопідготовки Manual Sample Preparation, наведеної в процедурі Abbott RealTime RNA Assays Procedure (кат. № 06L73).

Для аналізатора Abbott m1000

Зона підготовки зразків

- Аналізатор Abbott m1000
- Набір Abbott mSample Preparation System (4 × 24 Preps) (кат. № 04J70-24)
- Реакційні ємності
- Наконечники з аерозольним фільтром для прецизійних піпеток об'ємом від 20 µL до 1000 µL
- Пробірки для зразків діаметром від 11.6 до 16 mm
- Відкалібровані прецизійні піпетки об'ємом від 20 до 1000 µL
- Одноразові наконечники на 200 µL та 1000 µL
- Планшет на 96 глибоких лунок Abbott 96 Deep-Well Plate (кат. № 04J71-30)
- Змішувач типу вортекс
- Клейка оптична плівка Abbott Optical Adhesive Covers (кат. № 04J71-75)
- Аплікатори для нанесення клейкої плівки Abbott Adhesive Cover Applicator

Для аналізатора Abbott m2000sp

Зона підготовки зразків

- Аналізатор Abbott m2000sp з програмним забезпеченням версії 6.0 або вище
- Набір Abbott mSample Preparation System (4 × 24Preps) (кат. № 04J70-24)
- Реакційні ємності на 5 mL
- Відкалібровані прецизійні піпетки, об'ємом від 20 до 1000 µL (відкалібровані прецизійні піпетки з номінальним об'ємом < 20 µL можуть знадобитися при використанні UNG.)
- Наконечники з аерозольним фільтром для піпеток від 20 до 1000 µL (наконечники з аерозольним фільтром номінальним об'ємом < 20 µL можуть знадобитися при використанні UNG.)
- Пробірки для зразків діаметром від 11.5 до 16 mm
- Одноразові наконечники на 200 µL та 1000 µL
- Змішувач типу вортекс
- Клейка оптична плівка Abbott Optical Adhesive Covers (кат. № 04J71-75)
- Аплікатори для нанесення клейкої плівки Abbott Adhesive Cover Applicator

Для аналізатора Abbott m1000

Зона підготовки зразків

- Штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base (кат. № 09K31-01)
- Ємності для реагентів
- Реакційні пробірки на 1.5 mL
- Центрифуга на 5000g

- Урацил-N-глікозилаза (UNG) (кат. № 06L87-02) (необов'язково)

Для аналізатора Abbott m2000sp

Зона підготовки зразків

- Штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base (кат. № 09K31-01)
- Пробірка для мастер-міксу (кат. № 04J71-80)
- Ємності для реагентів на 200 mL
- Планшет на 96 глибоких лунок Abbott 96-Deep-Well Plate (кат. № 04J71-30)
- Урацил-N-глікозилаза (UNG) (кат. № 06L87-02) (необов'язково)
- Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (кат. № 04J71-70)
- 15-міліметрові кришки для мікро-флаконів на 1.4 mL (кат. № 3N20-01) необов'язково
- Центрифуга на 2000g

- Компакт-диск з програмним забезпеченням Abbott RealTime HIV-1 m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (кат. № 1L68-014 або вище)

Додаткові матеріали, необхідні при обробці зразків DBS:

- Нагрівальний блок діаметром 15.8 mm (для пробірок для мастер-міксу діаметром 15 mm)
- Набір Abbott mSample Preparation System DBS Buffer Kit (кат. № 09N02-001)
- Набір m2000 System 13mm DBS PoST Set (кат. № 09N03-001)

Для аналізатора Abbott m1000

Зона підготовки реагентів

- Настільний кулер StrataCooler® 96 Benchtop Cooler або кулер Eppendorf PCR Cooler
- Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (кат. № 04J71-70)
- Відкалібровані прецизійні піпетки об'ємом від 20 до 1000 µL
- Наконечники з аерозольним фільтром для прецизійних піпеток об'ємом від 20 µL до 1000 µL
- Пробірки або контейнери одноразового використання, вільні від РНКаз/ДНКаз
- Змішувач типу вортекс

Для аналізатора Abbott m2000rt

Зона ампліфікації

- Аналізатор Abbott m2000rt
- Компакт-диск з програмним забезпеченням Abbott RealTime HIV-1 m2000 ROW System Combined Application CD-ROM (кат. № 1L68-014 або вище)
- Набір оптичних калібраторів Abbott m2000rt Optical Calibration Kit (кат. № 04J71-93)

Інші матеріали

- Бокс біологічної безпеки, що підходить для роботи з інфікованими матеріалами
- Герметичні пластикові пакети
- Вода, вільна від РНКаз (типу Eppendorf або еквівалентна)[†]
- Мікроцентрифужні пробірки об'ємом 1.7 mL зі ступенем очищення для використання в молекулярній біології (виробництва Dot Scientific Inc. або еквівалент)[†]
- Ватні аплікатори (типу Puritan або еквівалент)[†]

[†]Примітка: ці три елементи використовуються для процедури, що описана в розділі «Моніторинг лабораторії на наявність контамінації». Докладну інформацію дивіться в розділі «ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» даної інструкції з використання.

Заходи безпеки при роботі

- Перед обробкою зразків уважно прочитайте вказівки даної інструкції з використання.
- Реагенти для ампліфікації та внутрішній контроль (ВК) можна використовувати двічі, як описано в даній інструкції з використання. Калібратори, негативний контроль, позитивний контроль низької концентрації та позитивний контроль високої концентрації Abbott RealTime HIV-1 призначені тільки для одноразового застосування і повинні бути утилізовані після використання.
- При піпетуванні зразків пацієнтів, внутрішнього контролю чи реагентів для ампліфікації наконечники піпеток з аерозольним фільтром або одноразові піпетки слід використовувати лише раз. Для запобігання контамінації каналу піпетки під час піпетування стежте за тим, щоб канал піпетки не торкався внутрішньої поверхні пробірки зі зразком або контейнера. Рекомендується використовувати наконечники піпетки з видовженим аерозольним фільтром.
- Процедури моніторингу на наявність продукту ампліфікації можна знайти в розділі «ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» даної інструкції з використання.
- Для зниження ризику контамінації нуклеїновими кислотами під час прибирання та дезінфекції розлитих рідин зразків використовуйте протитуберкульозні дезінфікуючі засоби, такі як 1.0% гіпохлорит натрію, або інші дезінфікуючі засоби.
- Калібратори та контролю Abbott RealTime HIV-1 повинні бути підготовлені разом із аналізованими зразками. Використання контролів і калібраторів Abbott RealTime HIV-1 є невід'ємною частиною аналізу Abbott RealTime HIV-1. Докладну інформацію дивіться в розділі «ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» даної інструкції з використання.
- **ВАЖЛИВО:** реагенти для ампліфікації, які будуть використовуватися повторно, слід помістити в умови зберігання при температурі від -25 до -15°C на 50 хвилин з моменту ініціалізації протоколу додавання мастер-міксу.

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ I: СИСТЕМА ПІДГОТОВКИ ЗРАЗКІВ АББОТ *m1000* АБО РУЧНИЙ МЕТОД ПРОБОПІДГОТОВКИ ТА АНАЛІЗАТОР АББОТ *m2000rt*

Детальний опис роботи з аналізаторами Abbott *m1000* та Abbott *m2000rt* дивіться в розділі «Operation» (Експлуатація аналізатора) Інструкції з експлуатації Abbott *m1000* та розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) до Abbott *m2000rt*.

Персонал лабораторії повинен пройти відповідну підготовку для роботи з аналізаторами Abbott *m1000* та Abbott *m2000rt*. Оператор повинен знати програмні додатки і дотримуватися належної лабораторної практики.

Для зразків плазми крові, приготованих для ампліфікації з використанням Abbott *m1000*, чи методу ручної пробопідготовки та використання додаткової процедури UNG дивіться Додаток 2.

1. Розморозьте контроль для аналізу та ВК при температурі 15-30°C або 2-8°C. Якщо буде проводитись калібрування, розморозьте калібратори при температурі 15-30°C або 2-8°C; Дивіться розділ «ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» даної інструкції з використання.
 - Після розморозування контролю аналізу, ВК та калібратори можна зберігати в закритих флаконах при температурі 2-8°C до 24 годин перед використанням.
 - Перед використанням кожен калібратор та кожен контроль потрібно тричі перемішати на вортексі протягом 2-3 секунд. Щоб перевірити, чи вміст кожного флакона після перемішування знаходиться на дні, легенько постукайте флаконом по столу, щоб рідини опустилась донизу.
2. Розморозьте реагенти для ампліфікації при температурі 15-30°C або 2-8°C та зберігайте їх при температурі 2-8°C до появи необхідності в додаванні мастер-міксу для ампліфікації.
 - Після розморозування реагенти для ампліфікації можна зберігати при температурі 2-8°C протягом доби, якщо вони не використовуються одразу.

ПРИМІТКА: для проведення до 24 реакцій використовуйте один набір флаконів реагентів для пробопідготовки, 1 флакон ВК та 1 набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Pack. Для проведення від 25 до 48 реакцій використовуйте другий набір реагентів. При роботі з аналізатором Abbott *m1000* можна провести не більше 48 реакцій за одну постановку.

Зона підготовки зразків

Для підготовки зразків з використанням Abbott *m1000* виконайте пункти 3 - 10. Опис ручного методу пробопідготовки дивіться у розділі «Extraction Protocol» (Протокол екстракції) інструкції з пробопідготовки для процедури аналізу Abbott RealTime RNA Assays Procedure (кат. № 06L73).

3. Акуратно переверніть флакони Abbott *mSample Preparation* для забезпечення гомогенності розчину. Якщо при відкриванні флакона в реагенті наявні кристали, залиште реагенти для рівноваження при кімнатній температурі, доки кристали не розчиняться. Не використовуйте реагенти до повного розчинення кристалів.
4. Перед використанням тричі вортексуйте кожен ВК по 2-3 секунди.
5. За допомогою відкаліброваної прецизійної ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ ТІЛЬКИ ДЛЯ РОБОТИ З ВНУТРІШНІМ КОНТРОЛЕМ, додайте 500 µL ВК до кожного флакона Буферного розчину *mLysis Buffer*. Перемішайте, обережно перевертаючи контейнер 5-10 разів, щоб не утворилась піна.
6. **Можна провести не більше 48 реакцій за одну постановку.** У кожній постановці присутні негативний контроль, позитивний контроль низької концентрації та позитивний контроль високої концентрації, тому за одну постановку можна обробити лише 45 зразків.
 - Мінімальний об'єм зразків при роботі з аналізом Abbott RealTime HIV-1 та пов'язані з цим вимоги до штативів при роботі з аналізатором Abbott *m1000* наступні:

Abbott RealTime HIV-1 Мінімальний об'єм зразка Протокол аналізу				
Штатив	Діаметр пробірки ^a	0.2 mL	0.5 mL	1.0 mL
13 mm	11.6 mm - 14.0 mm	0.7 mL	1.0 mL	1.5 mL
16 mm	15.0 mm - 16.0 mm	1.0 mL	1.3 mL	1.8 mL

^a Стосується зовнішнього діаметру пробірки для зразків

- Якщо зразки заморожені, розморозьте їх при температурі 15-30°C або 2-8°C. Якщо зразки не обробляються одразу після розморозування, їх можна зберігати при температурі 2-8°C до 6 годин.
- ПРИМІТКА:** для кожного зразка, який піддавався процедурі зберігання, необхідно виконати наступні дії у тому порядку, в якому вони описані: спочатку відцентрифугуйте зразки пацієнтів, а потім перемішайте та вортексі. У разі, якщо ці дії не виконуються в заданому порядку, це може призвести до отримання недійсних результатів.
- Тричі перемішайте кожен зразок на вортексі протягом 2-3 секунд.
 - Перед завантаженням на робочий стіл аналізатора Abbott *m1000* всі зразки необхідно відцентрифугувати при 2000g протягом 5 хвилин. За необхідності аліквотуйте кожен зразок у чисті пробірки або флакони. Вимоги щодо розмірів пробірок див. у Інструкції з експлуатації Abbott *m1000*. При відкриванні пробірок не торкайтеся внутрішньої сторони кришки пробірки.
 7. Розмістіть калібратори (якщо застосовуються), позитивні контрольні низької концентрації та позитивні контрольні високої концентрації, негативний контроль і зразки пацієнтів у штативі для зразків в Abbott *m1000*. Щодо виконання користувачького протоколу дотримуйтесь вказівок, наведених в розділі «Operation» (Експлуатація аналізатора) Інструкції з експлуатації Abbott *m1000*.
 8. Розмістіть реакційні ємності в 1-mL тримач підсистеми Abbott *m1000*.
 9. Завантажте реагенти набору Abbott *mSample Preparation System* і реакційні пробірки об'ємом 1.5 mL на робочий стіл аналізатора Abbott *m1000*, як описано в розділі «Operation» (Експлуатація аналізатора) Інструкції з експлуатації Abbott *m1000*.
 10. Розпочніть протокол Abbott *m1000*, як описано в розділі «Operation» (Експлуатація аналізатора) Інструкції з експлуатації Abbott *m1000*. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків.
 - Додавання мастер-міксу для ампліфікації і елюату зразків в оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate (пункт 17) необхідно розпочати протягом однієї години після закінчення підготовки зразків.

Зона ампліфікації

11. Увімкніть і запустіть аналізатор Abbott *m2000rt*.

ПРИМІТКА: аналізатор Abbott *m2000rt* потребує 15 хвилин для розігріву.

12. Створіть замовлення на тестування на аналізаторі Abbott *m2000rt*. Дивіться розділ «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків.

- Введіть значення калібраторів (це є необхідним, якщо калібрувальна крива не збережена в пам'яті аналізатора Abbott *m2000rt*) і контролів, які є специфічними для кожної партії, в запит на проведення тесту для точного калібрування та оцінки значень контролів. Значення калібраторів і контролів, специфічні для кожної партії, наведені в картках, що додаються до набору калібраторів та контролів Abbott RealTime HIV-1.

Зона підготовки реагентів

Всі етапи підготовки реагентів повинні проходити лише у спеціально призначеній для цього зоні підготовки реагентів.

Перед початком підготовки реагентів див. розділ «Заходи безпеки при роботі» даної інструкції з використання.

ПРИМІТКА: змініть рукавички перед початком роботи з реагентами для ампліфікації.

13. Приготуйте мастер-мікс для ампліфікації.

- Кожна упаковка реагентів для ампліфікації підтримує до 24 реакцій.
- Перед відкриванням реагентів для ампліфікації перевірте, чи вміст пробірок знаходиться на дні, постукавши пробірками у вертикальному положенні об стіл 5-10 разів, щоб рідина опустилась на дно.
- Щоб приготувати мастер-мікс, скористайтесь **ПИПЕТКОЮ, ПРИЗНАЧЕНОЮ ВИКЛЮЧНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТАМИ** додавши 271 μL Реагенту активації HIV-1 Activation Reagent (Реагент 1) і 949 μL Реагенту з олігонуклеотидами HIV-1 Oligonucleotide Reagent (Реагент 2) у флакон з Термостабільною полімеразою Thermostable rTth DNA Polymerase Enzyme (Реагент 3).
- Для проведення від 25 до 48 реакцій приготуйте другу суміш мастер-міксу для ампліфікації, використовуючи другий набір Реагентів для ампліфікації Amplification Reagent Pack.
- **Протокол Abbott *m2000rt* (пункт 20) необхідно розпочати протягом 40 хвилин після додавання Реагенту активації Activation Reagent у перший флакон з реагентом rTth Enzyme Reagent (пункт 13).**

14. За допомогою піпетки перенесіть мастер-мікс з флакону(ів) у пробірку одноразового використання, вільну від РНКаз/ДНКаз, та перемішайте на вортексі.

15. Розмістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в кулері StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler, що зберігався за вказівками Інструкції з експлуатації. За допомогою **ПРИЗНАЧЕНОЇ ДЛЯ ЦЬОГО ПИПЕТКИ** перенесіть аліквоти мастер-міксу для ампліфікації по 50 μL в кожну лунку Оптичного реакційного планшета на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. Можна використовувати також відкалібровану багаторазову прецизійну піпетку. Візуально перевірте, чи в кожну лунку наливо загально по 50 μL суміші.

16. Перенесіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, що знаходиться в кулері StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler, у зону підготовки зразків.

Зона підготовки зразків

17. У зоні підготовки зразків перенесіть по 50 μL елюату кожного зразка в Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, що знаходиться в кулері StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler. **Для перенесення кожного елюату зразка використовуйте окремий наконечник для піпетки.** Під час перенесення кожного зразка, перемішайте реакційну суміш, аспіруючи та випускаючи рідину вгору-вниз від 3 до 5 разів. Візуально перевірте, чи в кожну лунку наливо загально по 100 μL суміші.

18. Запечатуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate за вказівками, наведеними в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

19. Вийміть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate з кулера StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler і помістіть у штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base. Відцентрифугуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у штативі для планшетів Abbott Splash-Free Support Base при 5000g протягом 5 хвилин. Перенесіть в зону ампліфікації.

ПРИМІТКА: не переносьте кулер StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler в зону ампліфікації.

Зона ампліфікації

20. Помістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в аналізатор Abbott *m2000rt*. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків. Розпочніть протокол Abbott RealTime HIV-1, як описано в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

ПРОЦЕДУРИ ДЛЯ ПОСТОБРОБКИ ДЛЯ ПРОТОКОЛУ I

1. Очистіть кулер StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler, як описано в інструкції з експлуатації, і поверніть його в зону підготовки реагентів.
2. Приберіть реакційні пробірки об'ємом 1.5 mL з робочого столу та утилізуйте їх відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m1000*.
3. Помістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет і утилізуйте його разом з рукавичками, які використовувались для роботи з планшетом, відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.
4. Очистіть штатив для планшетів Splash-Free Support Base перед наступним використанням, відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.
5. Опис методу ручної пробопідготовки дивіться у розділі «Clean Up» (Очищення) інструкції з пробопідготовки, наведеного в процедурі аналізу Abbott RealTime RNA Assays Procedure (кат. № 06L73).

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ II: ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

ПЛАЗМИ КРОВІ НА АНАЛІЗАТОРІ АББОТТ *m2000sp* ТА АББОТТ *m2000rt*

Докладні інструкції з виконання протоколу на аналізаторах Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* дивіться у розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*. Протокол *m2000sp* вимагає програмного забезпечення Abbott *m2000sp* версії 6.0 або вище. Дотримуйтеся вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат. № 9K20) версії 6 або вище.

Персонал лабораторії повинен пройти підготовку для роботи з аналізаторами Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*. Оператор повинен знати програмні додатки аналізаторів і дотримуватись належної лабораторної практики.

Для зразків плазми крові, приготованих для ампліфікації з використанням Abbott *m2000sp* та з використанням додаткової процедури UNG, дивіться Додаток 2.

1. Розморозьте контролі для аналізу та ВК при температурі 15-30°C або 2-8°C. Якщо буде проводитись калібрування, розморозьте калібратори при температурі 15-30°C або 2-8°C; Дивіться розділ «ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ» даної інструкції з використання.

- Після розморозування контролі аналізу, ВК та калібратори можна зберігати в закритих флаконах при температурі 2-8°C до 24 годин перед використанням.

- Перед використанням кожен калібратор та кожен контроль потрібно тричі перемішати на вортексі протягом 2-3 секунд. Щоб перевірити, чи вміст кожного флакона після перемішування знаходиться на дні, легенько постукайте флаконом по столу, щоб рідини опустилась донизу.

2. Виберіть **новий** та/або **неповний** набір реагентів для ампліфікації для використання у даній постановці. Див. Інструкцію з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат. № 9K20 версії 6 чи вище), розділ «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) для отримання інструкцій, пов'язаних з автоматизованим обліком набору реагентів для ампліфікації. Набори реагентів для ампліфікації повинні мати один і той же номер партії. Розморозьте **нові** реагенти для ампліфікації при температурі

15-30°C або 2-8°C та зберігайте їх при температурі 2-8°C до необхідності в додаванні мастер-міксу для ампліфікації. Після розморожування нові реагенти для ампліфікації можна зберігати при температурі 2-8°C до 24 годин, якщо вони негайно не використовуються.

ПРИМІТКА: неповні набори реагентів для ампліфікації, що використовуються вдруге, НЕ можна зберігати при температурі 2-8°C перед використанням. Вони повинні зберігатися при температурі від -25 до -15°C до необхідності в додаванні мастер-міксу. Після зміни температурного режиму, загальний час впливу температури в приміщенні не повинен перевищувати 25 хвилин, в тому числі у випадках, коли набори виймаються з місця зберігання, але не використовуються. Через 25 хвилин утилізуйте неповні набори реагентів для ампліфікації.

У таблиці нижче наведено кількість реагентів для пробопідготовки та флаконів внутрішнього контролю, необхідних для проведення певної кількості реакцій.

Вимоги до реагентів для пробопідготовки та ВК

Реагент	Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
<i>m</i> Microparticles	1 флакон	2 флакони	2 флакони	2 флакони
<i>m</i> Lysis	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
<i>m</i> Wash 1	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
<i>m</i> Wash 2	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
<i>m</i> Elution Buffer	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
Внутрішній контроль ^a	1 новий флакон чи 1 неповний флакон	1 новий флакон чи 2 неповні флакони	2 нові флакони чи 3 неповні флакони	2 нові флакони чи 4 неповні флакони

^a Можна використовувати комбінацію нових та неповних флаконів ВК.

- Акуратно переверніть флакони Abbott *m*Sample Preparation для забезпечення гомогенності розчину. Якщо при відкриванні флакона в реагенті наявні кристали, залиште реагенти для врівноваження при кімнатній температурі, поки кристали не розчиняться. Не використовуйте реагенти до повного розчинення кристалів.
- Перед використанням тричі вортексуйте кожен ВК по 2-3 секунди.
- За допомогою відкаліброваної прецизійної ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ ТІЛЬКИ ДЛЯ РОБОТИ З ВНУТРІШНІМ КОНТРОЛЕМ, додайте 500 µL ВК до кожного флакона буферного розчину *m*Lysis Buffer. Перемішайте, обережно перевертаючи контейнер 5-10 разів, щоб не утворилась піна. Неповні флакони ВК можна закрити кришкою і зберігати при температурі від -25 до -15°C до другого використання.
- В одній постановці можна обробити загалом 96 зразків, за винятком проведення аналізу для об'єму 1.0 mL. У кожній постановці присутні негативний контроль, позитивний контроль низької концентрації та позитивний контроль високої концентрації, тому можна обробити 93 зразки за одну постановку. При проведенні аналізу для об'єму 1.0 mL у кожній постановці можна обробити загалом 48 зразків, при цьому обробляється максимум 45 досліджуваних зразків за одну постановку.
 - Мінімальний об'єм зразків при роботі з аналізом Abbott RealTime HIV-1 та пов'язані з цим вимоги до штативів при роботі з аналізатором Abbott *m*2000sp наступні:

Abbott RealTime HIV-1 Мінімальний об'єм зразка Протокол аналізу					
Штатив	Діаметр пробірки ^a	0.2 mL	0.5 mL	0.6 mL	1.0 mL
13mm	11.5 - 14.0mm	0.4 - 0.8mL	0.7 - 1.2mL	0.8 - 1.3mL	1.2 - 1.7mL
16mm	14.5 - 16.0mm	0.4 - 1.0mL	0.8 - 1.4mL	0.9 - 1.5mL	1.3 - 1.9mL

^a Стосується зовнішнього діаметру пробірки для зразків. Мінімальний об'єм зразка залежить від геометричних параметрів і розміру пробірки. Рекомендований внутрішній об'єм пробірок для зразків дивіться в Інструкції з експлуатації Abbott *m*2000sp та в **СТИСЛІЙ ДОВІДЦІ РОЗМІРІВ І ОБ'ЄМІВ ПРОБІРОК ДЛЯ ЗРАЗКІВ.**

- Якщо зразки заморожені, розморозьте їх при температурі 15-30°C або 2-8°C. Після розморожування, якщо зразки негайно не обробляються, їх можна зберігати при температурі 2-8°C до 6 годин.

ПРИМІТКА: для кожного зразка, який піддавався процедурі зберігання, необхідно виконати наступні дії у тому порядку, в якому вони описані: спочатку відцентрифугуйте зразки пацієнтів, а потім перемішайте та вортексі. У разі, якщо ці дії не виконуються в заданому порядку, це може призвести до отримання недійсних результатів.

- Тричі перемішайте кожен зразок на вортексі протягом 2-3 секунд.
 - Перед завантаженням на робочий стіл аналізатора Abbott *m*2000sp зразки необхідно відцентрифугувати при 2000g протягом 5 хвилин. За необхідності аліквотуйте кожен зразок у чисті пробірки або флакони. Розміри пробірок див. в Інструкції з експлуатації Abbott *m*2000sp. При відкриванні пробірок не торкайтеся внутрішньої сторони кришки пробірки.
- Помістіть позитивний контроль низької концентрації та позитивний контроль високої концентрації, негативний контроль, калібратори (якщо застосовуються) і зразки пацієнтів у штативи для зразків в аналізаторі Abbott *m*2000sp. Якщо використовуються пробірки зі штрих-кодом, вони повинні бути повернуті праворуч для зчитування.
 - Помістіть реакційні ємності на 5 mL в 1-mL тримач підсистеми Abbott *m*2000sp.
 - Завантажте реагенти набору Abbott *m*Sample Preparation System та планшет на 96 глибоких лунок Abbott 96 Deep-Well Plate на робочий стіл Abbott *m*2000sp, як це описано у розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m*2000sp.
 - На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків. Виберіть та розпочніть протокол екстракції зразків за вказівками розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m*2000sp.
 - Введіть конкретні значення калібраторів (це є необхідним, якщо калібрувальна крива не зберігається в пам'яті аналізатора Abbott *m*2000rt) і контролів даної партії в поля протоколу, призначені для вводу калібраторів і контролів «Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control» (Екстракція зразків: налаштування робочого столу, калібратори і контролі). Значення калібраторів і контролів, специфічні для кожної партії, наведені в картках, що додаються до набору калібраторів та контролів Abbott RealTime HIV-1.
 - Протокол додавання мастер-міксу Abbott *m*2000sp Master Mix Addition (пункт 12) необхідно розпочати протягом однієї години після завершення процесу пробопідготовки. **ПРИМІТКА:** змініть рукавички перед початком роботи з реагентами для ампліфікації.
 - Після завершення підготовки зразків завантажте реагенти для ампліфікації і пробірку мастер-мікс (за необхідності) на робочий стіл Abbott *m*2000sp. У таблиці нижче наведено кількість наборів реагентів для ампліфікації відповідно до кількості реакцій. Якщо використовується 1 набір реагентів для ампліфікації, пробірка мастер-мікс не потрібна.

Вимоги до набору реагентів для ампліфікації^a

Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
1 новий; до 4 з неповними наборами	2 нових; до 4 з неповними наборами	3 нових; до 4 з неповними наборами	4 нових або неповних набори

^a Див. Інструкцію з експлуатації Abbott *m*2000sp (кат. № 9K20 версія 6 чи вище) для отримання інструкцій щодо керування запасами, щоб визначити максимальну кількість реакцій, які можуть бути протестовані з вибраними неповними наборами.

- Неповні набори реагентів для ампліфікації можна використовувати виключно на тому ж аналізаторі Abbott *m2000sp*, на якому проводилась попередня підготовка набору реагентів. Повторне застосування наборів реагентів для ампліфікації на іншому аналізаторі може призвести до помилки та до затримки тестування.
- Неповні і нові набори реагентів для ампліфікації можна використовувати одночасно.

ВАЖЛИВО: неповні набори реагентів для ампліфікації повинні зберігатись при температурі від -25 до -15°C безпосередньо до наступного використання. Перевірте, чи мастер-мікс був розморожений перед розміщенням неповного набору(ів) на робочий стіл Abbott *m2000sp*. Після зміни температурного режиму зберігання, що становив від -25 до -15°C , неповні набори реагентів для ампліфікації, що будуть використовуватися другий раз, необхідно використати протягом 25 хвилин чи утилізувати. Це стосується загальної температури в приміщенні в тому числі у випадках, коли набори виймаються з місця зберігання, але не використовуються.

- Переконайтесь, що вміст нових наборів реагентів для ампліфікації знаходиться на дні. Для цього перед відкриванням 5-10 разів постукайте флаконами по столу, тримаючи їх у вертикальному положенні.
 - Не стукайте по неповних наборах реагентів для ампліфікації, що використовуються повторно. Це може призвести до втрати об'єму мастер-міксу у кришці.
 - Зніміть кришки. Якщо новий набір реагентів для ампліфікації буде збережено для повторного використання, флакони необхідно закрити кришками для подальшого зберігання. Якщо ви плануєте повторно використовувати оригінальні кришки для флаконів реагентів, їх можна не викидати. Якщо ви плануєте використовувати нові кришки для флаконів реагентів, оригінальні кришки можна утилізувати.
 - Неповні набори реагентів для ампліфікації завантажуються ліворуч від нових наборів реагентів для ампліфікації на робочий стіл Abbott *m2000sp*.
 - Перевірте, чи набори реагентів для ампліфікації надійно встановлені в аналізаторі.
12. Виберіть відповідний планшет з глибокими лунками, який є сумісним з відповідною процедурою екстракції зразків. Розпочніть протокол додавання мастер-міксу Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Дотримуйтесь вказівок у розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.

ПРИМІТКА: оператор не повинен вручну заповнювати всі порожні/незаповнені лунки в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Після завершення процедури екстракції зразків аналізатор Abbott *m2000sp* автоматично заповнює всі порожні лунки в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у разі, якщо під час постановки було оброблено більше 48 зразків. Заповнення планшетів не виконується для постановок, що містять 48 зразків чи менше.
- Якщо це пропонується аналізатором, підставка Reagent Carrier 2 повинна залишатися на місці; як мінімум, на ній розміщується реакційна ємність для буфера *mElution Buffer* (Reagent Carrier 2, позиція 6). Якщо ця реакційна ємність була вивантажена, розмістіть на підставці Reagent Carrier 2, позиція 6, нову реакційну ємність з етикеткою *mElution Buffer*. Системна рідина, яку буде додано до реакційної ємності, буде використовуватися для заповнення порожніх лунок. Після завершення цього процесу система продовжить процедуру з додавання мастер-міксу.

ПРИМІТКА: інструкції з використання функції автоматизованого заповнення планшета, що застосовуються під час роботи системи, знаходяться в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат. № 9K20 версії 6 чи вище), розділу 5 «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) - «Sample Extraction—Closed Mode» (Екстракція зразків – закритий режим).

- Протокол Abbott *m2000rt* (пункт 16) потрібно розпочати протягом 50 хвилин після запуску протоколу додавання мастер-мікс (пункт 12).

ПРИМІТКА: якщо після пункту 12 процедура з додавання мастер-міксу переривається за будь-якої причини, новий ПЛР-планшет на 96 лунок 96-well PCR Plate повинен бути використаний у разі, якщо необхідно буде повторити виконання протоколу з додавання мастер-міксу Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (пункт 12).

13. Увімкніть і запустіть аналізатор Abbott *m2000rt* у зоні ампліфікації.

ПРИМІТКА: Abbott *m2000rt* потребує 15 хвилин для розігріву.

ПРИМІТКА: зніміть рукавички перед поверненням у зону підготовки зразків.

14. Запечатуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate після того, як аналізатор Abbott *m2000sp* завершить додавання зразків і мастер-міксу відповідно до розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.
15. Помістіть запечатаний оптичний реакційний планшет у штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base для переносу в аналізатор Abbott *m2000rt*.
16. Помістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в аналізатор Abbott *m2000rt*. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків. Розпочніть протокол Abbott RealTime HIV-1, як описано в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

ПРИМІТКА: рекомендується переносити замовлення на тестування, використовуючи компакт-диск чи через мережеве з'єднання, за допомогою програмного забезпечення з функцією імпорту та експорту *m2000sp* та *m2000rt*. При створенні замовлення на тестування в ручному режимі Abbott *m2000rt* введіть ідентифікаційні номери (ID) досліджуваних зразків у відповідні позиції ПЛР-планшета відповідно до таблиці «Wells for Selected Plate» (Лунки обраного планшета), що знаходиться на екрані «PCR Plate Results» (Результати, отримані з ПЛР-планшета) аналізатора Abbott *m2000sp*. Див. Розділ 5 Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.

17. Якщо підготований неповний набір реагентів для ампліфікації повинен бути використаний повторно, накрийте 3 флакони реагентів оригінальними або новими кришками (кат. № 3N20-01) і зберігайте при температурі від -25 до -15°C у вертикальному положенні в захищеному від світла місці. Утилізуйте набори реагентів для ампліфікації, що закінчилися, а також ті, що використовувались повторно.

ВАЖЛИВО: реагенти для ампліфікації, які будуть використовуватися повторно, слід помістити в умови зберігання при температурі від -25 до -15°C протягом 50 хвилин з моменту ініціалізації протоколу додавання мастер-мікс.

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ III: ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ DBS НА АНАЛІЗАТОРІ АББОТТ *m2000sp* ТА АББОТТ *m2000rt*

Докладні інструкції з виконання протоколу на аналізаторах Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* дивіться у розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*. Протокол проведення аналізу DBS вимагає версії програмного забезпечення Abbott *m2000sp* 6.0 чи вище. Дотримуйтесь вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат. № 9K20 версія 6 чи вище).

Можна провести не більше 96 реакцій за одну постановку. У кожному тесті присутні негативний контроль, позитивний контроль низької концентрації і позитивний контроль високої концентрації, тому можна обробити 93 зразки DBS за одну постановку, якщо не використовуються калібратори. Тестуйте калібратори та контролю як інші рідкі зразки; пункти з 1 по 5 лише для зразків DBS. Не проводьте тестування зразків плазми крові під час проведення постановки за протоколом для зразків DBS. Для кожного зразка DBS можна використовувати лише одну пробірку Abbott Master Mix Tube для всієї процедури проведення аналізу. Перевірте, чи зразки DBS промарковані належним чином під час всього процесу тестування. Для зразків DBS, приготованих для ампліфікації з використанням Abbott *m2000sp* та з використанням додаткової процедури UNG, дивіться Додаток 2.

1. Додайте в пробірку Abbott Master Mix Tube 1.3 mL буферного розчину *m*DBS з набору Abbott *m*Sample Preparation system DBS Buffer Kit (кат. № 09N02-001).

ПРИМІТКА: не використовуйте буферний розчин *m*Lysis Buffer чи будь-який інший реагент на цьому етапі.

2. Тримайте перфоровану картку паперу зі зразками DBS над пробірною мастер-мікс Abbott Master Mix Tube.
3. Простовхніть кружечок зі зразком DBS у пробірку за допомогою чистого наконечника для піпетки, один кружечок на одну пробірку мастер-мікс Master Mix Tube. Діаметр кожного зразка DBS не повинен перевищувати пів дюйма (12 міліметрів). **ЩОБ ЗАПОБІГТИ ПЕРЕХРЕСНІЙ КОНТАМІНАЦІЇ, ВИКОРИСТОВУЙТЕ НОВИЙ НАКОНЕЧНИК ДЛЯ ПІПЕТКИ ДЛЯ КОЖНОГО ЗРАЗКА DBS.**
4. Перевірте, чи кружечки зі зразками DBS повністю занурені в буферний розчин *m*DBS Buffer, постукаючи по пробірці чи простовхуючи кружечки зі зразками DBS в буферний розчин за допомогою наконечника для піпетки.

ПРИМІТКА: якщо для простовхування зразка DBS у буферний розчин використовується наконечник для піпетки, переконайтесь, що при цьому не буде втрачено об'єм буферного розчину DBS через затримку рідини в наконечнику і/або абсорбцію рідини фільтром наконечника.

5. Легенько струсніть пробірки зі зразками і помістіть у нагрівальний блок при температурі 55°C. Не перемішуйте зразки на вортексі. Інкубуйте протягом 30 хвилин (± 2 хвилини) при 55°C.
6. В ході проведення цих процедур розморозьте контролі для аналізу та ВК при температурі 15-30°C або 2-8°C. Якщо буде проводитись калібрування, розморозьте калібратори при температурі 15-30°C або 2-8°C.

ПРИМІТКА: після розморозжування контролі аналізу, ВК та калібратори можна зберігати в закритих флаконах при температурі 2-8°C до 24 годин перед використанням.

7. Перед використанням кожен калібратор та кожен контроль потрібно тричі перемішати на вортексі протягом 2-3 секунд. Щоб врівноважитись, що вміст кожного флакона після вортексування знаходиться на дні, легенько постукайте флаконом по столу, щоб рідини опустилась донизу. Перевірте, чи немає бульбашок і піни; при наявності, видаліть їх за допомогою стерильного наконечника піпетки, використовуючи новий наконечник для кожного флакону.
8. Розморозьте реагенти для ампліфікації при температурі 15-30°C або 2-8°C та зберігайте їх при температурі 2-8°C до появи необхідності в додаванні мастер-міксу для ампліфікації.
9. Виберіть **новий** та/або **неповний** набір реагентів для ампліфікації для використання у даній постановці. Див. Інструкцію з експлуатації Abbott *m*2000sp (кат. № 9K20 версії 6 чи вище), розділ «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) для отримання інструкцій, пов'язаних з автоматизованим обліком набору реагентів для ампліфікації. Набори реагентів для ампліфікації повинні мати один і той же номер партії. Розморозьте **нові** реагенти для ампліфікації при температурі 15-30°C або 2-8°C та зберігайте їх при температурі 2-8°C до необхідності в додаванні мастер-міксу для ампліфікації. Після розморозжування **нові** реагенти для ампліфікації можна зберігати при температурі 2-8°C до 24 годин, якщо вони не використовуються одразу.

ПРИМІТКА: неповні набори реагентів для ампліфікації, що використовуються вдруге, НЕ можна зберігати при температурі 2-8°C перед використанням. Вони повинні зберігатися при температурі від –25 до –15°C до необхідності в додаванні мастер-міксу. Після зміни температурного режиму загальний час впливу температури в приміщенні не повинен перевищувати 25 хвилин, в тому числі у випадках, коли набори виймаються з місця зберігання, але не використовуються. Через 25 хвилин утилізуйте неповні набори реагентів для ампліфікації.

У таблиці нижче наведено кількість реагентів для прободготовки та флаконів внутрішнього контролю, необхідних для проведення певної кількості реакцій.

Вимоги до реагентів для прободготовки та внутрішнього контролю

Реагент	Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
<i>m</i> Microparticles	1 флакон	2 флакони	2 флакони	2 флакони
<i>m</i> Lysis	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
<i>m</i> Wash 1	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
<i>m</i> Wash 2	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
<i>m</i> Elution Buffer	1 флакон	2 флакони	3 флакони	4 флакони
Внутрішній контроль ^a	1 новий флакон чи 1 неповний флакон	1 новий флакон чи 2 неповні флакони	2 нові флакони чи 3 неповні флакони	2 нові флакони чи 4 неповні флакони

^a Можна використовувати комбінацію нових та неповних флаконів внутрішнього контролю.

10. Акуратно переверніть флакони Abbott *m*Sample Preparation для забезпечення гомогенності розчину. Якщо наявні кристали при відкритті флакона в кожному реагенті, залиште реагенти для врівноваження при кімнатній температурі, поки кристали не розчиняться. Не використовуйте реагенти до повного розчинення кристалів.
11. Перед використанням тричі вортексуйте кожен ВК по 2-3 секунди.
12. За допомогою відкаліброваної прецизійної піпетки, **ПРИЗНАЧЕНОЇ ТІЛЬКИ ДЛЯ РОБОТИ З ВНУТРІШНІМ КОНТРОЛЕМ**, додайте 750 µL ВК до кожного флакона буферного розчину *m*Lysis Buffer. Перемішайте, обережно перевертаючи контейнер 5-10 разів, щоб не утворилась піна.
13. Помістіть позитивний контроль низької концентрації та позитивний контроль високої концентрації, негативний контроль, калібратори (якщо застосовуються) у штативи для зразків в аналізаторі Abbott *m*2000sp.
14. Після завершення інкубації струсніть пробірки зі зразками DBS та помістіть їх у штативи для зразків аналізатора Abbott *m*2000sp.
ПРИМІТКА: перевірте, чи штативи для зразків Abbott *m*2000sp було відкалібровано відповідно до процедури Abbott RealTime HIV-1 DBS.
15. Завантажте штативи для зразків, уникаючи розплескування. Якщо використовуються пробірки зі штрих-кодом, вони повинні бути повернуті праворуч для зчитування. Перевірте, чи кожна пробірка надійно встановлена в штатив для зразків так, щоб її дно торкалося дна штативу.
16. Помістіть заповнені штативи для зразків в Abbott *m*2000sp послідовно в позиції для штативів, перший штатив якнайдалі праворуч на робочому столі, а всі наступні - ліворуч від першого штативу.
17. Розмістіть реакційні ємності на 5 mL в 1-mL тримач підсистеми Abbott *m*2000sp.
18. Завантажте реагенти набору Abbott *m*Sample Preparation System та планшет на 96 глибоких лунок Abbott 96 Deep-Well Plate на робочий стіл Abbott *m*2000sp, як це описано у розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m*2000sp.
19. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми для HIV-1 DBS. Виберіть та розпочніть протокол екстракції зразків за вказівками розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m*2000sp.
20. Введіть значення калібраторів (це є необхідним, якщо калібрвальна крива не збережена в пам'яті аналізатора Abbott (*m*2000rt) і контролів, які є специфічними для кожної партії, в поля «Sample Extraction: Worktable Setup, Calibrator and Control» (Екстракція зразків: налаштування робочого столу, калібратори і контролі). Значення калібраторів і контролів, специфічні для кожної партії, наведені в картках, що додаються до набору калібраторів та контролів Abbott RealTime HIV-1.
21. Протокол додавання мастер-міксу Abbott *m*2000sp Master Mix Addition (пункт 23) необхідно розпочати протягом однієї години після завершення процесу прободготовки.

ПРИМІТКА: змініть рукавички перед початком роботи з реагентами для ампліфікації.

22. Після завершення підготовки зразків завантажте реагенти для ампліфікації і пробірку мастер-мікс (за необхідності) на робочий стіл Abbott *m2000sp*. У таблиці нижче наведено кількість наборів реагентів для ампліфікації відповідно до кількості реакцій. Якщо використовується 1 набір реагентів для ампліфікації, пробірка мастер-мікс не потрібна.

Вимоги до набору реагентів для ампліфікації^a

Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
1 новий; до 4 з неповними наборами	2 нових; до 4 з неповними наборами	3 нових; до 4 з неповними наборами	4 нових або неповних набори

^a Див. Інструкцію з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат.№ 9K20 вер.6 чи вище) для отримання інструкцій щодо керування запасами, для того щоб визначити максимальну кількість реакцій, які можуть бути протестовані з вибраними неповними наборами.

- Неповні набори реагентів для ампліфікації можна використовувати виключно на тому ж аналізаторі Abbott *m2000sp*, на якому проводилась попередня підготовка набору реагентів. Повторне застосування наборів реагентів для ампліфікації на іншому аналізаторі може призвести до помилки та затримки тестування.
- Неповні і нові набори реагентів для ампліфікації можна використовувати одночасно.

ВАЖЛИВО: неповні набори реагентів для ампліфікації повинні зберігатись при температурі від -25 до -15°C безпосередньо до наступного використання. Перевірте, чи мастер-мікс був розморожений перед розміщенням неповного набору(ів) на робочий стіл Abbott *m2000sp*. Після зміни температурного режиму зберігання, що становив від -25 до -15°C , неповні набори реагентів для ампліфікації, що будуть використовуватись другий раз, необхідно використати протягом 25 хвилин чи утилізувати. Це стосується загальної температури в приміщенні в тому числі у випадках, коли набори виймаються з місця зберігання, але не використовуються.

- Переконайтесь, що вміст нових наборів реагентів для ампліфікації знаходиться на дні. Для цього перед відкриттям постукайте флаконами по столу, тримаючи їх у вертикальному положенні 5-10 разів.
- Не стукайте по неповних наборах реагентів для ампліфікації, що використовуються повторно. Це може призвести до втрати об'єму мастер-міксу у кришці.
- Зніміть кришки. Якщо новий набір реагентів для ампліфікації буде збережено для повторного використання, флакони необхідно закрити кришками для подальшого зберігання. Якщо ви плануєте повторно використовувати оригінальні кришки для флаконів реагентів, їх можна не викидати. Якщо ви плануєте використовувати нові кришки для флаконів реагентів, оригінальні кришки можна утилізувати.
- Неповні набори реагентів для ампліфікації завантажуються ліворуч від нових наборів реагентів для ампліфікації на робочий стіл Abbott *m2000sp*.
- Перевірте, чи набори реагентів для ампліфікації надійно встановлені в аналізаторі.

23. Виберіть відповідний планшет з глибокими лунками, який є сумісним з відповідною процедурою екстракції зразків. Розпочніть протокол додавання мастер-міксу Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Дотримуйтесь вказівок розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.

ПРИМІТКА: оператор не повинен вручну заповнювати всі порожні/незаповнені лунки в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Після завершення процедури екстракції зразків аналізатор Abbott *m2000sp* автоматично заповнює всі порожні лунки в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate буферним розчином *mElution* у разі, якщо під час постановки було оброблено більше 48 зразків. Заповнення планшетів не виконується для постановок, що містять 48 зразків чи менше.

- Якщо це пропонується аналізатором, підставка Reagent Carrier 2 повинна залишатися на місці; як мінімум, на ній розміщується реакційна ємність для буферного розчину *mElution Buffer* (Reagent Carrier 2, позиція 6). Якщо ця реакційна ємність була вивантажена, розмістіть на підставці Reagent Carrier 2, позиція 6, нову реакційну ємність з етикеткою *mElution Buffer*. Системна рідина, яку буде додано до реакційної ємності, буде використовуватися для заповнення порожніх лунок. Після завершення цього процесу система продовжить процедуру з додавання мастер-міксу.

ПРИМІТКА: інструкції з використання функції автоматизованого заповнення планшета, що застосовуються під час роботи системи, знаходяться в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат. № 9K20 версії 6 чи вище), розділу 5 «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) - «Sample Extraction – Closed Mode» (Екстракція зразків – закритий режим).

- Протокол Abbott *m2000rt* (пункт 27) потрібно розпочати протягом 50 хвилин після запуску протоколу додавання мастер-міксу Master Mix Addition (пункт 23).

ПРИМІТКА: якщо після пункту 23 процедура з додавання мастер-міксу переривається за будь-якої причини, новий оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate повинен бути використаний у разі, якщо необхідно буде повторити виконання протоколу з додавання мастер-міксу Abbott *m2000sp* Master Mix Addition Protocol (пункт 23).

24. Увімкніть і запустіть аналізатор Abbott *m2000rt* у зоні ампліфікації.

ПРИМІТКА: аналізатор Abbott *m2000rt* потребує 15 хвилин для розігріву.

ПРИМІТКА: зніміть рукавички перед поверненням у зону підготовки зразків.

25. Запечатуйте оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate після того, як аналізатор Abbott *m2000sp* завершить додавання зразків і мастер-міксу відповідно до розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.
26. Помістіть запечатаний оптичний реакційний планшет у штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base для переносу в аналізатор Abbott *m2000rt*.
27. Помістіть оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в аналізатор Abbott *m2000rt*. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми для вірусного навантаження HIV-1 DBS. Розпочніть протокол, як описано в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

ПРИМІТКА: рекомендується переносити замовлення на тестування, використовуючи компакт-диск чи через мережеве з'єднання, за допомогою програмного забезпечення з функцією імпорту та експорту *m2000sp* та *m2000rt*. При створенні замовлення на тестування в ручному режимі Abbott *m2000rt* введіть ідентифікаційні номери (ID) досліджуваних зразків у відповідні позиції ПЛР-планшета відповідно до таблиці «Wells for Selected Plate» (Лунки обраного планшета), що знаходиться на екрані «PCR Plate Results» (Результати, отримані з ПЛР-планшета) аналізатора Abbott *m2000sp*. Див. Розділ 5 Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.

28. Якщо підготований неповний набір реагентів для ампліфікації повинен бути використаний повторно, закрийте 3 флакони реагентів оригінальними або новими кришками (кат. № 3N20-01) і зберігайте при температурі від -25 до -15°C у вертикальному положенні в захищеному від світла місці. Утилізуйте набори реагентів для ампліфікації, що закінчилися, а також ті, що використовувались повторно.

ВАЖЛИВО: реагенти для ампліфікації, які будуть використовуватись повторно, слід помістити в умови зберігання при температурі від -25 до -15°C на 50 хвилин з моменту ініціалізації протоколу додавання мастер-міксу.

ПРОЦЕДУРИ ПОСТОБРОБКИ ДЛЯ ПРОТОКОЛУ II ТА III

1. Заберіть Планшет на 96 глибоких лунок Abbott 96 Deep-Well Plate з робочого столу та утилізуйте відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.
2. Помістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в герметичний пластиковий пакет і утилізуйте його разом з рукавичками, які використовувались для роботи з планшетом, відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.
3. Очистіть штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base перед наступним використанням, відповідно до вказівок Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

ПРОЦЕДУРИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ

Оптичне калібрування Abbott *m2000rt*

Докладну інформацію про процедуру оптичного калібрування Abbott *m2000rt* дивіться в розділі «Calibration Procedures» (Процедури калібрування) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

Оптичне калібрування аналізатора Abbott *m2000rt* необхідне для точного вимірювання і розпізнавання флуоресцентних барвників при роботі з аналізом Abbott RealTime HIV-1.

Наступні оптичні планшети Abbott *m2000rt* використовуються для калібрування аналізатора Abbott *m2000rt* для проведення аналізу Abbott RealTime HIV-1:

- Планшет FAM™ Plate (карбоксіфлуоресцеїн)
- Планшет ROX™ Plate (карбоксі-Х-родамін)
- Планшет VIC® Plate (барвник власної розробки)

Калібрування аналізу

Детальний опис процедури калібрування дивіться в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*.

Калібрувальна крива необхідна для кількісного визначення концентрації РНК ВІЛ-1 досліджуваних зразків і контролів. Для створення калібрувальної кривої (концентрація ВІЛ-1 по відношенню до порогового циклу [C_T], при якому виявляється реактивний рівень флуоресцентного сигналу) використовуються два калібратори, кожен з яких тестується у трьох повторах. Нахил і перетин калібрувальної кривої розраховуються та зберігаються у базі даних аналізатора. Концентрація РНК ВІЛ-1 досліджуваного зразка обчислюється на основі даних збереженої калібрувальної кривої. Результати автоматично повідомляються на робочу станцію Abbott *m2000rt*.

Дотримуйтесь процедури екстракції зразків, додавання мастер-міксу, протоколів ампліфікації та детекції, як зазначено в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*.

Після того як калібрування Abbott RealTime HIV-1 буде прийняте і збережене, його можна використовувати протягом 6 місяців. Протягом цього часу всі наступні зразки можна тестувати без подальшого калібрування, крім випадків, коли:

- Використовується Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit з новим номером партії.
- Використовується Набір для пробопідготовки Abbott *mSample Preparation System* (4 × 24 Preps) з новим номером партії.
- Використовується файл з програмним додатком Abbott RealTime HIV-1 для різного об'єму досліджуваних зразків.
- Встановлюється файл з новою специфікацією програмного додатку Abbott RealTime HIV-1.
- Здійснюється оптичне перекалібрування барвника Pure Dye з використанням барвників (FAM, VIC або ROX), специфічних для аналізу Abbott RealTime HIV-1, відповідно до розділу «Calibration Procedures» (Процедури калібрування) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

Детекція інгібування

Під час проведення процедури калібрування для ВК встановлюється показник достовірності порогового циклу [C_T].

Визначена відповідна кількість ВК додається в кожен досліджуваний зразок, калібратор і контроль на початку етапу пробопідготовки і реєструється аналізатором Abbott *m2000rt*, що вказує на правильність обробки досліджуваних зразків і достовірність результатів аналізу. ВК складається з послідовності РНК, не пов'язаної з послідовністю-мішенню ВІЛ-1.

Медіанний цикл ампліфікації, при якому сигнал флуоресценції послідовності-мішені ВК буде виявлено в зразках калібраторів, встановлює діапазон достовірності C_T для ВК, якому повинні відповідати всі наступні оброблені зразки.

Мітка помилки контролю відображається на екрані, коли значення досліджуваного зразка або контролю не відповідає цій специфікації. Пояснення коригувальних заходів стосовно мітки помилки контролю дивіться в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*. Зразки, в яких значення C_T для ВК перевищують встановлений діапазон, необхідно повторно тестувати, починаючи з етапу пробопідготовки.

Негативні та позитивні контроли

Негативний контроль, позитивний контроль низької концентрації та позитивний контроль високої концентрації включаються в кожне замовлення на тестування з метою оцінки правильності виконання аналізу.

Значення позитивного контролю низької концентрації та позитивного контролю високої концентрації, специфічні для кожної партії, наведені в Картці Abbott RealTime HIV-1 Control Kit Card, що додається до набору контролів, і повинні вводитися в протокол аналізу при проведенні аналізу.

Мітка помилки контролю відображається на дисплеї, коли результати контролів виходять за межі діапазону. Пояснення коригувальних заходів стосовно мітки помилки контролю дивіться в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*. Якщо негативні або позитивні контроли виходять за межі діапазону, всі зразки і контроли цієї постановки підлягають повторній обробці, починаючи з етапу підготовки зразків.

ВІЛ-1 не повинен бути виявлений в негативному контролі. ВІЛ-1, виявлений в негативному контролі, свідчить про контамінацію іншими зразками або продуктами ампліфікації, занесеними під час етапу пробопідготовки або підготовки до роботи Оптичного реакційного планшета на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate. З метою уникнення контамінації обробіть аналізатори Abbott *m1000* чи Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt* і повторіть етап пробопідготовки контролів і досліджуваних зразків відповідно до розділу «Заходи безпеки при виконанні процедур». Якщо негативні контроли продовжують давати реактивні результати, зверніться до представника компанії Abbott.

Моніторинг лабораторії на наявність контамінації

Рекомендується проводити даний тест щонайменше один раз на місяць для перевірки лабораторних поверхонь і обладнання на контамінацію продуктом ампліфікації. Дуже важливо перевіряти всі зони, які могли контактувати з обробленими зразками, контролями, калібраторами та/або продуктом ампліфікації. Сюди входять предмети регулярного використання, зокрема піпетки, функціональні кнопки аналізаторів Abbott *m2000sp* та Abbott *m2000rt*, поверхні лабораторних столів, мікроцентрифуги та адаптери для центрифуг.

1. Додайте 0.8 mL води, що не містить РНКаз, у мікроцентрифужну пробірку об'ємом 1.7 mL зі ступенем очищення достатнім для використання у молекулярній біології.
2. Змочіть ватний кінчик аплікатора (типу Puritan або еквівалент) у вільній від РНКаз воді з мікроцентрифужної пробірки.
3. Використовуючи змочений ватний кінчик аплікатора, за допомогою обертальних рухів протріть область, що буде перевірятися. Помістіть аплікатор у мікроцентрифужну пробірку.
4. Прокрутіть ватний кінчик у вільній від РНКаз воді 10 разів, потім натисніть аплікатором вздовж по внутрішній стороні пробірки, щоб рідина складала назад в розчин, що знаходиться у нижній частині мікроцентрифужної пробірки. Утилізуйте аплікатор.
5. Перенесіть 0.5 mL буферного розчину *mWash 1* в чисту пробірку за допомогою піпетки, призначеної для використання з внутрішнім контролем.
6. Додайте по 20 µL буферного розчину *mWash 1* в кожен мікроцентрифужну пробірку.
7. Закрийте мікроцентрифужну пробірку кришкою.
8. Тестуйте даний зразок відповідно до процедури проведення аналізу даної інструкції з використання.
 - Перенесіть рідину з мікроцентрифужної пробірки в реакційну ємність на 5 mL.
 - Доведіть об'єм до 1.5 mL, використовуючи воду, вільну від РНКаз.
9. Про наявність контамінації свідчить виявлення нуклеїнової кислоти ВІЛ-1 в зразках мазків.

10. Якщо нуклеїнова кислота ВІЛ-1 виявлена на обладнанні, виконайте інструкції з очищення і знезараження, наведені в Інструкції з експлуатації відповідного обладнання. Якщо нуклеїнова кислота ВІЛ-1 виявлена на поверхнях, очистіть забруднені ділянки за допомогою 1.0% (об'ємний вміст) розчину гіпохлориту натрію, а після цього – за допомогою 70% етанолу або води.

ПРИМІТКА: хлорні розчини можуть пошкодити обладнання і метал. Використовуйте достатню кількість 70% етанолу або води і повторюйте обробку, доки залишки хлору не зникнуть.

11. Повторіть тестування контамінованих ділянок, виконавши пункти з 1 по 10.

РЕЗУЛЬТАТИ ЗРАЗКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ

Розрахунок

Концентрація вірусної РНК ВІЛ-1 досліджуваного зразка обчислюється на основі даних збереженої калібрувальної кривої. Аналізатор Abbott *m2000rt* автоматично передає звіт про результати на робочу станцію Abbott *m2000rt*. Результати аналізу можуть виражатись в копіях/mL, в логарифмах log [копій/mL], міжнародних одиницях (IU)/mL або в логарифмах log [U/mL]; (1 IU = 0.58 копій, 1 копія = 1.74 IU).

Інтерпретація результатів

Об'єм зразка	Результат	Інтерпретація
1.0 mL	Не виявлено	Мішень не виявлено
	< 1.60 Log [копій/mL] ^a	Виявлено
	1.60 - 7.00 Log [копій/mL]	
	> 7.00 Log [копій/mL]	> ULQ ^d
0.6 mL	Не виявлено	Мішень не виявлено
	< 1.60 Log [копій/mL] ^a	Виявлено
	1.60 - 7.00 Log [копій/mL]	
	> 7.00 Log [копій/mL]	> ULQ ^d
0.5 mL	Не виявлено	Мішень не виявлено
	< 1.88 Log [копій/mL] ^b	Виявлено
	1.88 - 7.00 Log [копій/mL]	
	> 7.00 Log [копій/mL]	> ULQ
0.2 mL	Не виявлено	Мішень не виявлено
	< 2.18 Log [копій/mL] ^c	Виявлено
	2.18 - 7.00 Log [копій/mL]	
	> 7.00 Log [копій/mL]	> ULQ

^a 40 копій/mL

^b 75 копій/mL

^c 150 копій/mL

^d ULQ = верхня межа кількісного визначення

РЕЗУЛЬТАТИ ЗРАЗКІВ DBS

Результат концентрації зразка отриманий під час проведення протоколу *m2000rt* DBS представлений концентрацією вірусної ВІЛ-1 в плазмі крові чи зразках цільної крові, з яких були отримано зразки DBS. Аналізатор Abbott *m2000rt* автоматично передає звіт про результати на робочу станцію Abbott *m2000rt*. Результати аналізу можуть виражатись в копіях/mL, в логарифмах log [копій/mL], міжнародних одиницях (IU)/mL або в логарифмах log [IU/mL]; (1 IU = 0.58 копій, 1 копія = 1.74 IU).

Інтерпретація результатів

Результат	Інтерпретація
Не виявлено	Мішень не виявлено
< 2.92 Log [копій/mL] ^a	Виявлено
2.92 - 7.00 Log [копій/mL]	
> 7.00 Log [копій/mL]	> ULQ ^b

^a 839 копій/mL

^b ULQ = верхня межа кількісного визначення

Значення концентрації контролів та калібраторів, наведені у картках набору, представляються бажану концентрацію ВІЛ-1 в еквівалентах даних зразків плазми крові. Коли аналіз проводиться з використанням протоколу DBS, значення концентрації контролів та калібраторів будуть відображати еквівалентні значення DBS. Дана процедура не впливає на результати зразків DBS.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

- **ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO**
- Оптимальна продуктивність даного тесту вимагає відповідного забору зразків пацієнтів, зберігання та транспортування до місця тестування (дивіться розділ «ЗАБІР ЗРАЗКА, ЗБЕРІГАННЯ ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ ДО МІСЦЯ ТЕСТУВАННЯ» даної інструкції з використання).
- Для роботи з аналізом Abbott RealTime HIV-1 можуть використовуватись зразки плазми крові людини (антикоагулянт ACD-A та EDTA) та зразки DBS (зібрані у пробірці EDTA). Застосування інших антикоагулянтів не було підтверджено для аналізу Abbott RealTime HIV-1.
- Проведення аналізу Abbott RealTime HIV-1 дозволяється виключно персоналу, що пройшов навчання методикам молекулярної діагностики та/або роботі з аналізаторами Abbott *m1000* та Abbott *m2000*.
- Аналізатори та процедури аналізу знижують ризик контамінації продуктом ампліфікації. Тим не менш, процес контамінації нуклеїновими кислотами калібраторів, позитивних контролів або досліджуваних зразків повинен контролюватися в процесі роботи, що вимагає знання правил належної лабораторної практики і дотримання вказівок даної інструкції з використання.
- Як і у випадку будь-якого іншого діагностичного тесту результати, отримані в аналізі Abbott RealTime HIV-1, повинні інтерпретуватись у поєднанні з іншими клінічними і лабораторними даними. Зразок із результатом «Не виявлено» не можна розцінювати як негативний на РНК ВІЛ-1.

ОКРЕМІ РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЛЯ ЗРАЗКІВ ПЛАЗМИ КРОВІ

Робочі характеристики були визначені за допомогою аналізу Abbott RealTime HIV-1, процедури підготовки зразків на аналізаторі Abbott *m2000sp* і протоколу для зразків об'ємом 1.0 mL, якщо не вказано інше.

Межа детекції (LOD)

Межа детекції визначається як концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95% або вище.

Межа детекції, об'єм досліджуваних зразків 1.0 mL

Межа детекції (LOD) аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 40 копій/mL при використанні процедури для зразків об'ємом 1.0 mL. Межа детекції (LOD) була визначена шляхом тестування розведень вірусного стандарту Лабораторії вірусології з гарантії якості (VQA) Групи клінічних досліджень СНІДу. Розведення були зроблені у ВІЛ-1-негативній плазмі крові людини. Тестування проводилося з трьома партіями реагентів для ампліфікації на трьох аналізаторах Abbott *m2000*. Результати, що характеризують аналітичну чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1.

Концентрація (копій/mL)	Протестовано	Виявлено	Відсоток виявлення
100	57	57	100
75	57	57	100
60	57	57	100
50	57	57	100
40	57	57	100
30	57	55	96
20	57	50	88
10	56 ^a	38	68
5	57	30	53

^a Під час одного повтору було отримано повідомлення про невалідну реакцію реплікації, і її було виключено з аналізу даних.

Пробіт-аналіз даних встановив, що концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95%, становила 25 копій/mL (95% ДІ 20 - 33 копій/mL).

Межа детекції, об'єм досліджуваних зразків 0.6 mL

Межа детекції (LOD) аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 40 копій/mL при використанні процедури для зразків об'ємом 0.6 mL. Межа детекції (LOD) для процедури для зразків об'ємом 0.6 mL була визначена таким же чином, що і межа детекції для процедури для зразків об'ємом 1.0 mL. Результати, що характеризують аналітичну чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1, наведені в

Таблиці 2.

Таблиця 2.			
Концентрація (копії/mL)	Протестовано	Виявлено	Відсоток виявлення
100	57	57	100
75	57	56	98
60	57	57	100
50	57	54	95
40	57	54	95
30	57	55	96
20	57	44	77
10	57	27	47
5	57	13	23

Пробіт-аналіз даних встановив, що концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95%, становила 39 копій/mL (95% ДІ 33 - 49 копій/mL).

Межа детекції, об'єм досліджуваних зразків 0.5 mL

Межа детекції (LOD) аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 75 копій/mL при використанні процедури для зразків об'ємом 0.5 mL. Межа детекції (LOD) для процедури для зразків об'ємом 0.5 mL була визначена таким же чином, що і межа детекції для процедури для зразків об'ємом 1.0 mL. Результати, що характеризують аналітичну чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1, наведені в Таблиці 3.

Таблиця 3.

Концентрація (копії/mL)	Протестовано	Виявлено	Відсоток виявлення
100	57	57	100
75	57	57	100
60	57	54	95
50	56 ^a	52	93
40	57	47	82
30	57	46	81
20	57	42	74
10	57	26	46
5	57	21	37

^a Під час одного повтору було отримано повідомлення про невалідну реакцію реплікації, і її було виключено з аналізу даних.

Пробіт-аналіз даних встановив, що концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95%, становила 65 копій/mL (95% ДІ 51 - 88 копій/mL).

Межа детекції, об'єм досліджуваних зразків 0.2 mL

Межа детекції (LOD) аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 150 копій/mL при використанні процедури для зразків об'ємом 0.2 mL. Межа детекції для процедури для зразків об'ємом 0.2 mL була визначена таким же чином, що і межа детекції для процедури для зразків об'ємом 1.0 mL. Результати, що характеризують аналітичну чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1, наведені в Таблиці 4.

Таблиця 4.

Концентрація (копії/mL)	Протестовано	Виявлено	Відсоток виявлення
250	57	57	100
200	57	56	98
150	57	56	98
100	57	54	95
75	57	54	95
60	57	47	82
50	57	38	67
40	57	39	68
30	54 ^a	30	56
20	52 ^a	19	37

^a Вісім повторів були визнані невалідними через помилку в роботі аналізатора і були виключені з аналізу даних.

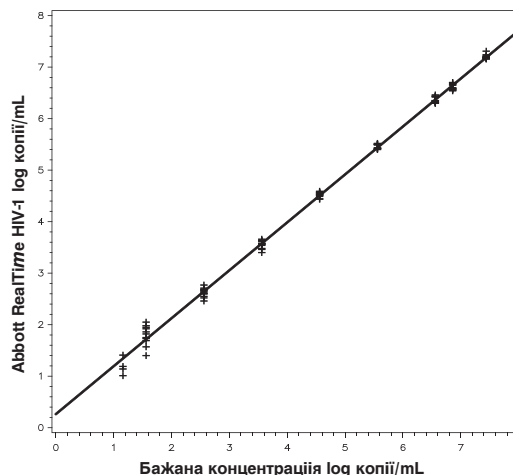
Пробіт-аналіз даних встановив, що концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95%, становила 119 копій/mL (95% ДІ 102 - 150 копій/mL).

Діапазон лінійності

Верхня межа кількісного визначення (ULQ) для аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 10 мільйонів копій/mL, а нижня межа кількісного визначення є еквівалентною межі детекції (LOD) (40 копій/mL при використанні процедури для об'єму зразків 1.0 mL та 0.6 mL, 75 копій/mL – при використанні процедури для об'єму зразків 0.5 mL, а також 150 копій/mL – при використанні процедури для об'єму зразків 0.2 mL).

Було протестовано панель з дев'яти зразків, підготовлених шляхом розведення захищеної РНК ВІЛ-1 з 7.44 log копій/mL до 1.16 log копій/mL у ВІЛ-1 в негативній плазмі крові людини. Аналіз лінійності був проведений відповідно до вимог Національного комітету з клінічних лабораторних стандартів (National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS) EP6-A.³⁵ Результати лінійності для аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені на Графіку 1.

Графік 1.



Аналіз Abbott RealTime HIV-1 показав лінійність у всьому діапазоні тестування (n = 99, r = 0.999, нахил = 0.93 та перетин = 0.26).

Відтворюваність

Відтворюваність аналізу Abbott RealTime HIV-1 була оцінена при використанні процедури для об'єму зразків 1.0 mL, пробопідготовки за допомогою аналізаторів Abbott m1000 та Abbott m2000sp, а також ручного методу пробопідготовки. Аналіз Abbott RealTime HIV-1 розрахований для досягнення середнього квадратичного відхилення (СКВ) між аналізами, меншого або рівного 0.25 log копій РНК ВІЛ-1/mL для зразків, що містять ВІЛ-1 у концентрації від 500 до 5 мільйонів копій/mL. Панель із семи зразків РНК ВІЛ-1 була підготовлена шляхом розведення вірусного штаму ВІЛ-1 (зразки панелі від 1 до 3) і захищеної РНК ВІЛ-1 (зразки панелі від 4 до 7) у негативній плазмі крові людини. Для проведення досліджень щодо відтворюваності аналізу з використанням аналізаторів Abbott m1000 та Abbott m2000sp зразки панелі були перевірені в п'яти повторах (загалом 15 постановок) з використанням трьох аналізаторів та трьох партій реагентів для ампліфікації. Для проведення дослідження відтворюваності аналізу з використанням ручного методу пробопідготовки зразки панелі були протестовані в двох повторах для першої постановки на кожному з аналізаторів та в трьох повторах для кожної наступної постановки (загалом 15 постановок) з використанням трьох аналізаторів Abbott m2000rt та трьох партій реагентів для ампліфікації. Дослідження відтворюваності аналізу проводилось відповідно до вимог Національного комітету з клінічних лабораторних стандартів (NCCLS) EP10-A2.³⁶ Були визначені середні квадратичні відхилення у межах постановки, між постановками та загальне міжаналітичне відхилення (у межах постановки і між постановками). Результати, що представляють відтворюваність аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені в Таблицях 5, 6 та 7.

Таблиця 5.**Відтворюваність аналізу для аналізатора Abbott m1000**

Зразок панелі	К-сть	Середня конц. (копії/mL)	Середня конц. (log копії/mL)	Складова СКВ		СКВ методу ^a
				у межах постановки	Складова СКВ між постановками	
1	75	57	1.75	0.21	0.00	0.21
2	75	573	2.76	0.08	0.00	0.08
3	75	5,000	3.70	0.05	0.02	0.06
4	73 ^{b,c}	35,751	4.55	0.03	0.01	0.04
5	75	315,065	5.50	0.07	0.03	0.07
6	74 ^b	2,947,538	6.47	0.05	0.04	0.07
7	75	5,347,285	6.73	0.04	0.05	0.07

^a СКВ методу містить складові, отримані у межах постановки, і складові, отримані між постановками.

^b Дві повтори були інгібовані та виключені з аналізу даних.

^c РНК ВІЛ-1 не була виявлена в одному повторі.

Таблиця 6.**Відтворюваність аналізу для аналізатора Abbott m2000**

Зразок панелі	К-сть	Середня конц. (копії/mL)	Середня конц. (log копії/mL)	Складова СКВ		СКВ методу ^a
				у межах постановки	Складова СКВ між постановками	
1	74 ^b	72	1.86	0.18	0.07	0.19
2	75	652	2.810	0.08	0.00	0.08
3	75	5,417	3.73	0.04	0.02	0.05
4	75	39,458	4.60	0.04	0.03	0.05
5	74 ^c	358,587	5.55	0.03	0.03	0.04
6	75	3,102,654	6.49	0.03	0.02	0.04
7	75	5,953,879	6.77	0.04	0.04	0.05

^a СКВ методу містить складові, отримані у межах постановки, і складові, отримані між постановками.

^b РНК ВІЛ-1 не була виявлена в одному повторі.

^c Один повтор було інгібовано та виключено з аналізу даних.

Таблиця 7.**Відтворюваність аналізу для методу підготовки зразків в ручному режимі**

Зразок панелі	К-сть	Середня конц. (копії/mL)	Середня конц. (log копії/mL)	Складова СКВ		СКВ методу ^a
				у межах постановки	Складова СКВ між постановками	
1	40 ^b	46	1.66	0.21	0.07	0.22
2	41 ^c	471	2.67	0.11	0.09	0.14
3	42	4,474	3.65	0.05	0.10	0.11
4	42	34,503	4.54	0.02	0.06	0.07
5	42	362,283	5.56	0.04	0.08	0.09
6	42	3,597,099	6.56	0.03	0.04	0.05
7	42	6,552,825	6.82	0.05	0.05	0.07

^a СКВ методу містить складові, отримані у межах постановки, і складові, отримані між постановками.

^b РНК ВІЛ-1 не була виявлена в двох повторях.

^c Один повтор було інгібовано та виключено з аналізу даних.

Речовини, що потенційно викликають інтерференцію

Було оцінено чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1 до впливу підвищених рівнів ендогенних речовин та препаратів, що зазвичай знаходяться в організмі ВІЛ-1-інфікованих осіб. Було протестовано ВІЛ-1-негативні зразки та зразки, що містять 10,000 копій/mL РНК ВІЛ-1.

В усіх досліджуваних позитивних і негативних зразках при використанні аналізу Abbott RealTime HIV-1 не спостерігалось інтерференції в присутності наступних речовин:

- Гемоглобін 500 mg/dL
- Тригліцериди 3000 mg/dL
- Білірубін 20 mg/dL
- Білок 9 g/dL

Концентрації речовин, що перевищують максимальні рівні в плазмі або сироватці крові, були перевірені в п'яти об'єднаних групах препаратів. В усіх досліджуваних позитивних і негативних зразках при використанні аналізу Abbott RealTime HIV-1 інтерференція не спостерігалась в присутності наступних об'єднаних груп препаратів:

Об'єднана

група препаратів

Досліджувані препарати

1	Зидовудин, саквінавір, ритонавір, кларитроміцин, інтерферон 2a, інтерферон 2b
2	Абакавіру сульфат, ампренавір, пегінтерферон 2a, пегінтерферон 2b, рибавірин
3	Тенофовір дизопроксил фумарат, ламівудин, індинавіру сульфат, ганцикловір, валганцикловіру гідрохлорид, ацикловір
4	Ставудин, ефавіренц, лопінавір, енфувіриді, цiproфлораксацин
5	Залцитабін, невірапін, нелфінавір, азитроміцин, валацикловір

Специфічність

Цільова специфічність аналізу Abbott RealTime HIV-1 більша або рівна 99.5%.

Специфічність аналізу Abbott RealTime HIV-1 була оцінена шляхом тестування 187 ВІЛ-1 серонегативних зразків плазми крові. Зразки були протестовані на трьох аналізаторах Abbott m2000 з трьома партіями реагентів для ампліфікації. РНК ВІЛ-1 не була виявлена в цьому репрезентативному дослідженні, що вказує на 100% (187/187) специфічність (95% ДІ 98.05 - 100.00).

Специфічність аналізу була в подальшому оцінена при тестуванні 70 зразків, отриманих у осіб, у яких було діагностовано або які проходили скринінгове обстеження на предмет аутоімунного захворювання, або у осіб, які були серологічно охарактеризовані як позитивні по відношенню до наступних маркерів: системний червоний вовчак (СЧВ), антинуклеарні антитіла (АНА), ревматоїдний фактор (РФ), антиген HBsAg, антитіла до вірусу Т-клітинного лейкозу людини типу I/II, антитіла до ВГС та антитіла до ВІЛ-2. РНК ВІЛ-1 не була виявлена в жодному з досліджуваних зразків. Результати показали, що наявність аутоімунних захворювань або серологічних маркерів аутоімунних захворювань або вірусних патогенів, крім ВІЛ-1, не впливає на специфічність аналізу Abbott RealTime HIV-1.

Перехресна реактивність

Наступні віруси та мікроорганізми були оцінені на предмет потенційної перехресної реактивності в аналізі Abbott RealTime HIV-1. Очищену нуклеїнову кислоту або вірусний лізат кожного з мікроорганізмів або вірусів додавали в зразки, негативні на РНК ВІЛ-1, та в зразки, що містили 10,000 копій/mL РНК ВІЛ-1. Вірус імунodefіциту людини типу 2 Вірус вісповакцини Т-лімфотропний вірус людини типу 1 Поліомавірус ВК людини Вірус гепатиту С Вірус папіломи людини типу 16 Вірус гепатиту В Вірус папіломи людини типу 18 Вірус Епштейна-Барр *Neisseria gonorrhoeae* Вірус простого герпесу типу 1 *Chlamydia trachomatis* Вірус простого герпесу типу 2 *Candida albicans* Цитомегаловірус *Staphylococcus aureus* Вірус герпесу людини типу 6В *Staphylococcus epidermidis* Вірус герпесу людини типу 8 *Mycobacterium gordonae* Вірус Варіцелла-Зостер *Mycobacterium smegmatis*

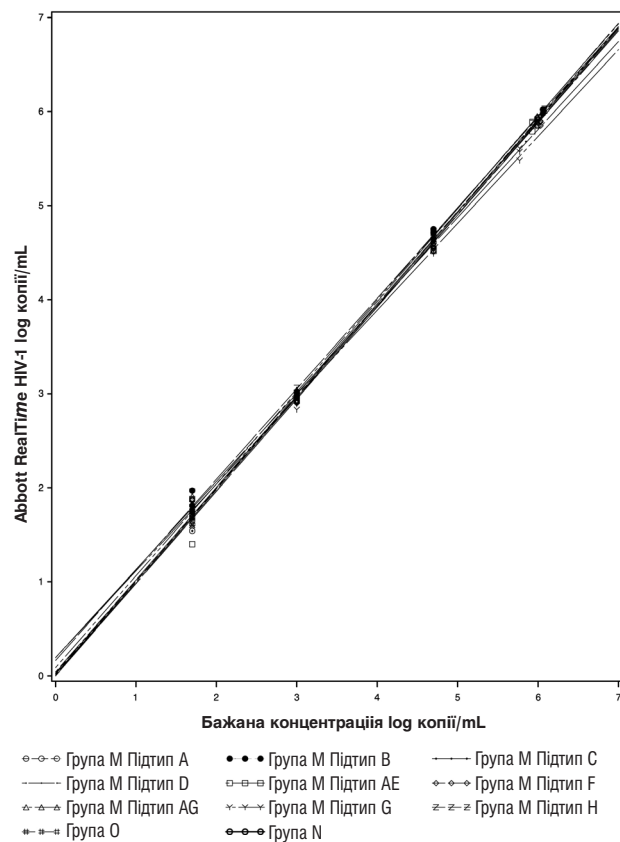
В усіх досліджуваних позитивних і негативних зразках при роботі з Abbott RealTime HIV-1 не спостерігалось інтерференції в присутності речовин з потенційною перехресною реактивністю.

Виявлення підтипів і груп ВІЛ-1

Продуктивність аналізу Abbott RealTime HIV-1 щодо виявлення підтипів/груп ВІЛ-1 оцінювалась при аналізі очищених РНК-транскриптів групи М (підтипи А, В, С, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG, G та H), Групи О і Групи N та при тестуванні 10 клінічних зразків кожного підтипу (А, В, С, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG та G) Групи М та 10 зразків Групи О.

Були протестовані РНК-транскрипти Групи М (підтипи А, В, С, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG, G та H), Групи О і Групи N з бажаними концентраціями приблизно 6.0 log копій/mL, 4.7 log копій/mL, 3.0 log копій/mL та 1.7 log копій/mL. Для кожного транскрипту були протестовані три повтори кожної концентрації. Результати, що представляють лінійність розведення для протестованих 11 підтипів/груп, наведені на **Графіку 2**.

Графік 2.



Результати показали, що були виявлені всі досліджувані підтипи та групи, а також була продемонстрована лінійність розведення для всіх досліджуваних груп і підтипів (коефіцієнти кореляції знаходились в діапазоні від 0.997 до 1.000).

Загалом 90 клінічних зразків, по 10 зразків кожного підтипу (підтипи А, В, С, D, CRF01-AE, F, CRF02-AG, G) Групи М та Групи О, були протестовані при використанні аналізу Abbott RealTime HIV-1 та двох інших тест-систем для кількісного визначення ВІЛ-1 в якості методу порівняння 1 і методу порівняння 2. Результати наведені в Таблиці 8.

Таблиця 8.

Група/підтипи	К-сть	Виявлено в RealTime	Виявлено методом порівняння 1 ^а	Виявлено методом порівняння 2 ^а
М/Підтип А	10	10	10 (1)	10 (1)
М/Підтип В	10	10	10 (0)	10 (0)
М/Підтип С	10	10	10 (0)	10 (0)
М/Підтип D	10	10	10 (0)	10 (0)
М/Підтип АЕ	10	10	10 (0)	10 (0)
М/Підтип F	10	10	10 (0)	10 (0)
М/Підтип АG	10	10	10 (3)	10 (1)
М/Підтип G	10	10	10 (2)	10 (1)
Група О	10	10	0 (невизнач.)	7 (7)

^а Цифри в дужках – це кількість зразків, які мали нижчі значення при кількісному визначенні (більш ніж на 1.00 log копій/мЛ), в порівнянні з аналізом Abbott RealTime HIV-1.

- При проведенні аналізу Abbott RealTime HIV-1 було виявлено всі досліджувані підтипи та групи.
- При проведенні методу порівняння 1 було виявлено всі досліджувані підтипи Групи М і не вдалося виявити 10 зразків Групи О.
- При проведенні методу порівняння 2 було виявлено всі досліджувані підтипи Групи М і 7 з 10 зразків Групи О.
- При проведенні аналізу Abbott RealTime зразки, які мали більш низькі значення при кількісному визначенні (більш ніж на 1.00 log копій/мЛ) у порівнянні зі значеннями, що були отримані при використанні методу порівняння 1 або методу порівняння 2, виявлені не були.

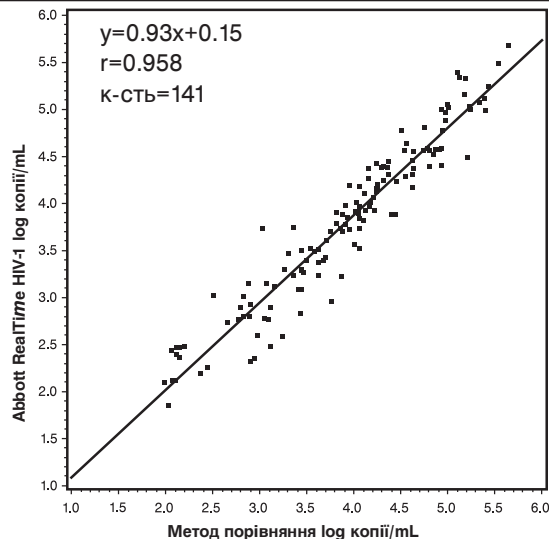
- При проведенні методу порівняння 1 було виявлено 6 зразків Групи М, які мали нижчі значення при кількісному визначенні (більш ніж на 1.00 log копій/мЛ) у порівнянні зі значеннями, що були отримані при використанні аналізу Abbott RealTime HIV-1.
- При проведенні методу порівняння 2 було виявлено 3 зразки Групи М і 7 зразків Групи О, які мали нижчі значення при кількісному визначенні (більш ніж на 1.00 log копій/мЛ) у порівнянні зі значеннями, що були отримані при використанні аналізу Abbott RealTime HIV-1.

Кореляція

Аналіз порівняння методів був проведений у відповідності до вимог Національного комітету з клінічних лабораторних стандартів (NCCLS) EP9-A2.³⁷

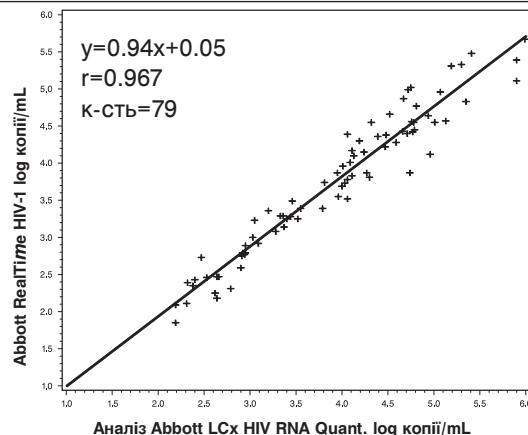
Зразки 141 ВІЛ-1-інфікованого пацієнта були протестовані з використанням аналізу Abbott RealTime HIV-1 та методу порівняння. Графік кореляції наведений на Графіку 3.

Графік 3.



Зразки 79 ВІЛ-1-інфікованих пацієнтів (підгрупа з протестованих раніше 141 пацієнта) були протестовані з використанням аналізу Abbott LCx HIV RNA Quantitative. Графік кореляції наведений на Графіку 4.

Графік 4.



ОКРЕМІ РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЛЯ ЗРАЗКІВ DBS

Межа детекції

Межа детекції (LOD) аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 839 копій/mL при використанні зразків DBS.

Межа детекції була визначена шляхом тестування розведень вірусного стандарту ВІЛ-1 Лабораторії вірусології з гарантії якості (VQA). Було протестовано 28 зразків для кожного рівня концентрації в 4 постановках з 4 партіями реагентів для ампліфікації. Частота детекції для кожного компонента панелі розведення була обчислена для чотирьох партій реагентів. Результати, що характеризують аналітичну чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1, наведені в Таблиці 9.

Таблиця 9.

Концентрація (копії/mL)	Протестовано	Виявлено	Відсоток виявлення
3000	27 ^a	27	100
1000	28	27	96
500	28	24	86
250	28	10	36
125	28	4	14

^a Один повтор був недейсний і був вилучений з дослідження.

Пробіт-аналіз даних встановив, що концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95%, становила 839 копій/mL (95% ДІ 624 - 1387 копій/mL).

Було проведено додаткове дослідження межі детекції шляхом тестування іншої серії розведень вірусного стандарту ВІЛ-1. Було протестовано щонайменше 36 зразків для кожного рівня концентрації в 15 постановках з 1 партією реагентів для ампліфікації. Частота детекції для кожного компонента панелі розведення була обчислена з врахуванням даних постановок. Результати, що характеризують аналітичну чутливість аналізу Abbott RealTime HIV-1, наведені в Таблиці 10.

Таблиця 10.

Концентрація (копії/mL)	Протестовано	Виявлено	Відсоток виявлення (%)
5012	36	36	100
2512	36	36	100
1000	59 ^{a,b}	57	97
501	60 ^a	49	82
251	36	13	36

^a Для даних зразків панелі було проведено 24 додаткові повтори.

^b Один повтор був недейсний і був вилучений з дослідження.

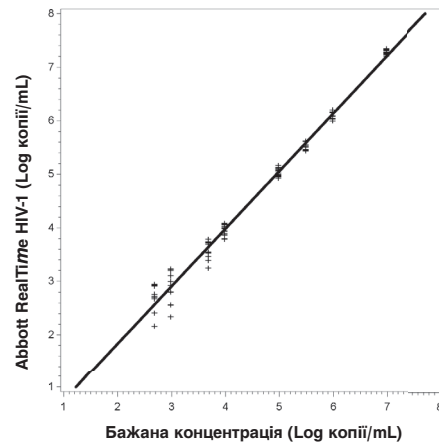
Пробіт-аналіз даних встановив, що концентрація РНК ВІЛ-1, виявлена з ймовірністю 95%, становила 828 копій/mL (95% ДІ 671 - 1192 копій/mL).

Діапазон лінійності

Верхня межа кількісного визначення (ULQ) для аналізу Abbott RealTime HIV-1 становить 10 мільйонів копій/mL, а нижня межа кількісного визначення є еквівалентною межі детекції (LOD) (839 копій/mL) для DBS.

Було протестовано розведення серії для захищеної РНК ВІЛ-1, що включають діапазон від 500 копій/mL до 10,000,000 копій/mL в серонегативних зразках крові. Результати лінійності для аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені на Графіку 5.

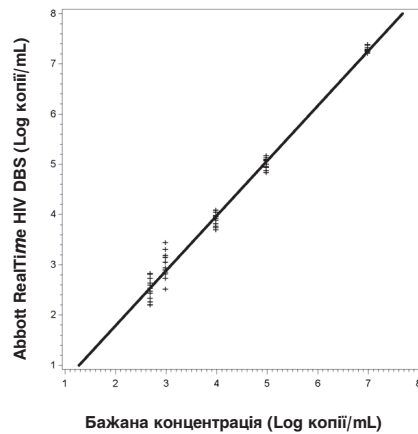
Графік 5.



Аналіз Abbott RealTime HIV-1 показав лінійність у всьому діапазоні тестування (k -сть = 92, r = 0.995, нахил = 1.08 та перетин = -0.32).

Було протестовано додаткові серії розведень з використанням вірусного штаму ВІЛ-1, що включає діапазон від 501 копій/mL до 10,000,000 копій/mL в ВІЛ-1 серонегативних зразках крові. Результати лінійності для аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені на Графіку 6.

Графік 6.



Аналіз Abbott RealTime HIV-1 показав лінійність у всьому діапазоні тестування (k -сть = 58, r = 0.994, нахил = 1.09 та перетин = -0.40).

Відтворюваність

Відтворюваність оцінювалась при аналізі компонентів панелі ВІЛ-1, що включають діапазон від 500 копій/mL до 5,000,000 копій/mL. Було проведено тестування трьох партій реагентів для ампліфікації на трьох парах аналізаторів *m2000* (кожна партія реагентів відноситься до певної пари аналізаторів), один раз в день, протягом 5 днів. Були визначені стандартні квадратичні відхилення у межах постановки, між постановками та загальне міжаналітичне відхилення (у межах постановки і між постановками). Результати, що характеризують відтворюваність аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені в Таблиці 11.

Таблиця 11.

Відтворюваність аналізу Abbott RealTime HIV-1 для зразків DBS

Зразок панелі	К-сть	Середня конц. (копії/mL)	Складова СКВ			
			Середня конц. (log копії/mL)	у межах постановки	Складова СКВ між постановками	СКВ методу ^a
1	54 ^b	417	2.62	0.29	0.00	0.29
2	70 ^b	692	2.84	0.26	0.00	0.26
3	74 ^c	4531	3.66	0.12	0.09	0.16
4	73 ^d	9034	3.96	0.11	0.07	0.13
5	75	108643	5.04	0.05	0.04	0.06
6	75	8130801	6.91	0.05	0.04	0.06

^a СКВ методу містить складові, отримані у межах постановки, і складові, отримані між постановками.

^b Середні значення концентрації зразків 1 та 2 панелі нижче межі детекції (LOD), тому відтворюваність відображає тільки кількісні значення результатів, що можуть бути використані лише як додаткова інформація.

^c Один повтор був недійсний і був вилучений з даних дослідження.

^d Два повтори були недійсними і були вилучені з даних дослідження.

Відтворюваність було оцінено у додатковому дослідженні шляхом тестування компонентів панелі ВІЛ-1, що включають діапазон від 501 копій/mL до 10,000,000 копій/mL. Було протестовано одну партію реагентів для ампліфікації на трьох парах аналізаторів *m2000* один раз на день протягом п'яти днів. Були визначені стандартні квадратичні відхилення у межах постановки, між постановками та загальне міжаналітичне відхилення (у межах постановки і між постановками). Результати, що характеризують відтворюваність аналізу Abbott RealTime HIV-1 наведені в **Таблиці 12**.

Таблиця 12.

Зразок панелі	К-сть	Середня конц. (копії/mL)	Середня конц. (log копії/mL)	Складова СКВ		СКВ методу ^a
				у межах постановки	Складова СКВ між постановками	
1	49 ^b	444	2.65	0.23	0.12	0.26
2	57 ^c	984	2.99	0.28	0.06	0.29
3	60	10977	4.04	0.11	0.10	0.15
4	60	125458	5.10	0.08	0.05	0.09
5	58 ^d	19786971	7.30	0.06	0.06	0.09

^a СКВ методу містить складові, отримані у межах постановки, і складові, отримані між постановками.

^b Середні значення концентрації зразка 1 панелі нижче межі детекції (LOD), тому відтворюваність відображає тільки кількісні значення результатів, що можуть бути використані лише як додаткова інформація.

^c Один повтор був недійсний і був вилучений з даних дослідження, два повтори не було виявлено.

^d Два повтори були недійсними і були вилучені з даних дослідження.

Специфічність

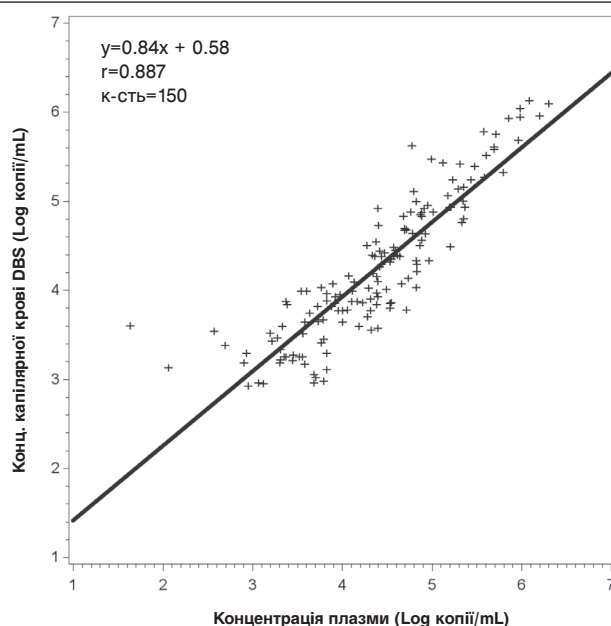
Цільова специфічність аналізу Abbott RealTime HIV-1 більша або дорівнює 99.5%.

Специфічність аналізу було визначено шляхом тестування 120 серонегативних зразків ВІЛ-1, 60 зразків пацієнтів тестувалися для кожної з двох партій реагентів для ампліфікації. Всі 120 серонегативних зразків ВІЛ-1 показали результат «Не виявлено», таким чином визначаючи специфічність як 100% (120/120).

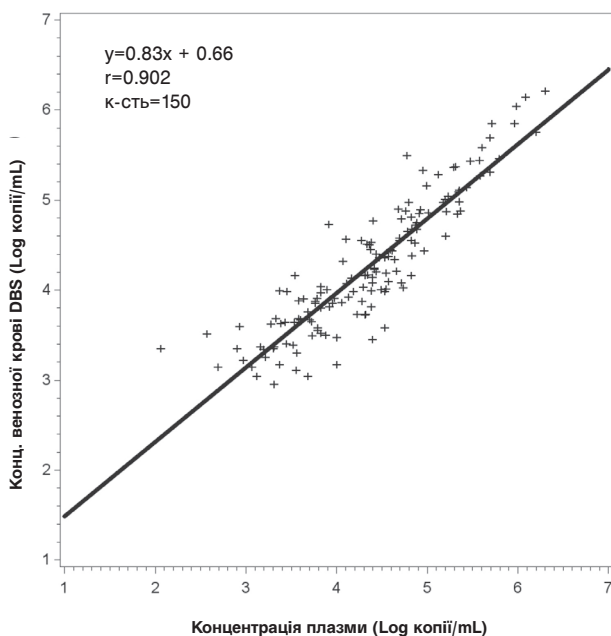
Кореляція

Кількісні значення РНК ВІЛ-1 порівняли між методом Abbott RealTime HIV-1 з використанням зразків DBS та методом порівняння маркованого СЕ і кількісним аналізом Abbott RealTime HIV-1 RNA з використанням зразків плазми крові людини. У дослідження входило 313 зразків пацієнтів з Південної Африки, Республіки Кот-д'Івуар та Уганди. Ці ВІЛ-1-інфіковані пацієнти були обстежені в Abbott Molecular (к-сть=247) та в одному відділенні в Південній Африці (к-сть=66). Для кожного ВІЛ-1 інфікованого пацієнта було протестовано зразки DBS, приготовані зі зразків венозної та капілярної крові. Результати зразків пацієнтів, що не перевищують динамічний діапазон аналізу, було проаналізовано методом найменших квадратів лінійно-регресивного аналізу (зразки DBS капілярної крові по відношенню до плазми крові к-сть=150, зразки DBS венозної крові по відношенню до плазми крові к-сть=150 та зразки DBS капілярної крові по відношенню до зразків DBS венозної крові к-сть=146). Коефіцієнт кореляції вірусного навантаження ВІЛ-1 в плазмі крові по відношенню до зразків DBS капілярної крові становить 0.887, нахил 0.84 (95% ДІ 0.77 - 0.91) та перетин 0.58 log копій/mL (95% ДІ 0.26 - 0.90) (**Графік 7**). Коефіцієнт кореляції вірусного навантаження ВІЛ-1 в плазмі крові по відношенню до зразків DBS венозної крові становить 0.902, нахил 0.83 (95% ДІ 0.76 - 0.89) та перетин 0.66 log копій/mL (95% ДІ 0.37 - 0.95) (**Графік 8**). Коефіцієнт кореляції вірусного навантаження ВІЛ-1 в зразках DBS капілярної крові по відношенню до зразків DBS венозної крові становить 0.947, нахил 1.00 (95% ДІ 0.94 - 1.05) та перетин -0.03 log копій/mL (95% ДІ -0.28 - 0.21) (**Графік 9**). Додатково, для даних порівнянь наведено графік Бланда-Альтмана на **Графіку 10**, **Графіку 11** та **Графіку 12**.

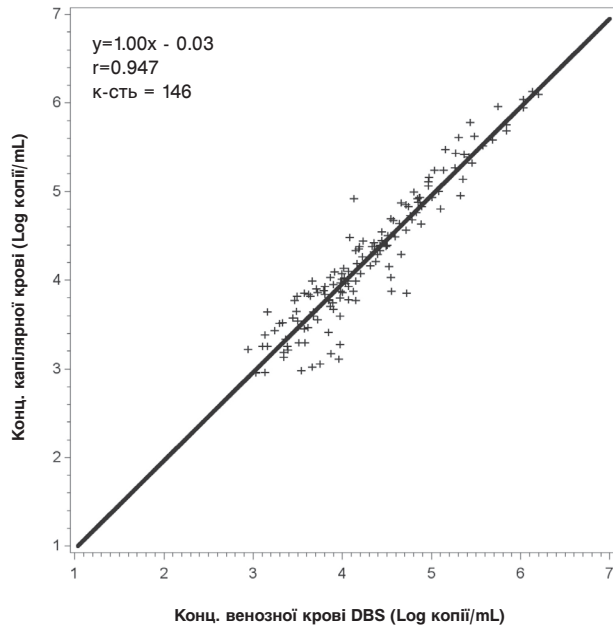
Графік 7. Зразки DBS капілярної крові по відношенню до плазми крові людини



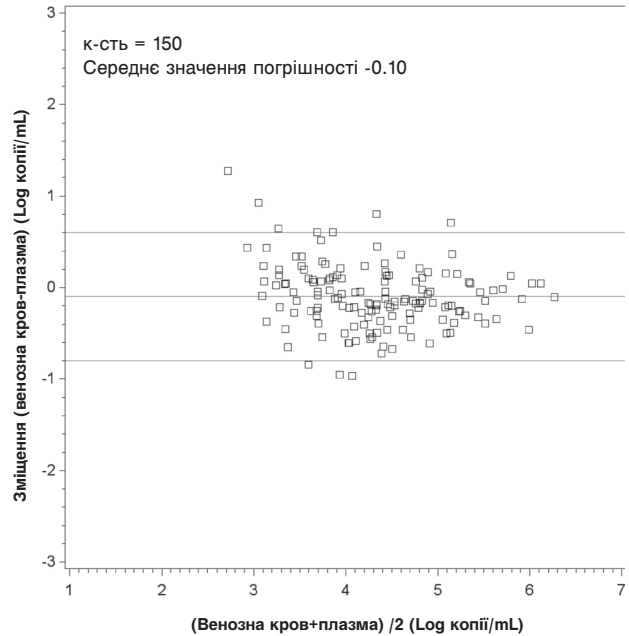
Графік 8. Зразки DBS венозної крові по відношенню до плазми крові людини



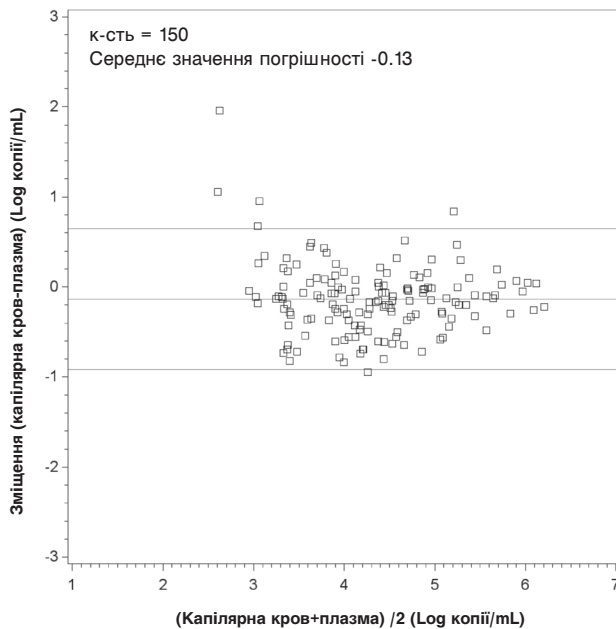
Графік 9. Зразки DBS капілярної крові по відношенню зразків DBS венозної крові



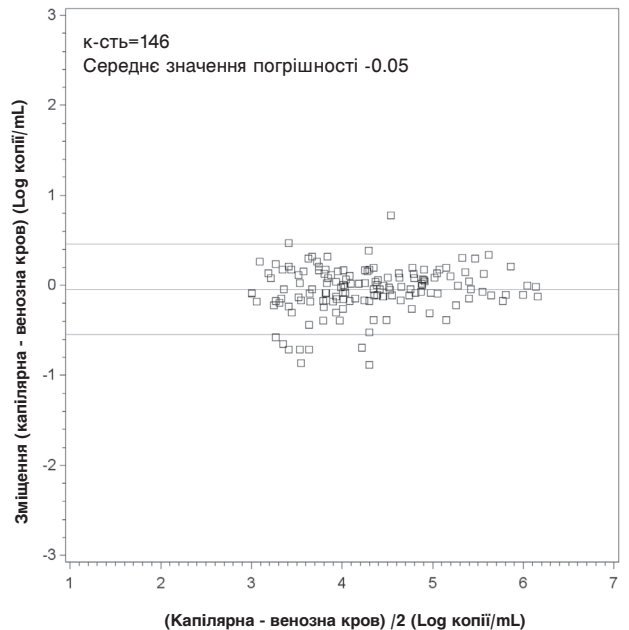
Графік 11. Зразки DBS венозної крові по відношенню до плазми крові людини



Графік 10. Зразки DBS капілярної крові по відношенню до плазми крові людини

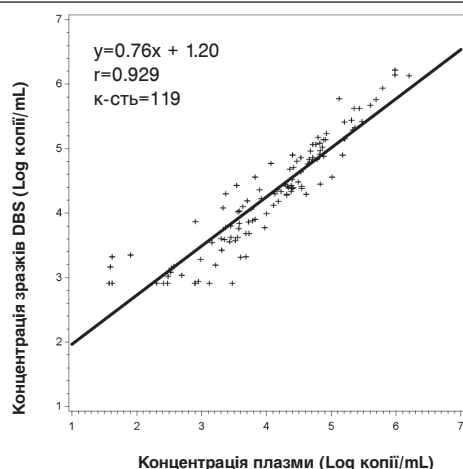


Графік 12. Зразки DBS капілярної крові по відношенню зразків DBS венозної крові

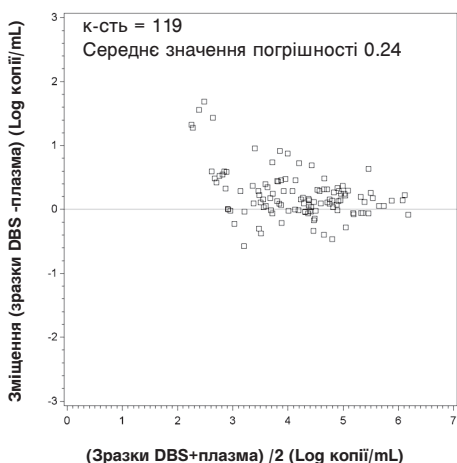


Було проведено додаткове тестування для порівняння кількісних значень РНК ВІЛ-1 між аналізом Abbott RealTime HIV-1 з використанням зразків DBS та методом порівняння маркованого CE, кількісним аналізом Abbott RealTime HIV-1 RNA, з використанням зразків плазми крові людини. Загалом у дослідження було включено 244 зразки пацієнтів. Ці ВІЛ-1-інфіковані пацієнти були обстежені в Abbott Molecular. Один результат тесту зразка від кожного пацієнта порівнювався з результатом відповідного зразка плазми крові. Результати зразків пацієнтів, що не перевищують динамічний діапазон аналізу було проаналізовано методом найменших квадратів лінійно-регресивного аналізу (зразки DBS по відношенню до плазми крові $k\text{-сть}=119$). Коефіцієнт кореляції вірусного навантаження ВІЛ-1 в плазмі крові по відношенню до зразків DBS становить 0.929, нахил - 0.76 (95% ДІ 0.71 - 0.82) та перетин 1.20 log копій/mL (95% ДІ 0.97 - 1.43) (Графік 13). Додатково, наведено графік Бланда-Альтмана на Графіку 14.

Графік 13. Зразки DBS по відношенню до плазми крові



Графік 14. Зразки DBS по відношенню до плазми крові



БІБЛІОГРАФІЯ

- Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-71.
- Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, isolation and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 1984;224:497-500.
- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-I) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 1984;224:500-3.
- Curran JW, Jaffe HW, Hardy AM, et al. Epidemiology of HIV infection and AIDS in the United States. *Science* 1988;239:610-16.
- Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *New Engl J Med* 1991;324:961-4.
- Clark SJ, Saag MS, Decker WD. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *New Engl J Med* 1991;324:954-60.
- Albert J, Abrahamsson B, Nagy K, et al. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* 1990;4:107-12.
- Horsburgh CR Jr, Ou CY, Jason J, et al. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* 1989;334:637-40.
- Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *New Engl J Med* 1993;328:327-35.
- Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-6.
- Wei X, Ghosh SK, Taylor ME, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117-22.
- Mellors JW, Rinaldo CR JR, Gupta P, et al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996;272:1167-70.
- Mellors JW, Munoz A, Giorgi JV, et al. Plasma viral load and CD4⁺ lymphocytes as prognostic markers of HIV-1 infection. *Ann Intern Med* 1997;126(12):946-54.
- Chene G, Sterne JA, May M, et al. Prognostic importance of initial response in HIV-1 infected patients starting potent antiretroviral therapy: analysis of prospective studies. *Lancet* 2003;362:679-86.
- Egger M, May M, Chene G, et al. Prognosis of HIV-1 infected drug patients starting highly active antiretroviral therapy: a collaborative analysis of prospective studies. *Lancet* 2002;360:119-29.
- Wood E, Hogg RS, Yip B, et al. Higher baseline levels of plasma human immunodeficiency virus type 1 RNA are associated with increased mortality after initiation of triple-drug antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2003;188:1421-5.
- US Department of Health and Human Services. 2004 guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. Available at: <http://AIDSinfo.nih.gov/guidelines>.
- Yeni PG, Hammer SM, Hirsch MS, et al. Treatment for Adult HIV Infection. 2004 Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA* 2004;292:251-65.
- Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1 infected compartments during combination therapy. *Nature* 1997;387(6629):188-91.
- Interim Technical Update. Technical and Operational Considerations for Implementing HIV Viral Load Testing July 2014. WHO.
- Mulder J, McKinney N, Christopher C, et al. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J Clin Microbiol* 1994;32:292-300.
- Dewar RL, Highbarger HC, Sarmiento MD, et al. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J Inf Diseases* 1994;170:1172-9.
- Van Gemen B, Kievits T, Schukink R, et al. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA™ during HIV-1 primary infection. *J Virol Methods* 1993;43:177-87.
- Yen-Lieberman B, Brambilla D, Jackson B, et al. Evaluation of a quality assurance program for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma by the AIDS clinical trials group virology laboratories. *J Clin Microbiol* 1996;34:2695-701.
- Holmes H, Davis C, Heath A, et al. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *J Virol Methods* 2001;92:141-50.
- Davis C, Heath A, Best S, et al. Calibration of HIV-1 working reagents for nucleic acid amplification techniques against the 1st international standard for HIV-1 RNA. *J Virol Meth* 2003;107:37-44.
- Myers TW, Gelfand DH. Reverse Transcription and DNA Amplification by a *Thermus thermophilus* DNA Polymerase. *Biochem* 1991;30:7661-6.
- Myers G, Korber B, Wain-Hobson S, et al. Human retroviruses and AIDS 1994: A compilation and analysis of nucleic acid and amino acid sequences. Los Alamos National Laboratory, Theoretical Biology and Biophysics (T10). Los Alamos, New Mexico:1994.
- US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; December 2009. [Also available online. Type> www.cdc.gov, search>BMBL5>look up sections III and IV.]
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

33. Ginocchio C, Wang X, Kaplan M, et al. Effects of specimen collection, processing, and storage conditions on stability of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in plasma. *J Clin Microbiol* 1997;35(11):2886-93.
34. Sebire K, McGavin K, Land S, et al. Stability of human immunodeficiency virus RNA in blood specimens as measured by a commercial PCR-based assay. *J Clin Microbiol* 1998;36(2):493-8.
35. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline - NCCLS document EP6-A*, NCCLS: Wayne, PA, 2002.
36. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline – Second Edition. NCCLS Document EP10-A2*. NCCLS: Wayne, PA, 2002.
37. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline-Second Edition NCCLS document EP9-A2*, NCCLS Wayne, PA, 2002.

ТЕХНІЧНА ПІДТРИМКА

Для отримання технічної підтримки можна звернутися до Abbott Molecular Technical Services за телефоном 1-800-553-7042 (в межах США) чи +49-6122-580 (за межами США) або відвідати веб-сайт Abbott Molecular за посиланням www.molecular.abbott/portal.

ПРИДБАННЯ ДАНОГО ВИРОБУ ДАЄ МОЖЛИВІСТЬ ПОКУПЦЕВИ ВИКОРИСТОВУВАТИ ЙОГО ДЛЯ АМПЛІФІКАЦІЇ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ТА ДЛЯ ДЕТЕКЦІЇ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ ЛЮДИНИ В УМОВАХ IN VITRO. ЖОДЕН ЗАГАЛЬНИЙ ПАТЕНТ АБО ІНША ЛІЦЕНЗІЯ КРІМ ДАНОГО ВИЗНАЧЕНОГО ПРАВА НА ВИКОРИСТАННЯ ВІД КУПІВЛІ НЕ НАДАЄТЬСЯ. ДАНЕ ПОЛОЖЕННЯ НЕ ЗАБОРОНЯЄ ПЕРЕПРОДАЖУ ДАНОГО ПРОДУКТУ.

Armored RNA® є запатентованою технологією, розробленою спільно компаніями Ambion, Inc. та Senetron Diagnostics, LLC. Патенти США № 5 677 124, № 5 919 625, № 5 939 262 та патенти, що знаходяться на розгляді.

Armored RNA є зареєстрованою торговою маркою компанії Ambion. ProClim є зареєстрованою торговою маркою компанії Rohm and Haas. StrataCooler є зареєстрованою торговою маркою компанії Stratagene. FAM та ROX є зареєстрованими торговими марками компанії Life Technologies Corporation та її дочірніх підприємств в США та/або деяких інших країнах.

VIC є зареєстрованою торговою маркою компанії Life Technologies Corporation та її дочірніх підприємств в США та/або деяких інших країнах.

Abbott m, m1000, m2000, m2000rt та m2000sp є торговими марками компанії Abbott Laboratories.

LCx є зареєстрованою торговою маркою компанії Abbott Laboratories.

Компанія Abbott Molecular Inc. є законним виробником:

Набір реагентів для ампліфікації Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit (кат. № 02G31-010)

Набір контролів Abbott RealTime HIV-1 Control Kit (кат. № 2G31-80)

Набір калібраторів Abbott RealTime HIV-1 Calibrator Kit (кат. № 2G31-70).

Набір реагентів Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent Kit імпортується до Європейського Союзу компанією Abbott Diagnostics GmbH, що знаходиться за адресою Макс-Планк-Рінг 2, 65205 Вісбаден, Німеччина.



Абботт Молекуляр Інк., 1300 Іст Тухей Авеню,
Дес Плейнс, Іллінойс, 60018, США
Abbott Molecular Inc., 1300 East Touhy Avenue,
Des Plaines, Illinois, 60018, USA



Abbott GmbH
Max-Planck-Ring 2
65205 Wiesbaden, Germany

З усіх питань звертайтеся до уповноваженого представника виробника в Україні.

Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «Кратія ЛТД»
Україна, 04073, м. Київ, вул. Куренівська, буд. 18,
Тел.: 0 800 21-52-32,
E-mail: uarep@cratia.ua



UA.TR.116

© 2016, 2020 Abbott. Усі права захищено.

www.abbottmolecular.com

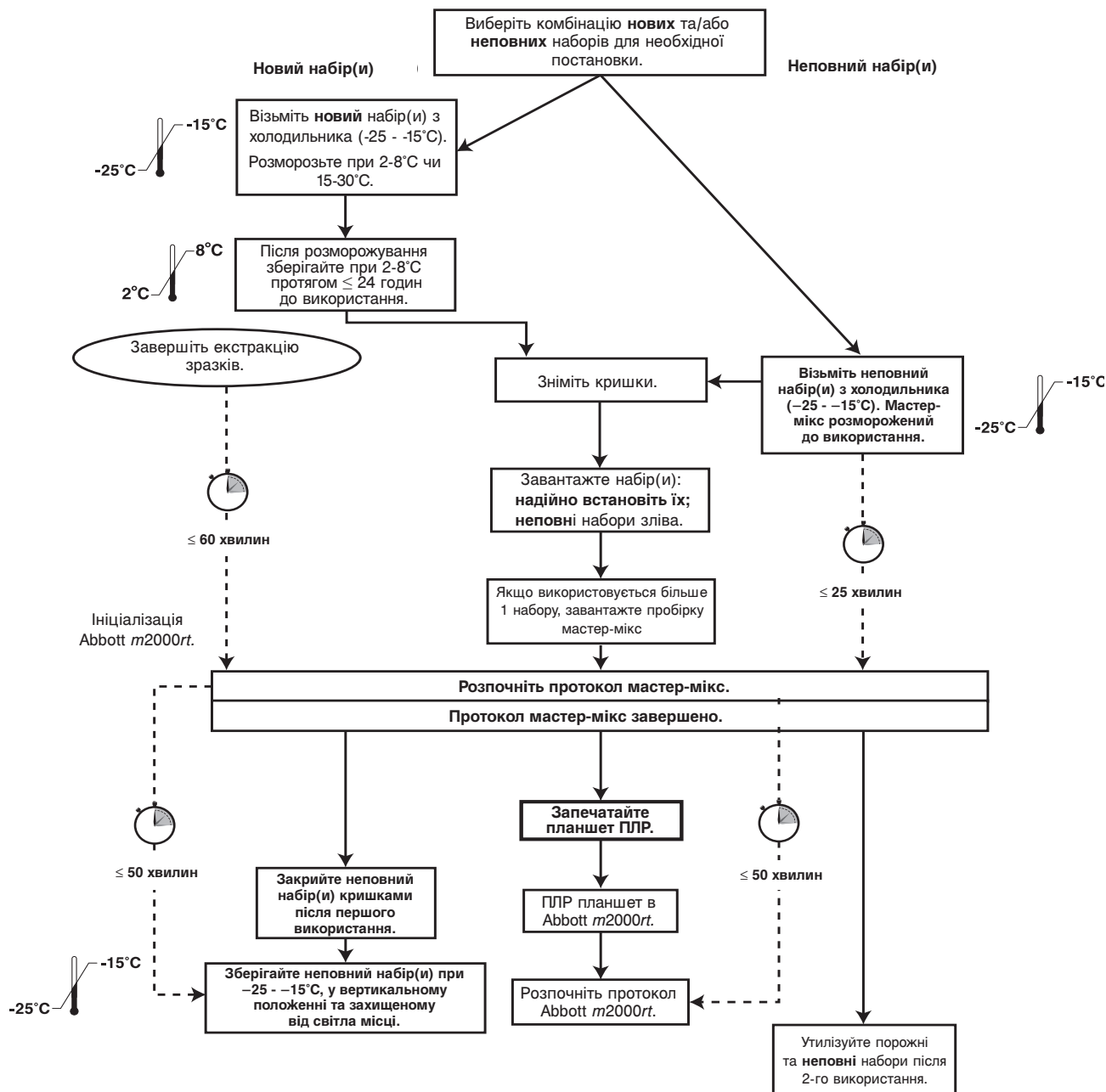
Червень 2020 р.



ДОДАТОК 1. ОГЛЯД ФУНКЦІЇ ПРОЛОНГОВАНОГО ВИКОРИСТАННЯ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АМПЛІФІКАЦІЇ ABBOTT REALTIME HIV-1

Функція пролонгованого використання реагентів для ампліфікації дозволяє використовувати набір реагентів для ампліфікації і внутрішній контроль (ВК) в загальному 2 рази. Набори реагентів для ампліфікації, які ще не використовувались для підготовки мастер-міксу, називаються **новими** наборами реагентів для ампліфікації. Набори реагентів для ампліфікації, які використовувались один раз і містять підготовлений мастер-мікс, називаються **неповними** наборами реагентів для ампліфікації. Докладнішу інформацію дивіться в даній інструкції з використання.

Умови зберігання (набір реагентів для ампліфікації та флакони внутрішнього контролю)		
Тип набору	Температура зберігання	Час зберігання
Нові набори	від -25 до -15°C	до дати, зазначеної на етикетці
Новий ВК	від -25 до -15°C	до дати, зазначеної на етикетці
Неповні набори	від -25 до -15°C (в захищеному від світла місці)	до 7 днів після першого використання
Неповний ВК	від -25 до -15°C	до 14 днів з початку використання



- Набори реагентів для ампліфікації, придатні для пролонгованого використання, мають містити 6-значний реєстраційний номер над штрих-кодом.
- **Неповні** набори реагентів для ампліфікації можуть використовуватись повторно лише на тому ж аналізаторі, на якому були використані вперше. Використання їх на іншому аналізаторі призведе до виникнення помилки та до затримки тестування.
- **Неповні** та **нові** набори реагентів для ампліфікації можуть використовуватись одночасно. Всі набори реагентів для ампліфікації, що використовуються на аналізаторі в одній постановці повинні мати однаковий номер партій.

ДОДАТОК 2. ДОДАТКОВА ПРОЦЕДУРА UNG ДЛЯ ПРОТОКОЛІВ I, II ТА III

Процедура UNG (Урацил-N-глікозилаза) використовується у поєднанні з аналізом Abbott RealTime HIV-1 як додаткова процедура контамінаційного контролю для лабораторій, що застосовують чи раніше застосовували технології ампліфікації, в яких до продукту ампліфікації додається урацил.

РЕАГЕНТИ

Урацил-N-глікозилаза (UNG), кат. № 06L87-02 (1 пробірка, 112 μL , 1 U/ μL)

Опис

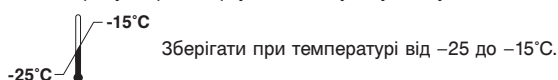
Урацил-ДНК-глікозилаза (урацил-N-глікозилаза) дозволяє видалити залишки урацилу з цукрового складника одно- та дволанцюгової ДНК, не руйнуючи при цьому фосфодіефірного скелету, завдяки чому ДНК не стає мішенню для гібридизації чи матрицею для ДНК-полімераза. Урацил-ДНК-глікозилаза не видаляє урацил з РНК.

Активні складники

- Урацил-N-глікозилаза (UNG; < 0.1%)
- Полісорбат Tween 20 (< 0.1%)

Зберігання та обробка

Даний продукт транспортується на сухому льоду.



Обмежена ліцензія для UNG

Даний продукт продається в межах ліцензійних угод між компаніями Celera Corporation та Invitrogen Corporation. Ціна даного продукту включає обмежені права, без права передачі, по патенту США № 5,035,996; 5,683,896; 5,945,313; та 6,287,823 та зарубіжним відповідником, власником якого виступає Invitrogen Corporation, для використання певної кількості продукту з метою перевірки заявлених значень, наданих в патентах виключно для використання покупцем. Детальну інформацію про придбання ліцензії по зазначених патентах можна отримати у Відділі Ліцензування Licensing Department, Invitrogen Corporation, 1600 Faraday Avenue, Carlsbad, CA 92008.

ДОДАТКОВА ПРОЦЕДУРА UNG ДЛЯ АНАЛІЗУ ПРОТОКОЛ I: ВИКОРИСТАННЯ АНАЛІЗАТОРА АБВОТТ m1000 ЧИ РУЧНОГО МЕТОДУ ПРОБОПІДГОТОВКИ ТА АНАЛІЗАТОРА АБВОТТ m2000rt

ПРИМІТКА: нумерація пунктів з протоколу I збережена.

Починаючи з пункту 11, проведіть наступні процедури:

Зона ампліфікації

11. Увімкніть і запустіть аналізатор Abbott m2000rt.

ПРИМІТКА: аналізатор Abbott m2000rt потребує 15 хвилин для розігріву.

12. Створіть замовлення на тестування на аналізаторі Abbott m2000rt. Дивіться розділ «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott m2000rt. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків.

- Введіть значення калібраторів (це є необхідним, якщо калібрувальна крива не збереглася в пам'яті аналізатора Abbott m2000rt) і контролів, які є специфічними для кожної партії, в запит на проведення тесту для точного калібрування та оцінки значень контролів. Значення калібраторів і контролів, специфічні для кожної партії, наведені в картках, що додаються до набору калібраторів та контролів Abbott RealTime HIV-1.

Зона підготовки реагентів

Всі етапи підготовки реагентів повинні проходити лише у спеціально призначеній для цього зоні підготовки реагентів. Перед початком підготовки реагентів див. розділ «Заходи безпеки при роботі» даної інструкції з використання.

ПРИМІТКА: змініть рукавички перед початком роботи з реагентами для ампліфікації.

13. Приготуйте мастер-мікс для ампліфікації.

- Кожна упаковка реагентів для ампліфікації підтримує до 24 реакцій.

- Перед відкриттям реагентів для ампліфікації перевірте, чи вміст пробірок знаходиться на дні, постукавши пробірками у вертикальному положенні об стіл 5-10 разів, щоб рідина опустилась на дно.
- За допомогою ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ ВИКЛЮЧНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТАМИ додайте 27 μL UNG до флакону термостабільної полімерази Thermostable rTth Polymerase Enzyme (Реагент 3).
- Щоб приготувати мастер-мікс, за допомогою ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ ВИКЛЮЧНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТАМИ додайте 271 μL реагенту активації Activation Reagent (Реагент 1) та 949 μL реагенту з олігонуклеотидами HIV-1 Oligonucleotide Reagent (Реагент 2) у флакон з термостабільною полімеразою Thermostable rTth Polymerase Enzyme (Реагент 3).
- Для проведення від 25 до 48 реакцій приготуйте другу суміш мастер-міксу для ампліфікації, використовуючи другий набір реагентів для ампліфікації Amplification Reagent Pack.

ПРИМІТКА: протокол Abbott m2000rt (пункт 20) необхідно розпочати протягом 50 хвилин після додавання реагенту активації Activation Reagent у перший флакон з реагентом rTth Enzyme Reagent (пункт 13). До цих 50 хвилин входять 10 хвилин на інкубацію при кімнатній температурі (пункт 19, нижче).

- За допомогою піпетки перенесіть мастер-мікс з флакону(ів) у пробірку одноразового використання, вільну від РНКаз/ДНКаз, та перемішайте на вортексі.
- Розмістіть оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в кулері StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler, що зберігався за інструкціями Інструкції з експлуатації. За допомогою ПРИЗНАЧЕНОЇ ДЛЯ ЦЬОГО ПІПЕТКИ перенесіть аліквоти мастер-міксу для ампліфікації по 50 μL в кожну лунку оптичного реакційного планшета на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction. Можна використовувати також відкалібровану багаторазову прецизійну піпетку. Візуально перевірте, чи в кожну лунку налито загалом по 50 μL суміші.
- Перенесіть оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, що знаходиться в кулері StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler, в зону підготовки зразків.

Зона підготовки зразків

- В зоні підготовки зразків перенесіть по 50 μL елюату кожного зразка в Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate, що знаходиться в кулері StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler. Для перенесення кожного елюату зразка використовуйте окремий наконечник для піпетки. Під час перенесення кожного зразка, перемішайте реакційну суміш, аспіруючи та випускаючи рідину вгору-вниз від 3 до 5 разів. Візуально перевірте, чи в кожну лунку налито загалом по 100 μL суміші.
- Запечатуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate за вказівками, наведеними в Інструкції з експлуатації Abbott m2000rt.
- Вийміть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate з кулера StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler і помістіть у штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base. Відцентрифугуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у Штативі для планшетів Abbott Splash-Free Support Base при 5000g протягом 5 хвилин. Інкубуйте при кімнатній температурі (15-30°C) протягом 10 хвилин. Центрифугування можна проводити під час 10-хвилинної інкубації при кімнатній температурі. Після інкубації при кімнатній температурі перенесіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у Штативі для планшетів Abbott Splash-Free Support Base в зону ампліфікації.

ПРИМІТКА: не переносьте кулер StrataCooler 96 чи Eppendorf PCR Cooler в зону ампліфікації.

Зона ампліфікації

- Помістіть оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в аналізатор Abbott m2000rt. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків. Розпочніть протокол Abbott RealTime HIV-1 як описано в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott m2000rt.

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ II: ДОДАТКОВА ПРОЦЕДУРА UNG ЗІЗРАЗКАМИ ПЛАЗМИ КРОВІ ЛЮДИНИ, ПІДГОТОВАНИМ ДЛЯ АМПЛІФІКАЦІЇ НА АНАЛІЗАТОРІ ABBOTT m2000sp

ПРИМІТКА: нумерація пунктів з протоколу II збережена.

Починаючи з пункту 11, проведіть наступні процедури:

Протокол додавання мастер-міксу Abbott m2000sp Master Mix Addition (пункт 12) необхідно розпочати протягом однієї години після завершення процесу пробопідготовки.

ПРИМІТКА: змініть рукавички перед початком роботи з реагентами для ампліфікації.

11. Після завершення підготовки зразків завантажте реагенти для ампліфікації і пробірку мастер-мікс (при необхідності) на робочий стіл Abbott m2000sp. У таблиці нижче наведено кількість наборів реагентів для ампліфікації відповідно до кількості реакцій. Якщо використовується 1 набір реагентів для ампліфікації, пробірка мастер-мікс не потрібна.

Вимоги до набору реагентів для ампліфікації ^a			
Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
1 новий; до 4 з неповними наборами	2 нових; до 4 з неповними наборами	3 нових; до 4 з неповними наборами	4 нових або неповних набори

^a Див. Інструкцію з експлуатації Abbott m2000sp (кат. № 9K20-06 або вище) для отримання інструкцій стосовно інвентаризації, щоб визначити максимальну кількість реакцій, які можна протестувати за допомогою обраного неповного набору.

- Неповні набори реагентів для ампліфікації можна використовувати виключно на тому ж аналізаторі Abbott m2000sp, на якому проводилась попередня підготовка набору реагентів. Повторне застосування наборів реагентів для ампліфікації на іншому аналізаторі може призвести до помилки та затримки тестування.
- Неповні і нові набори реагентів для ампліфікації можна використовувати одночасно.

ВАЖЛИВО: неповні набори реагентів для ампліфікації повинні зберігатись при температурі від – 25 до – 15°C безпосередньо до наступного використання. Перевірте, чи мастер-мікс був розморожений перед розміщенням неповного набору(ів) на робочий стіл Abbott m2000sp. Після зміни температурного режиму зберігання, що становив від – 25 до – 15°C, неповні набори реагентів для ампліфікації, що будуть використовуватися другий раз необхідно використати протягом 25 хвилин чи утилізувати. Це стосується загальної температури в приміщенні в тому числі у випадках, коли набори виймаються з місця зберігання, але не використовуються.

- Переконайтесь, що вміст нових наборів реагентів для ампліфікації знаходиться на дні. Для цього перед відкриттям постукайте флаконами по столу, тримаючи їх у вертикальному положенні 5-10 разів.
- Не стукайте по неповних наборах реагентів для ампліфікації, що використовуються повторно. Це може призвести до втрати об'єму мастер-міксу у кришці.
- Зніміть кришки. Якщо новий набір реагентів для ампліфікації буде збережено для повторного використання, флакони необхідно закрити кришками для подальшого зберігання. Якщо ви плануєте повторно використовувати оригінальні кришки для флаконів реагентів, їх можна не викидати. Якщо ви плануєте використовувати нові кришки для флаконів реагентів, оригінальні кришки можна утилізувати.
- За допомогою ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ ВИКЛЮЧНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТАМИ, додайте визначений об'єм UNG 1 U/μL (кат. № 06L87-02) до флакону з реагентом у позицію 3 нових та неповних наборів реагентів для ампліфікації.
- Наступна таблиця дозволяє визначити об'єм UNG для додавання у флакони з реагентами в позицію 3 нових та неповних наборів реагентів для ампліфікації. Флакон з реагентом у позиції 3 нового набору реагентів містить термостабільну полімеразу Thermostable rTth polymerase enzyme. Флакон з реагентом у позиції 3 неповного набору реагентів містить мастер-мікс.

ПРИМІТКА: об'єм UNG, що додається у флакони з реагентами в позиції 3 залежить від кількості тестів, що залишилися в наборах реагентів, а не від кількості зразків, що тестуються. Інструкції з керування запасами реагентів для ампліфікації, а також визначення кількості тестів, що залишилися в наборі реагентів, дивіться в Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp.

- Перемішайте всі неповні набори, вручну аспіруючи та випускаючи рідину вгору-вниз. Не перемішуйте вміст нових наборів.
- Неповні набори для ампліфікації завантажуються ліворуч від нових наборів реагентів для ампліфікації на робочий стіл Abbott m2000sp.
- Перевірте, чи набори реагентів для ампліфікації надійно встановлені в аналізаторі.

Об'єм UNG для додавання у флакон з реагентом в позицію 3 кожного набору реагентів для ампліфікації

Тести, що залишилися у наборі	Додайте даний об'єм UNG (μL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (новий набір)	27

12. Виберіть відповідний планшет з глибокими лунками, який є сумісним з відповідною процедурою екстракції зразків. Розпочніть протокол додавання мастер-міксу Abbott m2000sp Master Mix Addition. Дотримуйтесь вказівок розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp.

ПРИМІТКА: оператор не повинен вручну заповнювати всі порожні/незаповнені лунки в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Після завершення процедури екстракції зразків аналізатор Abbott m2000sp автоматично заповнює всі порожні лунки в Оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у разі, якщо під час постановки було оброблено більше 48 зразків. Заповнення планшетів не виконуються для постановок, що містять 48 зразків чи менше.
- Якщо це пропонується аналізатором, підставка Reagent Carrier 2 повинна залишатися на місці; як мінімум, на ній розміщується реакційна ємність для буферного розчину mElution Buffer (Reagent Carrier 2, позиція 6). Якщо ця реакційна ємність була вивантажена, розмістіть на підставці Reagent Carrier 2, позиція 6, нову реакційну ємність з етикеткою mElution Buffer. Системна рідина, яку буде додано до реакційної ємності, буде використовуватися для заповнення порожніх лунок. Після завершення цього процесу система продовжить процедуру з додавання мастер-міксу.

ПРИМІТКА: інструкції з використання функції автоматизованого заповнення планшета, що застосовуються під час роботи системи, знаходяться в Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp (кат. № 9K20 версії 6 чи вище), розділу 5 «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) - «Sample Extraction—Closed Mode» (Екстракція зразків – закритий режим).

- Протокол Abbott m2000rt (пункт 16) потрібно розпочати протягом 50 хвилин після запуску протоколу додавання мастер-мікс Master Mix Addition (пункт 12).

ПРИМІТКА: якщо після пункту 12 процедура з додавання мастер-міксу переривається за будь-якої причини, новий оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate повинен бути використаний у разі, якщо необхідно буде повторити виконання протоколу з додавання мастер-міксу Abbott m2000sp Master Mix Addition (пункт 12).

13. Увімкніть і запустіть аналізатор Abbott m2000rt у зоні ампліфікації.

ПРИМІТКА: аналізатор Abbott m2000rt потребує 15 хвилин для розігріву.

ПРИМІТКА: зніміть рукавички перед поверненням у зону підготовки зразків.

14. Запечатуйте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate після того, як аналізатор Abbott m2000sp завершить додавання зразків і мастер-міксу відповідно до розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp.
15. Помістіть запечатаний Оптичний реакційний планшет у штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base та інкубуйте при кімнатній температурі (15-30°C) протягом 10 хвилин. Після інкубації при кімнатній температурі перенесіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у штативі для планшетів Abbott Splash-Free Support Base в аналізатор Abbott m2000rt.
16. Помістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в аналізатор Abbott m2000rt. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми з відповідним об'ємом досліджуваних зразків. Розпочніть протокол Abbott RealTime HIV-1 як описано в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott m2000rt.

ПРИМІТКА: рекомендовано переносити замовлення на тестування, використавши компакт-диск чи через мережеве з'єднання, за допомогою програмного забезпечення з функцією імпорту та експорту m2000sp та m2000rt. При створенні замовлення на тестування в ручному режимі для Abbott m2000rt введіть ідентифікаційні номери (ID) досліджуваних зразків у відповідні позиції ПЛР-планшета відповідно до таблиці «Wells for Selected Plate» (Лунки обраного планшета), що знаходиться на екрані «PCR Plate Results» (Результати, отримані з ПЛР-планшета) аналізатора Abbott m2000sp. Див. Розділ 5 Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp.

17. Якщо підготований неповний набір реагентів для ампліфікації повинен бути використаний повторно, накрийте 3 флакони реагентів оригінальними або новими кришками (кат. № 3N20-01) і зберігайте при температурі від -25 до -15°C у вертикальному положенні, в захищеному від світла місці. Утилізуйте набори реагентів для ампліфікації, що закінчилися, а також ті, що використовувались повторно.

ВАЖЛИВО: реагенти для ампліфікації, які будуть використовуватися повторно слід помістити в умови зберігання при температурі від -25 до -15°C протягом 50 хвилин з моменту запуску протоколу додавання мастер-мікс.

ПРОТОКОЛ АНАЛІЗУ III: ДОДАТКОВА ПРОЦЕДУРА UNG З ТРИЗКАМИ ПЛАЗМИ КРОВІ ЛЮДИНИ, ПІДГОТОВАНІМ ДЛЯ АМПЛІФІКАЦІЇ НА АНАЛІЗАТОРІ АББОТТ m2000sp

ПРИМІТКА: нумерація пунктів з протоколу III збережена. Починаючи з пункту 22, проведіть наступні процедури:

Протокол додавання мастер-міксу Abbott m2000sp Master Mix Addition (пункт 23) необхідно розпочати протягом однієї години після завершення процесу прободіготовки.

ПРИМІТКА: змініть рукавички перед початком роботи з реагентами для ампліфікації.

22. Після завершення підготовки зразків завантажте реагенти для ампліфікації і пробірку мастер-мікс (при необхідності) на робочий стіл Abbott m2000sp. У таблиці нижче наведено кількість наборів реагентів для ампліфікації відповідно до кількості реакцій. Якщо використовується 1 набір реагентів для ампліфікації, пробірка мастер-мікс не потрібна.

Вимоги до набору реагентів для ампліфікації^a

Від 1 до 24 реакцій	Від 25 до 48 реакцій	Від 49 до 72 реакцій	Від 73 до 96 реакцій
1 новий; до 4 з неповними наборами	2 нових; до 4 з неповними наборами	3 нових; до 4 з неповними наборами	4 нових або неповних набори

^a Див. Інструкцію з експлуатації Abbott m2000sp (кат. № 9K20 версія 6 чи вище) для отримання інструкцій щодо керування запасами, для того щоб визначити максимальну кількість реакцій, які можуть бути протестовані з вибраними неповними наборами.

- Неповні набори реагентів для ампліфікації можна використовувати виключно на тому ж аналізаторі Abbott m2000sp, на якому проводилась попередня підготовка набору реагентів. Повторне застосування наборів реагентів для ампліфікації на іншому аналізаторі може призвести до помилки та затримки тестування.
- Неповні і нові набори реагентів для ампліфікації можна використовувати одночасно.

ВАЖЛИВО: неповні набори реагентів для ампліфікації повинні зберігатись при температурі від -25 до -15°C безпосередньо до наступного використання. Перевірте, чи мастер-мікс був розморожений перед розміщенням неповного набору(ів) на робочий стіл Abbott m2000sp. Після зміни температурного режиму зберігання, що становив від -25 до -15°C, неповні набори реагентів для ампліфікації, що будуть використовуватися другий раз необхідно використати протягом 25 хвилин чи утилізувати. Це стосується загальної температури в приміщенні в тому числі у випадках, коли набори виймаються з місця зберігання, але не використовуються.

- Переконайтесь, що вміст нових наборів реагентів для ампліфікації знаходиться на дні. Для цього перед відкриванням постукайте флаконами по столу, тримаючи їх у вертикальному положенні 5-10 разів.
- Не стукайте по неповних наборах реагентів для ампліфікації, що використовуються повторно. Це може призвести до втрати об'єму мастер-мікс у кришці.
- Зніміть кришки. Якщо новий набір реагентів для ампліфікації буде збережено для повторного використання, флакони необхідно закрити кришками для подальшого зберігання. Якщо ви плануєте повторно використовувати оригінальні кришки для флаконів реагентів, їх можна не викидати. Якщо ви плануєте використовувати нові кришки для флаконів реагентів, оригінальні кришки можна утилізувати.
- За допомогою ПІПЕТКИ, ПРИЗНАЧЕНОЇ ВИКЛЮЧНО ДЛЯ РОБОТИ З РЕАГЕНТАМИ, додайте визначений об'єм UNG 1 U/μL (кат. № 06L87-02) до флакону з реагентом у позиції 3 нових та неповних наборів реагентів для ампліфікації.
- Наступна таблиця дозволяє визначити об'єм UNG для додавання у флакони з реагентами в позиції 3 нових та неповних наборів реагентів для ампліфікації. Флакон з реагентом у позиції 3 нового набору реагентів містить термостабільну полімеразу Thermostable rTth polymerase enzyme. Флакон з реагентом у позиції 3 неповного набору реагентів містить мастер-мікс.

ПРИМІТКА: об'єм UNG, що додається у флакони з реагентами в позиції 3 залежить від кількості тестів, що залишилися в наборах реагентів, а не від кількості зразків, що тестуються. Інструкції з керування запасами реагентів для ампліфікації, а також визначення кількості тестів, що залишилися в наборі реагентів, дивіться в Інструкції з експлуатації Abbott m2000sp.

- Перемішайте всі неповні набори, вручну аспіруючи та випускаючи рідину вгору-вниз. Не перемішуйте вміст нових наборів.
- Неповні набори для ампліфікації завантажуються ліворуч від нових наборів реагентів для ампліфікації на робочий стіл Abbott *m2000sp*.
- Перевірте, чи набори реагентів для ампліфікації надійно встановлені в аналізаторі.

Об'єм UNG для додавання у флакон з реагентом в позиції 3 кожного набору реагентів для ампліфікації

Тести, що залишилися у наборі	Додайте даний об'єм UNG (µL)
1	5
2	6
3	7
4	8
5	9
6	10
7	11
8	12
9	13
10	13
11	14
12	15
13	16
14	17
15	18
16	19
17	20
18	21
19	22
20	23
21	24
22	25
23	26
24 (новий набір)	27

23. Виберіть відповідний планшет з глибокими лунками, який є сумісним з відповідною процедурою екстракції зразків. Розпочніть протокол додавання мастер-міксу Abbott *m2000sp* Master Mix Addition. Дотримуйтеся вказівок розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.

ПРИМІТКА: оператор не повинен вручну заповнювати всі порожні/незаповнені лунки в оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate.

- Після завершення процедури екстракції зразків аналізатор Abbott *m2000sp* автоматично заповнює всі порожні лунки в Оптичному реакційному планшеті на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate Буферним розчином *mElution* у разі, якщо під час постановки було оброблено більше 48 зразків. Заповнення планшетів не виконується для аналізів, що містять 48 зразків чи менше.
- Якщо це пропонується аналізатором, підставка Reagent Carrier 2 повинна залишатися на місці; як мінімум, на ній розміщується реакційна ємність для Буферного розчину *mElution Buffer* (Reagent Carrier 2, позиція 6). Якщо ця реакційна ємність була вивантажена, розмістіть на підставці Reagent Carrier 2, позиція 6, нову реакційну ємність з етикеткою *mElution Buffer*. Системна рідина, яку буде додано до реакційної ємності, буде використовуватися для заповнення порожніх лунок. Після завершення цього процесу система продовжить процедуру з додавання мастер-міксу.

ПРИМІТКА: інструкції з використання функції автоматизованого заповнення планшета, що застосовуються під час роботи системою, знаходяться в Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp* (кат. № 9K20 версії 6 чи вище), розділу 5 «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) - «Sample Extraction—Closed Mode» (Екстракція зразків – закритий режим).

- Протокол Abbott *m2000rt* (пункт 27) потрібно розпочати протягом 50 хвилин після запуску протоколу додавання мастер-мікс Master Mix Addition Protocol (пункт 23).

ПРИМІТКА: якщо після пункту 23 процедура з додавання мастер-міксу переривається за будь-якої причини, новий оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate повинен бути використаний у разі, якщо необхідно буде повторити виконання протоколу з додавання мастер-міксу Abbott *m2000sp* Master Mix Addition (пункт 23).

24. Увімкніть і запустіть аналізатор Abbott *m2000rt* у зоні ампліфікації.

ПРИМІТКА: аналізатор Abbott *m2000rt* потребує 15 хвилин для розігріву.

ПРИМІТКА: зніміть рукавички перед поверненням у зону підготовки зразків.

25. Запечатайте Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate після того, як аналізатор Abbott *m2000sp* завершить додавання зразків і мастер-міксу відповідно до розділу «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.
26. Помістіть запечатаний оптичний планшет у Штатив для планшетів Abbott Splash-Free Support Base та інкубуйте при кімнатній температурі (15-30°C) протягом 10 хвилин. Після інкубації при кімнатній температурі перенесіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate у Штативі для планшетів Abbott Splash-Free Support Base в аналізатор Abbott *m2000rt*.
27. Помістіть Оптичний реакційний планшет на 96 лунок Abbott 96-Well Optical Reaction Plate в аналізатор Abbott *m2000rt*. На екрані «Protocol» («Протокол») виберіть відповідний файл програми для HIV-1 DBS Viral Load. Розпочніть протокол Abbott RealTime HIV-1, як описано в розділі «Operating Instructions» (Вказівки щодо експлуатації) Інструкції з експлуатації Abbott *m2000rt*.

ПРИМІТКА: рекомендовано переносити замовлення на тестування, використавши компакт-диск чи через мережеве з'єднання, за допомогою програмного забезпечення з функцією імпорту та експорту *m2000sp* та *m2000rt*. При створенні замовлення на тестування в ручному режимі для Abbott *m2000rt* введіть ідентифікаційні номери (ID) досліджуваних зразків у відповідні позиції ПЛР-планшета відповідно до таблиці «Wells for Selected Plate» (Лунки обраного планшета), що знаходиться на екрані «PCR Plate Results» (Результати, отримані з ПЛР-планшета) аналізатора Abbott *m2000sp*. Див. Розділ 5 Інструкції з експлуатації Abbott *m2000sp*.

28. Якщо підготовлений неповний набір реагентів для ампліфікації повинен бути використаний повторно, накрийте 3 флакони реагентів оригінальними або новими кришками (кат. № 3N20-01) і зберігайте при температурі від –25 до –15°C у вертикальному положенні, в захищеному від світла місці. Утилізуйте набори реагентів для ампліфікації, що закінчилися, а також ті, що використовувалися повторно.

ВАЖЛИВО: реагенти для ампліфікації, які будуть використовуватися повторно слід помістити в умови зберігання при температурі від –25 до –15°C протягом 50 хвилин з моменту запуску протоколу додавання мастер-мікс.