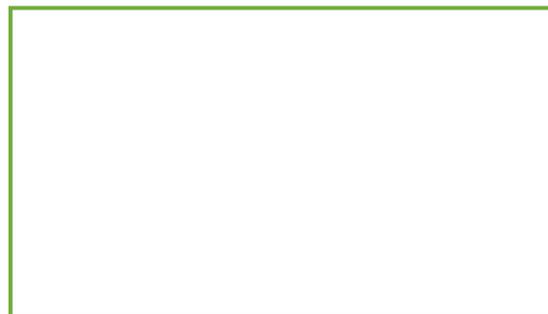




Via Sant'Anna 131-135
61030 Cartoceto PU (IT)
Telephone + 39 (0)721830605
FAX +39 (0)721837154
e-mail: info@diatheva.com
www.diatheva.com



HIV-1 DNA Test PRO

MBK0087- 96 Tests
MBK0087-32T - 32 Tests



SOLO PER USO RICERCA

USO PREVISTO	HIV-1 DNA Test PRO consente la rilevazione e la quantificazione del DNA totale dell'HIV-1, gruppo M, in campioni di sangue intero e PBMC																																	
INTRODUZIONE	<p>HIV-1 DNA è considerato il marker di persistenza dell'HIV nelle cellule infette più ampiamente utilizzato, in grado di consentire una quantificazione complessiva di tutte le forme virali del DNA dell'HIV inclusi i provirus integrati stabili e non integrati, 2-LTR, 1-LTR e forme lineari extracromosomiche. Tutte queste forme coesistono nelle cellule infette durante la replicazione virale e i loro livelli possono variare tra i pazienti, in base agli stadi della malattia da HIV e all'efficacia della terapia anti-HIV.</p> <p>Inoltre, la rilevazione molecolare del DNA provirale di HIV-1 è indicata per la diagnosi dell'HIV nei bambini nati da madri infette di età inferiore ai 2 anni, perché la sierologia può rimanere positiva a causa del trasferimento passivo degli anticorpi attraverso la placenta, mentre il DNA virale può essere utilizzato per stabilire lo stato reale dei pazienti.</p>																																	
PRINCIPIO DEL SAGGIO	<p>HIV-1 DNA Test PRO è un test di PCR quantitativa che permette la rilevazione e la quantificazione di tutte le forme di DNA intracellulare di HIV-1 mediante l'amplificazione di una sequenza specifica che si basa sull'utilizzo di una sonda fluorescente.</p> <p>Il kit fornisce una miscela di PCR duplex pronta all'uso, specifica per l'amplificazione del DNA dell'HIV-1 e del gene endogeno della trascrittasi inversa della telomerasi umana (hTERT), necessario per la quantificazione relativa del numero di copie dell'HIV-1 DNA. Il target hTERT può essere utilizzato come controllo di processo e per rilevare potenziali fattori di inibizione presenti nel campione.</p> <p>HIV-1 Master Mix_PRO consente di ottenere prestazioni robuste e riproducibili, anche in presenza di inibitori della reazione di PCR. Inoltre, la miscela di amplificazione consente l'assemblaggio della reazione a temperatura ambiente.</p> <p>L'HIV-1 DNA Test PRO contiene anche una curva standard pronta all'uso con 5 livelli di copie HIV-1 e di contenuto cellulare.</p>																																	
CONTENUTO DEL KIT	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Reagente</th> <th colspan="2">No. vial x Volume</th> </tr> <tr> <th>MBK0087</th> <th>MBK0087-32T</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>HIV-1 Master Mix_PRO</td> <td>2 X 1650 µL</td> <td>1 X 1650 µL</td> </tr> <tr> <td>ROX_PRO</td> <td>2 X 8 µL</td> <td>1 X 8 µL</td> </tr> <tr> <td>ROX Dilution Buffer_PRO</td> <td>2 X 100 µL</td> <td>1 X 100 µL</td> </tr> <tr> <td>PCR Negative Control_PRO</td> <td>2 X 100 µL</td> <td>1 X 100 µL</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 1_PRO</td> <td>2 X 85 µL</td> <td>1 X 85 µL</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 2_PRO</td> <td>2 X 85 µL</td> <td>1 X 85 µL</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 3_PRO</td> <td>2 X 85 µL</td> <td>1 X 85 µL</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 4_PRO</td> <td>2 X 85 µL</td> <td>1 X 85 µL</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 5_PRO</td> <td>2 X 85 µL</td> <td>1 X 85 µL</td> </tr> </tbody> </table> <p>NOTA:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Se la confezione del kit MBK0087 (96 Test) ha un'etichetta BLU, il kit è per applicazione su ELITe InGenius® (ELITechGroup S.p.A) e contiene 2 tubi del reagente HIV-1 Standard DNA 1_PRO (codice: MBK0087-STD; quantità: 2 x 85µL), in aggiunta ai reagenti indicati in tabella. - Se la confezione del kit MBK0087-32T (32 Test) ha un'etichetta ROSSA, il kit è per applicazione su ELITe InGenius® (ELITechGroup S.p.A) e contiene 1 tubo del reagente HIV-1 Standard DNA 1_PRO (codice: MBK0087-STD; quantità: 1 x 85µL), in aggiunta ai reagenti indicati in tabella. 		Reagente	No. vial x Volume		MBK0087	MBK0087-32T	HIV-1 Master Mix_PRO	2 X 1650 µL	1 X 1650 µL	ROX_PRO	2 X 8 µL	1 X 8 µL	ROX Dilution Buffer_PRO	2 X 100 µL	1 X 100 µL	PCR Negative Control_PRO	2 X 100 µL	1 X 100 µL	HIV-1 Standard DNA 1_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL	HIV-1 Standard DNA 2_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL	HIV-1 Standard DNA 3_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL	HIV-1 Standard DNA 4_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL	HIV-1 Standard DNA 5_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL
Reagente	No. vial x Volume																																	
	MBK0087	MBK0087-32T																																
HIV-1 Master Mix_PRO	2 X 1650 µL	1 X 1650 µL																																
ROX_PRO	2 X 8 µL	1 X 8 µL																																
ROX Dilution Buffer_PRO	2 X 100 µL	1 X 100 µL																																
PCR Negative Control_PRO	2 X 100 µL	1 X 100 µL																																
HIV-1 Standard DNA 1_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL																																
HIV-1 Standard DNA 2_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL																																
HIV-1 Standard DNA 3_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL																																
HIV-1 Standard DNA 4_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL																																
HIV-1 Standard DNA 5_PRO	2 X 85 µL	1 X 85 µL																																
MATERIAL RICHiesto NON FORNITO NEL KIT	<ul style="list-style-type: none"> • Guanti monouso senza polvere • Kit per l'isolamento del DNA o metodi di estrazione home made che consentono l'ottenimento di DNA privo di inibitori • Pipette 																																	

	<ul style="list-style-type: none"> • Spettrofotometro o Nanospettrofotometro per la quantificazione di acidi nucleici (opzionale) • Puntali con filtro • Vortex mixer • Microcentrifuga da banco • Strumento di Real-time PCR 																		
CONSERVAZIONE	Al ricevimento, conservare a -20°C. Se conservati alla temperatura consigliata, tutti i reagenti sono stabili fino alla data di scadenza																		
PRECAUZIONI GENERALI	<p>Prima di utilizzare il kit leggere attentamente e in maniera completa le Informazioni sul prodotto.</p> <p>L'operatore deve sempre prestare attenzione a:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Impostare aree di pre- e post-PCR. Non condividere strumenti o materiali di consumo (pipette, puntali, tubi, ecc.) tra queste aree; • Utilizzare puntali per pipette con filtro; • Conservare il materiale positivo separatamente da tutti gli altri reagenti e, se possibile, aggiungerlo alla miscela di reazione in uno spazio separato; • Non utilizzare alcun reagente dopo la data di scadenza indicata in etichetta; • Indossare guanti privi di polvere durante tutte le procedure; • Scongelare tutti i componenti del kit e proteggere l'HIV-1 Master Mix_PRO e ROX_PRO dalla luce prima di iniziare il test. Dopo lo scongelamento, mescolare i componenti e centrifugare brevemente; • Ridurre al minimo la manipolazione del campione; • Cambiare spesso i guanti; • Lavare le superfici del banco con ipoclorito di sodio al 5%. 																		
PROCEDIMENTO																			
1. PREPARAZIONE DEL CAMPIONE 1.1 Raccolta del campione 1.2 Estrazione del DNA e purificazione 1.3 Preparazione dei campioni da analizzare	<p>I campioni di sangue devono essere raccolti in provette sterili con EDTA come anticoagulante. Conservare il sangue intero fino ad un massimo di 6 ore tra 2 e 25°C o a -20°C per periodi più lunghi.</p> <p>Per l'estrazione del DNA, Diatheva consiglia il kit QIAamp DNA Blood Mini (QIAGEN Cat. No. 51104/51106), partendo da un volume iniziale di 400 µL di sangue secondo le istruzioni del produttore. Per ottenere una concentrazione più elevata, utilizzare un volume di eluizione di 60 µL, ricaricare l'eluato sulla colonna e ripetere la fase di eluizione.</p> <p>Il kit è compatibile con l'uso di ELITE InGenius® (ELITechGroup S.p.A) Potrebbero essere appropriati anche sistemi e kit alternativi di estrazione degli acidi nucleici.</p> <p>Il volume di DNA da utilizzare per la reazione deve essere convalidato dall'utente (es.: quando viene utilizzato il kit QIAamp DNA Blood Mini per il campione di sangue intero, è possibile analizzare un volume da 3 a 20 µL di DNA eluato, coprendo un intervallo da 0,25 a 2 µg).</p>																		
2. CURVA STANDARD (solo per test quantitativo) 3. CONTROLLO POSITIVO (solo per test qualitativo)	<p>Il kit HIV-1 DNA Test PRO contiene 5 punti della curva di calibrazione pronti all'uso. In una area di lavoro separata scongelare, agitare su vortex per 15" e centrifugare brevemente le vial contenenti i 5 DNA standard.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Standard</th> <th>HIV-1 DNA copie /reazione</th> <th>Cellule /reazione</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 1_PRO</td> <td>50,000</td> <td>300,000</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 2_PRO</td> <td>5,000</td> <td>30,000</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 3_PRO</td> <td>500</td> <td>3,000</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 4_PRO</td> <td>50</td> <td>300</td> </tr> <tr> <td>HIV-1 Standard DNA 5_PRO</td> <td>5</td> <td>30</td> </tr> </tbody> </table> <p>Lo standard HIV-1 DNA 1_PRO deve essere utilizzato come controllo positivo di PCR. In un'area separata, scongelare, agitare su vortex per 15" e centrifugare brevemente la vial di HIV-1 Standard DNA 1_PRO.</p>	Standard	HIV-1 DNA copie /reazione	Cellule /reazione	HIV-1 Standard DNA 1_PRO	50,000	300,000	HIV-1 Standard DNA 2_PRO	5,000	30,000	HIV-1 Standard DNA 3_PRO	500	3,000	HIV-1 Standard DNA 4_PRO	50	300	HIV-1 Standard DNA 5_PRO	5	30
Standard	HIV-1 DNA copie /reazione	Cellule /reazione																	
HIV-1 Standard DNA 1_PRO	50,000	300,000																	
HIV-1 Standard DNA 2_PRO	5,000	30,000																	
HIV-1 Standard DNA 3_PRO	500	3,000																	
HIV-1 Standard DNA 4_PRO	50	300																	
HIV-1 Standard DNA 5_PRO	5	30																	
4. IMPOSTAZIONE DEL PROGRAMMA	<p>Programmare lo strumento di PCR prima di procedere con la preparazione della reazione. Il kit è stato ottimizzato per essere utilizzato con le seguenti strumentazioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Applied Biosystems™ QuantStudio 3-5 and ABI 7500 (Thermo Fisher Scientific), • Rotor-Gene Q (Qiagen), • CFX96 (Biorad), • ELITE InGenius® (ELITechGroup S.p.A) <p>Per la compatibilità con altri strumenti si prega di contattare Diatheva.</p> <p>Programmare lo strumento di real-Time PCR con il seguente profilo termico:</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Step</th> <th>Temperature e tempi</th> <th>Cicli</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Denaturazione iniziale</td> <td>95°C 3 min</td> <td>1 X</td> </tr> <tr> <td>Denaturazione</td> <td>95°C 20 sec</td> <td>50 X</td> </tr> <tr> <td>Annealing-estensione</td> <td>60°C 60 sec</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>	Step	Temperature e tempi	Cicli	Denaturazione iniziale	95°C 3 min	1 X	Denaturazione	95°C 20 sec	50 X	Annealing-estensione	60°C 60 sec							
Step	Temperature e tempi	Cicli																	
Denaturazione iniziale	95°C 3 min	1 X																	
Denaturazione	95°C 20 sec	50 X																	
Annealing-estensione	60°C 60 sec																		

	<p>La fluorescenza viene rilevata durante la fase di annealing-estensione nel canale green (fluoroforo FAM) per il target HIV-1 e nel canale yellow (fluoroforo VIC) per le cellule (hTERT). Selezionare il quencher non fluorescente (NFQ) come quencher.</p> <p>Per lo strumento Rotor-Gene Q che consente l'ottimizzazione del gain sui canali di acquisizione, impostare l'ottimizzazione del gain sul campione NTC (posizione tubo 1)</p> <p>Selezionare il ROX come passive reference per gli strumenti che lo richiedono (es. Applied Biosystems). Il volume finale di reazione è 50 µL.</p>
<p>5. PREPARAZIONE DELLA MIX DI AMPLIFICAZIONE</p>	<p>Includere in ciascuna seduta di amplificazione un controllo negativo di PCR (controllo NTC-senza template) e (solo per test qualitativo) un controllo positivo di PCR. Per la quantificazione, si suggerisce di testare la curva standard e i campioni in duplicato.</p> <p>Scongelare l'HIV-1 Master Mix_PRO, ROX_PRO (proteggere dalla luce) e PCR Negative Control_PRO. Agitare su vortex per 15" e centrifugare brevemente.</p> <p>Per gli strumenti che richiedono un passive reference aggiungere il ROX_PRO alla HIV-1 Master Mix_PRO prima dell'uso, secondo le istruzioni seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Per strumenti a basso ROX (es.: ABI 7500, QuantStudio 3-5): aggiungere 24 µL di ROX Dilution Buffer_PRO al vial contenente 8 µL di ROX, agitare su vortex per 30" e centrifugare brevemente. Aggiungere 2,4 µL di ROX diluito alla HIV-1 Master Mix_PRO, agitare su vortex per 30" e centrifugare brevemente. - Per gli strumenti High ROX (es: ABI 7900): il ROX fornito nel kit è pronto all'uso (non è necessaria alcuna diluizione. Aggiungere 6,9 µL di ROX alla HIV-1 Master Mix_PRO, agitare su vortex per 30" e centrifugare brevemente. <p><i>Nota: il kit MBK0087 fornisce vial separate di ROX, una per ciascun vial di Master Mix_PRO HIV-1. Si consiglia di diluire ROX_PRO e completare l'HIV-1 Master Mix_PRO appena prima dell'uso. Il ROX diluito non può essere conservato dopo la preparazione.</i></p> <p>Aliquotare 30 µL di HIV-1 Master Mix_PRO nelle provette da PCR o nella piastra preparata per l'esperimento.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Aggiungere 20 µL di PCR Negative Control_PRO nelle provette corrispondenti o nei pozzetti del NTC. • In un'area separata, aggiungere 20 µL di DNA da testare nelle provette o nei pozzetti corrispondenti, contenenti la miscela di amplificazione. <p>Per il test qualitativo Aggiungere 20 µL di controllo positivo di PCR (preparato come indicato nella sezione 3) nelle provette di PCR corrispondenti o nei pozzetti contenenti la miscela di amplificazione.</p> <p>Per il test quantitativo Aggiungere 20 µL di ogni punto della curva di calibrazione pronta all'uso (come indicato nella sezione 2) nelle provette di PCR corrispondenti o nei pozzetti contenenti la miscela di amplificazione.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sigillare ermeticamente le provette o la piastra per PCR e caricare nello strumento per Real Time PCR, seguendo le istruzioni del produttore. <p><i>Nota: per strumenti di Real Time PCR con blocco a 96 pozzetti, verificare che i reagenti si siano depositati sul fondo di ciascun pozzetto, in caso contrario centrifugare brevemente la piastra a 800 x g per 1 minuto.</i></p>

6. ANALISI DEI DATI

L'analisi dei risultati deve essere eseguita con il programma dello strumento PCR, fare riferimento al manuale per informazioni dettagliate. Impostare i valori di riferimento e di soglia.

Alcuni software eseguono l'analisi dei dati in automatico, in questo caso è consigliabile verificare le impostazioni. Per eseguire un'analisi manuale dei dati, analizzare separatamente il file di corsa per i due fluorofori. Per una corretta definizione della threshold è necessario che sia posizionata in modo da permettere una corretta separazione del segnale dal rumore di fondo, dopo la crescita della curva in fase lineare.

L'analisi dei risultati nel software Rotor-Gene Q deve essere effettuata selezionando la funzione "Dynamic tube", senza selezionare la funzione "Slope correct".

7. INTERPRETAZIONE ED ESPRESSIONE DEI RISULTATI

Il segnale di amplificazione deve essere caratterizzato da un rapido e regolare aumento dei valori di fluorescenza e non da picchi improvvisi o da un aumento graduale del segnale di fondo.

7.1 TEST QUALITATIVO

a. Controlli

Prima di procedere con l'analisi dei campioni, verificare la validità dei controlli. Se i risultati differiscono da quelli indicati nelle tabelle sottostanti, la corsa di PCR non è valida e deve essere ripetuta.

QuantStudio, ABI 7500 e CFX96

ID Controllo	Canale di rilevazione della fluorescenza	
	<i>Ct in FAM (Canale Green)</i>	<i>Ct in VIC (Canale Yellow)</i>
Positive PCR Control (HIV-1 Standard DNA 1_PRO)	21 ≤ Ct ≤ 25	22 ≤ Ct ≤ 26

PCR Negative Control_PRO (NTC)	Nessun segnale di amplificazione	Nessun segnale di amplificazione
--------------------------------	----------------------------------	----------------------------------

Rotor-Gene Q

ID Controllo	Canale di rilevazione della fluorescenza	
	<i>Ct in FAM (Canale Green)</i>	<i>Ct in VIC (Canale Yellow)</i>
Positive PCR Control (HIV-1 Standard DNA 1_PRO)	21 ≤ Ct ≤ 25	19 ≤ Ct ≤ 24
PCR Negative Control_PRO (NTC)	Nessun segnale di amplificazione	Nessun segnale di amplificazione

b. Campioni

I risultati dei campioni devono essere interpretati secondo quanto riportato nella tabella sotto:

HIV-1 (Canale FAM-green)	Cellule (hTERT) (Canale VIC-yellow)	Interpretazione
Nessuna amplificazione	Conforme*	HIV-1 DNA non rilevato
	Non conforme** o nessuna amplificazione	<i>Parziale o completa inibizione.</i> Il campione di DNA deve essere diluito. Se l'inibizione persiste, si raccomanda di procedere con una nuova estrazione. <i>Fallimento dello step di estrazione.</i> Si raccomanda di procedere con una nuova estrazione.
Amplificazione	Non significativo	HIV-1 DNA presente

*IL risultato per Cellule (hTERT) è conforme se Ct ≤ 30 utilizzando QuantStudio, ABI 7500 e CFX96, Ct ≤ 26 utilizzando Rotor-Gene Q.
**Il risultato per Cellule (hTERT) non è conforme se Ct > 30 utilizzando QuantStudio, ABI 7500 e CFX96, Ct > 26 utilizzando Rotor-Gene Q.

7.2 TEST QUANTITATIVO

a. Controlli e Standard

Prima di procedere con l'analisi dei campioni, verificare la validità del controllo negativo PCR e della curva standard. Se i risultati differiscono da quelli indicati nelle tabelle sottostanti, la corsa PCR non è valida e deve essere ripetuta.

Se le repliche di una diluizione standard non sono identiche o uno standard è significativamente al di fuori dell'intervallo dinamico del test, può essere omesso per ottimizzare i risultati e raggiungere i parametri.

QuantStudio, ABI 7500, CFX96 e Rotor-Gene Q

ID Controllo	Canale di rilevazione della fluorescenza	
	<i>Ct in FAM (canale Green)</i>	<i>Ct in VIC (canale Yellow)</i>
PCR Negative Control_PRO (NTC)	Nessun segnale di amplificazione	Nessun segnale di amplificazione

Inoltre, per ottenere risultati di quantificazione accurati, è necessario generare curve standard valide per i due target.

I valori dei parametri di controllo delle curve standard devono rispettare i criteri indicati nella tabella seguente:

	Parametri di controllo	Criteri di accettazione
HIV-1 <i>FAM-canale green</i>	Slope	-3.74 - -3.00
	Efficienza di reazione	85% - 115%
	R ²	≥0.98
Cellule (hTERT) <i>VIC-canale yellow</i>	Slope	-3.74 - -2.92
	Efficienza di reazione	85% - 120%
	R ²	≥0.98

La corsa non è valida se i parametri di PCR Negative Control e delle curve Standard non sono soddisfatti. In caso di esecuzione non valida, ripetere la PCR.

Se la corsa è valida, continuare con l'interpretazione dei risultati del campione.

a. Campioni

I campioni devono essere interpretati seguendo le indicazioni della tabella sotto:

HIV-1 (FAM-Canale green)	Cellule (hTERT) (VIC-Canale yellow)	Interpretazione
Nessuna amplificazione	Conforme*	HIV-1 DNA non rilevato.
	Non conforme** o nessuna amplificazione	<i>Parziale o completa inibizione.</i> Il campione di DNA deve essere diluito. Se l'inibizione persiste, si raccomanda di procedere con una nuova estrazione. <i>Fallimento dello step di estrazione.</i> Si raccomanda di procedere con una nuova estrazione.
Amplificazione	Conforme*	HIV-1 DNA rilevato, quantificazione possibile.
	Non conforme** o nessuna amplificazione	HIV-1 DNA rilevato. <i>Parziale inibizione.</i> Il campione deve essere diluito. Se l'inibizione persiste, si raccomanda di procedere con una nuova estrazione. <i>Fallimento dello step di estrazione.</i> Si raccomanda di procedere con una nuova estrazione

*Il risultato per Cellule (hTERT) è conforme se Ct ≤ 30 utilizzando QuantStudio, ABI 7500 e CFX96, Ct ≤ 26 utilizzando Rotor-Gene Q.
**Il risultato per Cellule (hTERT) non è conforme se Ct > 30 utilizzando QuantStudio, ABI 7500 e CFX96, Ct > 26 utilizzando Rotor-Gene Q.

Il software calcola automaticamente il numero di copie di HIV-1 DNA e del contenuto di cellule per reazione. Vedere la tabella sotto per una corretta interpretazione:

Target	Risultato quantificazione	Interpretazione
HIV-1	$N^* \geq 50,000$ copie/reazione	Rilevate più di 50,000 copie di HIV-1 DNA
	$5 \leq N \leq 50,000$ copie/reazione	Quantificazione delle copie di HIV-1 DNA rilevate
	$N \leq 5$ copie/reazione	Rilevate meno di 5 copie di HIV-1 DNA
Cellule (hTERT)	$CN^{**} \geq 300,000$ copie/reazione	Rievate più di 300,000
	$CN \leq 300,000$ copie/reazione	Quantificazione delle cellule rilevate

*N è il numero di copie di HIV-1 fornito dal software dello strumento di Real Time PCR

**CN è il contenuto di cellule fornito dal software dello strumento di Real Time PCR

- Il risultato può essere espresso come il numero di copie di HIV-1 DNA per 10^6 cellule utilizzando il calcolo riportato sotto:

$$N_{10(6)} = N \times 1,000,000 / CN$$

Dove,

N: Copie di HIV-1 ottenute per reazione di PCR;

N₁₀₍₆₎: numero di copie di HIV-1 in 10^6 cellule;

CN: Numero di cellule ottenute per reazione di PCR, utilizzando il target hTERT. Si prega di considerare che il valore ottenuto è già convertito in numero di cellule (hTERT è presente in due copie in un genoma diploide).

- Il risultato può essere espresso come copie di HIV-1 DNA/mL di sangue seguendo l'equazione:

$$N_{1mL} = \frac{N \times [Vel \times (1000\mu L \div V_{st})]}{VDNAan}$$

Dove,

N_{1mL}: numero di copie di HIV-1 per 1 mL di sangue;

Vel: volume in μL utilizzato per lo step di eluizione;

V_{st}: volume di partenza del sangue utilizzato per lo step di estrazione espresso in μL ;

VDNAan: volume in μL del DNA estratto DNA (eluato) analizzato in PCR (senza diluizione)

- Se la concentrazione di DNA è nota, il risultato può essere espresso come copie di HIV-1 DNA / μg di DNA

Esempi:

- 1 μg di DNA estratto è analizzato: il risultato della quantificazione è N/ μg DNA
- 0.5 μg di DNA estratto è analizzato: il risultato della quantificazione è $N \times 2/\mu g$ DNA
- Il risultato potrebbe infine essere convertito in copie di HIV-1 DNA/ 10^4 cellule CD4+, se si conoscono la conta e la percentuale di linfociti CD4+ nel sangue analizzato.