

## Aptima™ HIV-1 Quant Dx Assay

Til bruk ved *in vitro*-diagnostikk.

Kun til eksport fra USA.

<b>Allmenn informasjon</b> .....	<b>2</b>
Beregnet bruk .....	2
Oppsummering og forklaring av testen .....	2
Prinsipper for prosedyren .....	3
Advarsler og forholdsregler .....	4
Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser .....	6
Prøvetaking og oppbevaring av prøver .....	7
Prøver i Panther System .....	10
Prøvetransport .....	10
<b>Panther System</b> .....	<b>11</b>
Reagenser og materialer som følger med .....	11
Materialer som er nødvendige, men leveres separat .....	12
Valgfrie materialer .....	13
Testprosedyre for Panther System .....	14
Prosedyremerknader .....	18
<b>Kvalitetskontroll</b> .....	<b>19</b>
Assaykalibrering .....	19
Negative og positive kontroller .....	19
Intern kalibrator / intern kontroll .....	19
<b>Tolke resultatene</b> .....	<b>20</b>
<b>Begrensninger</b> .....	<b>21</b>
<b>Ytelse</b> .....	<b>22</b>
Deteksjonsgrense (LOD) Bruke 3rd HIV-1 WHO International Standard .....	22
Deteksjonsgrense på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper .....	22
Lineært område .....	24
Linearitet på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper .....	25
Nedre kvantiteringsgrense Bruke 3rd HIV-1 WHO International Standard .....	26
Verifisering av LLOQ på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper .....	27
Presisjon .....	28
Potensielt interfererende substanser .....	28
Spesifisitet .....	30
Analytisk spesifisitet .....	31
Repeterbarhet for kliniske prøver .....	32
Prøvefortynning ved bruk av prøvefortynningsløsning .....	33
Metodekorrelasjon .....	34
Diagnostisk samsvar .....	34
Overdraging .....	35
Serokonversjonspanel .....	35
Ekvivalensstudie med serum og plasma .....	36
<b>Bibliografi</b> .....	<b>37</b>

## Allmenn informasjon

### Beregnet bruk

Aptima HIV-1 Quant Dx-analysen er en *in vitro* nukleinsyre-amplifikasjonstest til påvisning og kvantifisering av humant immunsviktvirus type 1 (HIV-1) RNA-gruppene M, N og O på det helautomatiserte Panther™-systemet. Det skal brukes som hjelpemiddel til diagnostisering av HIV-1-infeksjon, for å bekrefte HIV-1-infeksjon og som hjelpemiddel ved klinisk behandling av pasienter smittet med HIV-1.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan brukes som et hjelpemiddel til diagnostisering av HIV-1-infeksjon, inkludert akutt eller primær infeksjon. Forekomst av HIV-1-RNA i plasma eller serum hos pasienter uten antistoffer mot HIV-1 tyder på akutt eller primær HIV-1-infeksjon. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan brukes som en supplerende test for prøver som har gjentatt reaktive resultater med godkjente HIV-immunoassayer. Hvis prøven er reaktiv i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, er dette bekreftelse på HIV-1-infeksjon.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan også brukes sammen med klinisk presentasjon og andre laboratoriemarkører for sykdomsprognose hos HIV-1-smittede personer. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kan brukes som et hjelpemiddel til å overvåke effekten av antiretroviral behandling ved å måle endringer i konsentrasjonen av HIV-1-RNA i plasma.

Når Aptima HIV-1 Quant Dx Assay brukes som hjelpemiddel til diagnostisering av HIV-1-infeksjon, blir ytelsen for kvalitative resultater fastslått med både plasma- og serumprøver.\* Når assayet brukes som et hjelpemiddel til å overvåke effekten av antiretroviral behandling, blir ytelsen for kvantitative resultater utelukkende fastslått med plasmaprøver. Serumprøver kan ikke brukes for kvantitative resultater.

Dette assayet skal ikke brukes til screening av blod- eller plasmadonorere.

### Oppsummering og forklaring av testen

Epidemiologiske studier har identifisert humant immunsviktvirus type 1 (HIV-1) som etiologisk agens for ervervet immunsviktsyndrom (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) (1-7). HIV kan overføres ved seksuell kontakt, eksponering for infisert blod eller blodprodukter eller overføring fra mor til barn (8). Innen tre til seks uker etter HIV-eksponering utvikler den smittede personen vanligvis et kortvarig akutt syndrom, som kjennetegnes av influensalignende symptomer og høye nivåer av viremi i perifert blod (9-12). Hos de fleste smittede personer blir denne tidlige fasen etterfulgt av en HIV-spesifikk immunrespons og en reduksjon i plasmaviremi, vanligvis innen fire til seks uker fra symptomstart (13-14). Etter serokonvertering vil de fleste smittede personer gå inn i en klinisk stabil, asymptomatisk fase, som kan vare i flere år (15-17). Den asymptomatiske perioden kjennetegnes av persisterende, lavt nivå av plasmaviremi (18) og en gradvis reduksjon av CD4+ T-lymfocytter. Denne reduksjonen fører til alvorlig immunsvikt, mange opportunistiske infeksjoner, maligniteter og død (19). Selv om virusnivået i perifert blod er relativt lavt under den asymptomatiske fasen av infeksjonen, ser virusreplikering og clearance ut til å være dynamiske prosesser der en høy grad av virusproduksjon og infeksjon av CD4+-celler balanseres av like stor grad av virusclearance, celledød blant infiserte celler og nyproduksjon av CD4+-celler, noe som fører til relativt stabile nivåer av både plasmaviremi og CD4+-celler (20-22).

Kvantitative målinger av HIV i perifert blod har vist at høyere virusnivåer kan korrelere med økt risiko for klinisk progresjon av HIV-relatert sykdom, og at reduksjon av virusnivåer i plasma kan være forbundet med nedsatt risiko for klinisk progresjon (23-25). Virusnivået i perifert blod kan kvantiteres ved måling av HIV p24-antigenet i serum, ved kvantitativ dyrking

av HIV fra plasma, eller ved direkte måling av virus-RNA i plasma ved hjelp av nukleinsyre-amplifikasjons- eller signalamplifikasjonsteknologier (26-30).

Dagens deteksjon av HIV-1-infeksjon er primært basert på serologisk testing for antistoffer og/eller p24-antigen med et immunoassay. US Centers for Disease Control anbefaler bruk av en antistoff- og RNA-test for å diagnostisere akutte HIV-infeksjoner (31). Selv om sensitiviteten ved deteksjon av HIV-1-antistoff og p24-antigen er forbedret, går det fortsatt noe tid fra infeksjonstidspunktet til infeksjon kan detekteres med serologiske markører. Denne tidsperioden avhenger av sensitiviteten til den serologiske testen som brukes. Ett estimat (32) antyder at fjerdegenerasjons p24-antigen/antistoffassayer kan detektere infeksjon når konsentrasjonen av HIV-1-RNA når 14 000 kopier/ml. Deteksjonsgrensen for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er betydelig lavere enn 14 000 kopier/ml og kan detektere forekomst av HIV-1 tidligere enn HIV-immunoassayer.

Molekylteknikker som f.eks. transkripsjonsmediert amplifikasjon (TMA) er blitt brukt i stor utstrekning for å forsterke nukleinsyrer (31). TMA benytter spesifikk målfanging og isotermisk amplifikasjon for å detektere nukleinsyrer i multismittende patogener (32).

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay bruker lange primere som peker ut flere områder til HIV-1-genomet med TMA for å kompensere for høy mutasjonsrate og flere mulige mutasjoner i målområdet.

## Prinsipper for prosedyren

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay involverer tre hovedtrinn, og alle trinnene skjer i et enkelt rør på Panther System: målinnfanging, mål-amplifikasjon ved transkripsjonsformidlet amplifikasjon (transcription-mediated amplification, TMA) og deteksjon av amplifikasjonsproduktene (amplikon) med fluorescensmerkede prober (fakler).

Under målinnfanging blir nukleinsyrer med virus isolert fra prøvene. Prøven blir behandlet med et vaskemiddel for å oppløse viruskappen, denaturere proteiner og frigjøre viral genomisk RNA. Fang oligonukleotider hybridiserer til høyt konserverte regioner på HIV-1-genom, hvis dette er tilstede, i testprøven. Det hybridiserte målet blir deretter fanget på magnetiske mikropartikler som atskilles fra prøven i et magnetisk felt. Under vasketrinnene fjernes fremmedkomponenter fra reaksjonsrøret.

Mål-amplifikasjon skjer med TMA som er en transkripsjonsmediert nukleinsyre-amplifikasjonsmetode som bruker to enzymer, MMLV (Moloney murint leukemivirus) revers transkriptase og T7 RNA-prolmerase. Revers transkriptase benyttes til å generere en DNA-kopi (som inneholder en promotersekvens for T7 RNA polymerase) av målets sekvens. T7 RNA-polymerase produserer flere kopier av RNA-amplikon fra DNA-kopimalen. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay bruker TMA-metoden til å amplifisere to regioner med HIV-1 RNA (pol og LTR). Amplifikasjon av disse spesifikke regionene oppnås ved å bruke spesifikke primere som er utformet for å amplifisere HIV-1-gruppene M, N og O. Primernes utforming og metoden med to målområder sikrer nøyaktig deteksjon og kvantitering av HIV-1.


Deteksjon oppnås ved å bruke éntrådende nukleinsyrefakler som forekommer under amplifikasjon av målet, og som hybridiseres spesifikt til amplikonet i sanntid. Hver fakkel har et fluorofor og en slukker. Når fakkelen ikke er hybridisert til amplikonet, er slukkeren nær fluoroforet og undertrykker fluorescensen. Når fakkelen er bundet til amplikonet, flyttes slukkeren lenger vekk fra fluoroforet og sender ut et signal på en spesifikk bølgelengde når den eksiteres av en lyskilde. Etter hvert som flere fakler hybridiseres til amplikonet, genereres et høyere fluorescenssignal. Tiden som fluorescenssignalet bruker på å nå en spesifisert terskel, er proporsjonal med startkonsentrasjonen av HIV-1. Hver reaksjon har en

intern kalibrator / intern kontroll (internal control, IC) som kontrollerer for variasjoner i prøveprosessering, amplifikasjon og deteksjon. Konsentrasjonen av en prøve bestemmes av Panther System Software ved å bruke HIV-1- og IC-signalene for hver reaksjon og sammenligne dem med kalibreringsinformasjonen.

## Advarsler og forholdsregler

- A. Til bruk ved *in vitro*-diagnose.
- B. For å redusere risikoen for ugyldige resultater, les nøye hele pakningsvedlegget og *Panther System Operator's Manual* (operatørhåndboken for Panther System) før du utfører dette assayet.

## Laboratorierelatert

-  C. FORSIKTIG: Kontrollene for dette assayet inneholder humant plasma. Plasmaet viste seg å være negativt for hepatitt-B-overflateantigen (hepatitis B surface antigen, HBsAg), antistoffer mot HCV, antistoffer mot HIV-1 og HIV-2, samt HIV-antigen da det ble testet med prosedyrer lisensiert av US Food and Drug Administration. Plasmaet viste seg også å være ikke-reaktivt for HCV-RNA og HIV-1-RNA da det ble testet med lisensierte nukleinsyretester ved bruk av sammenslåtte prøver. Alt materiale med humant blod som opprinnelseskilde må betraktes som potensielt infeksiosøst og må behandles i samsvar med globale forholdsregler (35-37).
- D. Kun personell som har fått tilstrekkelig opplæring i bruken av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og i håndtering av potensielt infeksiosøst materiale, skal utføre denne prosedyren. Hvis det oppstår søl, må området desinfiseres umiddelbart i henhold til laboratoriets prosedyrer.
- E. Bruk bare levert eller spesifisert engangs laboratorievarer.
- F. Bruk rutinemessige forholdsregler for laboratoriet. Ikke pipetter med munnen. Ikke spis, drikk eller røyk i angitte arbeidsområder. Bruk puddefrie engangshansker, vernebriller og laboratoriefrakker ved håndtering av prøver og settreagenser. Vask hendene grundig etter å ha håndtert prøver og settreagenser.
- G. Arbeidsflater, pipetter og annet utstyr skal regelmessig dekontamineres med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning.
- H. Kasser alt materiale som har kommet i kontakt med prøver og reagenser, i henhold til lokale, internasjonale og nasjonale forskrifter (35-38). Rengjør og desinfiser alle arbeidsflater grundig.
- I. Kontrollene inneholder natriumazid som konserveringsmiddel. Ikke bruk metallslanger til overføring av reagenser. Hvis løsninger som inneholder natriumazidforbindelser, tømmes i avløpet, skal de fortynnes og skylles ned med store mengder rennende vann. Disse forholdsreglene anbefales for å unngå opphopning av avleiringer i metallrør, da dette kan utgjøre en eksplosjonsfare.
- J. Gode standardpraksiser for molekylærlaboratorier inkluderer overvåking av miljøet. Følgende prosedyre anbefales for å overvåke miljøet i laboratoriet.
  - 1. Skaff en prøvepensel og ha sammen med Aptima alikvot prøverøret (SAT).
  - 2. Merk hver SAT tilsvarende.
  - 3. Fyll hver SAT med 1 ml Aptima prøvefortynningsvæske.
  - 4. Ta overflateprøven ved å fukte en prøvepensel lett med nukleasefritt, deionisert vann.

5. Tørk av området ved å bevege prøvepenselen ovenfra og nedover. Roter prøvepenselen ca. en halv omdreining mens du tørker av området.
6. Plasser straks prøvepenselen i røret og virvle den forsiktig i fortynningsvæsken for å trekke ut potensielt innsamlet materiale. Trykk på prøvepenselen på siden av transportrøret for å trekke ut mest mulig væske. Kast prøvepenselen og sett lokk på røret.
7. Gjenta trinnene for gjenværende prøvepensler.
8. Test prøvepenselen med molekylærassay.

### Prøverelatert

- K. Prøver kan være infeksjøs. Ta globale forholdsregler (35-37) når dette assayet utføres. Prosedyrer for riktig håndtering og avhending skal etableres i samsvar med lokale forskrifter (38). Kun personell som har fått tilstrekkelig opplæring i bruken av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og i håndtering av potensielt infeksjøs materiale, skal utføre denne prosedyren.
- L. *Kun plasma med antikoagulantene EDTA og ACD er evaluert.*
- M. Oppretthold riktige oppbevaringsforhold under prøvetransport for å sikre prøvenes integritet. Prøvens stabilitet under andre transportforhold enn de som anbefales, er ikke vurdert.
- N. Unngå krysskontaminasjon under håndteringen av prøven. Vær spesielt forsiktig for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler når lokk på prøverør løsnes og fjernes. Prøver kan inneholde ekstremt store mengder organismer. Sørg for at prøvebeholderne ikke kommer i kontakt med hverandre, og kast brukt materiale slik at det ikke holdes/føres over åpne beholdere. Bytt hansker hvis de kommer i kontakt med prøven.

### Assayrelatert

- O. Kvantitative resultater av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er evaluert med EDTA- og ACD-plasma. **Serum kan ikke brukes for å finne kvantitative resultater.** Kvalitative resultater er evaluert med både plasma og serum.
- P. Ikke bruk reagenssettet, kalibratoren eller kontrollene etter utløpsdatoen.
- Q. Ikke veksle, bland eller kombiner assayreagenser fra sett som har forskjellige hovedpartinumre. Analysevæsker kan være fra forskjellige partinumre. Kontroller og kalibratorer kan være fra forskjellige partinumre.
- R. Unngå mikrobiell kontaminasjon og nukleasekontaminasjon av reagenser.
- S. Sett lokk på alle assayreagenser og oppbevar dem ved de spesifiserte temperaturene. Assayets ytelse kan bli redusert hvis det brukes uriktig lagret assayreagenser. Se *Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser og Testprosedyre for Panther System* for mer informasjon.
- T. Ikke kombiner noen assayreagenser eller væsker uten spesifikke instruksjoner. Ikke etterfyll reagenser eller væsker. Panther System verifiserer reagensnivåene.
- U. Noen av reagensene i dette settet er merket med risiko- og sikkerhetssymboler.

**Merknad:** Farekommunikasjon avspeiler klassifikasjonene i EUs sikkerhetsdatablad (SDS). For informasjon om kommunikasjon av farer som gjelder spesifikt for din region, se det regionsspesifikke Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologicds.com](http://www.hologicds.com).


 	<b>HIV VL Kit Controls</b> <b>Natriumazid 0.2%</b> Human Serum 95-100%
	<b>Advarsel</b> H312 - Farlig ved hudkontakt H412 - Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann P273 - Unngå utslipp til miljøet P280 - Benytt vernebriller/ansiktsskjerm

## Krav til oppbevaring og håndtering av reagenser

- A. Den følgende tabellen viser oppbevaringsforhold og holdbarhet for reagenser, kontroller og kalibratorer.

Reagens	Uåpnet oppbevaring	Åpent sett (rekonstituert)	
		Oppbevaring	Stabilitet
qHIV-1 amplifikasjonsreagens	2 °C til 8 °C		
qHIV-1 amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qHIV-1 enzymreagens	2 °C til 8 °C		
qHIV-1 enzymrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qHIV-1 promoterreagens	2 °C til 8 °C		
qHIV-1 promoterrekonstitusjonsløsning	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qHIV-1 målinnfangingsreagens	2 °C til 8 °C	2 °C til 8 °C	30 dager <sup>a</sup>
qHIV-1 NC-KONTROLL – (Negativ kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Engangshetteglass Brukes innen 20 timer
qHIV-1 LPC-KONTROLL + (Lav positiv kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Engangshetteglass Brukes innen 20 timer
qHIV-1 HPC-KONTROLL + (Høy positiv kontroll)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Engangshetteglass Brukes innen 20 timer
qHIV-1 PCAL (positiv kalibrator)	-15 °C til -35 °C	15 °C til 30 °C	Engangshetteglass Brukes innen 20 timer

<sup>a</sup> Når reagenser er fjernet fra Panther System, skal de straks settes tilbake i riktig oppbevaringstemperatur.

- B. Kasser eventuelle ubrukte rekonstituerte reagenser og målinnfangingsreagenser (target capture reagent, TCR) etter 30 dager eller etter hovedpartiets utløpsdato, avhengig av hva som kommer først.
- C. Reagenser som er lagret på Panther System, er stabile på systemet i 72 timer. Reagenser kan settes inn i Panther System opptil fem ganger. Panther System registrerer hver gang reagenser settes inn.
- D. Når kalibratoren er tint, må løsningen være klar, dvs. den må ikke være grumsete eller inneholde bunnfelling.
-  E. Promoterreagenset og det rekonstituerte promoterreagenset er lysfølsomt. Beskytt disse reagensene mot lys under lagring og når de prepareres til bruk.

## Prøvetaking og oppbevaring av prøver

**Merknad:** Håndter alle prøver som potensielt infeksjøs. Følg globale forholdsregler.

**Merknad:** Pass på å unngå krysskontaminasjon under prøvebehandlingstrinnene. Kasser for eksempel brukt materiale uten å føre det over åpne rør.

**Merknad:** Kun sekundærrør i plast anbefales for lagring.

Fullblodprøver som er tatt i følgende glass- eller plastrør, kan brukes:

Til kvantitative målinger:

- Rør som inneholder EDTA eller antikoagulant av syre-citrat-dekstrose (Acid Citrate Dextrose, ACD) eller
- Plasmaprepareringsrør (Plasma Preparation Tubes, PPTer).

For kvalitative målinger:

- Rør som inneholder EDTA eller ACD-antikoagulanter, eller
- PPTer, eller
- Serumrør, eller
- Serumseparatorrør (Serum Separator Tubes, SSTer).

For serum, vent med ytterligere prosessering til koagelet er dannet.

### A. Prøvetaking

Fullblod kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C og må sentrifugeres innen 24 timer etter prøvetaking. Separer plasma eller serum fra de pelleterte røde blodcellene, i samsvar med produsentens instruksjoner for røret som brukes. Plasma eller serum kan testes på Panther-systemet i et primærrør eller overføres til et sekundærrør som f.eks. Aptima-prøvealikvotrør. For å få 500 µl reaksjonsvolum er minimum volum av plasma eller serum for primære oppsamlingsrør inntil 1200 µl og for sekundærrør er minimum volum 700 µl. Følgende tabell angir krav til dødsvolum for hver type primær- og sekundærrør.

Rør (størrelse og type)	Dødsvolum på Panther
Aptima-prøvealikvotrør (Sample Aliquot Tube, SAT)	0,2 ml
12 x 75 mm	0,5 ml
13 x 100 mm	0,5 ml
13 x 100 mm med gel	0,3 ml
16 x 100 mm med gel	0,7 ml

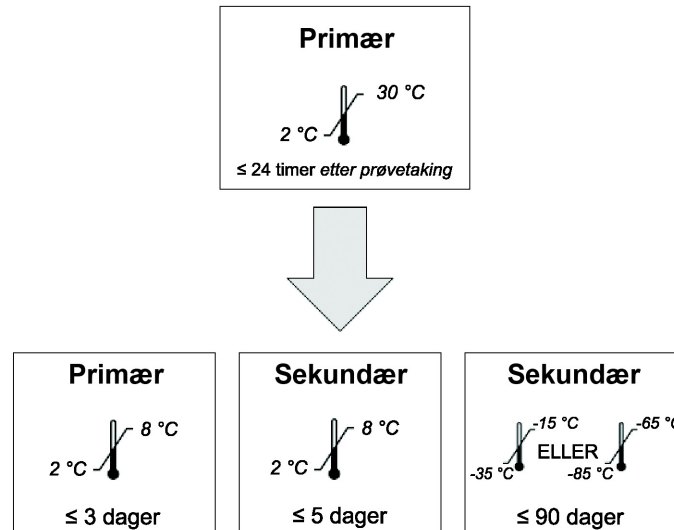
Hvis det ikke skal testes med det samme, kan plasma og serum oppbevares i samsvar med spesifikasjonene nedenfor. Hvis plasmaet overføres til et sekundærrør, kan det fryses ved -20 °C eller -70 °C, og serum kan fryses ved -20 °C. Ikke overskrid tre frysetine-sykluser, for å unngå upålitelige resultater. Ikke frys prøver i EDTA-, ACD- eller primære serumprøvetakingsrør.

### B. Betingelser for prøveoppbevaring

#### 1. EDTA- og ACD-plasmaprøver

Primærrør som inneholder sentrifugert plasma, kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 24 timer etter prøvetaking (figur 1, øvre rute). Etter 24 timer kan plasma oppbevares i en lengre tidsperiode forutsatt at én av følgende betingelser er oppfylt (figur 1, nedre ruter):

- I det primære prøvetakingsrøret ved 2 °C til 8 °C i opptil 3 dager,
- I sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I sekundærrøret ved -20 °C til -70 °C i inntil 90 dager.

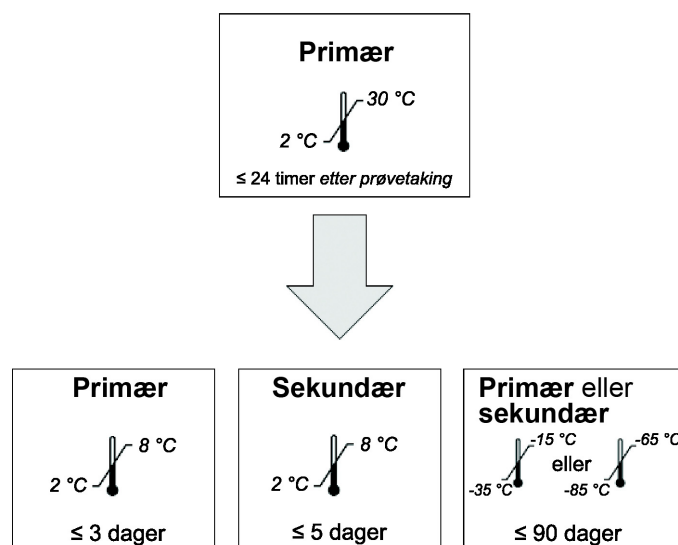


**Figur 1. Oppbevaringsforholdene til EDTA/ACD-rørene**

## 2. PPT-prøver

PPTer som inneholder sentrifugert plasma, kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 24 timer etter prøvetaking (figur 2, øvre rute). Etter 24 timer kan plasma oppbevares i en lengre tidsperiode forutsatt at én av følgende betingelser er oppfylt (figur 2, nedre ruter):

- I PPT ved 2 °C til 8 °C i opptil 3 dager,
- I sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I PPT eller sekundærrøret ved -20 °C til -70 °C i inntil 90 dager.



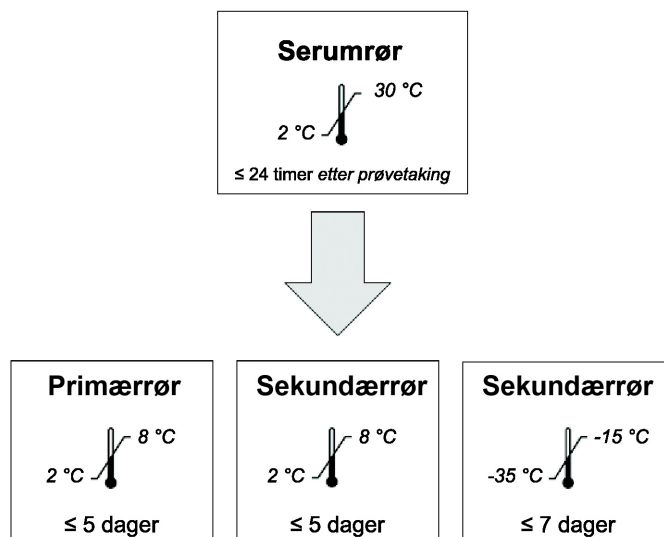
**Figur 2. Oppbevaringsbetingelser for PPTer**



### 3. Serumrørprøver

Serumrør som inneholder sentrifugert serum, kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 24 timer etter prøvetaking (figur 3, øvre rute). Etter 24 timer kan serum oppbevares i en lengre tidsperiode forutsatt at én av følgende betingelser er oppfylt (figur 3, nedre ruter):

- I serumrør ved 2 °C til 8 °C i opptil 5 dager,
- I sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I sekundærrøret ved -20 °C i inntil 7 dager.

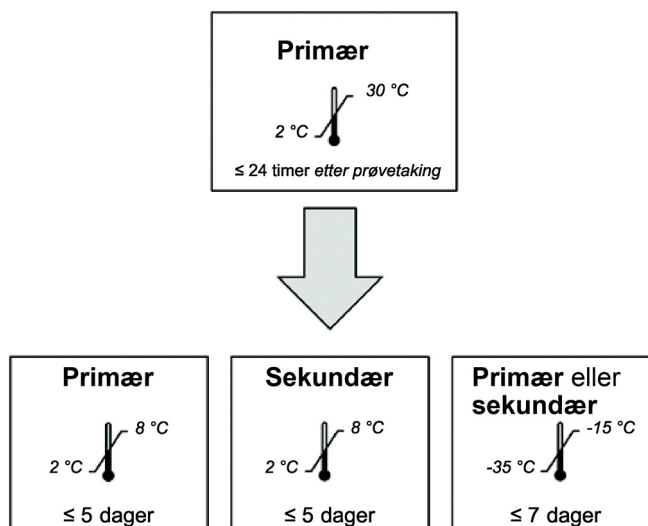


**Figur 3. Oppbevaringsbetingelser for serumrør**

### 4. SST-prøver

SSTer som inneholder sentrifugert serum, kan oppbevares ved 2 °C til 30 °C i opptil 24 timer etter prøvetaking (figur 4, øvre rute). Etter 24 timer kan serum oppbevares i en lengre tidsperiode forutsatt at én av følgende betingelser er oppfylt (figur 4, nedre ruter):

- I SST ved 2 °C til 8 °C i opptil 5 dager,
- I sekundærrøret ved 2 °C til 8 °C i inntil 5 dager, eller
- I sekundærrøret eller SST ved -20 °C i inntil 7 dager.



**Figur 4. Oppbevaringsbetingelser for SSTer**

### C. Fortynning av plasmaprøver

En plasmaprøve kan fortynnes i SAT eller sekundærrøret for å teste i Panther-systemet. Se *Testprosedyre for Panther System*, trinn E.6 nedenfor for mer informasjon.

**Merknad:** Hvis en prøve er fortynnet, må den testes umiddelbart etter fortynning. Ikke frys ned en fortynnet prøve.

⚠ Fortynning av plasmaprøver kan også brukes ved kvantitative resultater. Ikke fortynn plasmaprøver ved diagnostiske resultater.

### Prøver i Panther System

Prøver kan stå uten lokk i Panther System i til sammen 8 timer. Prøver kan fjernes fra Panther System og testes forutsatt at prøvene har vært på systemet i maksimalt 8 timer til sammen før Panther System pipetterer prøven.

### Prøvetransport

Følg betingelsene for prøveoppbevaring som er beskrevet i *Prøvetaking og oppbevaring av prøver*.

**Merknad:** Prøver må sendes i samsvar med gjeldende nasjonale, internasjonale og lokale transportforskrifter.

## Panther System

Reagenser for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er oppført under for Panther System. Identifikasjonssymbolene for reagensene er også oppført ved siden av reagensnavnet.

### Reagenser og materialer som følger med

**Merknad:** For informasjon om eventuelle fare- og sikkerhetssetninger som kan være forbundet med reagenser, se Safety Data Sheet Library (HMS-biblioteket) på [www.hologic.com/sds](http://www.hologic.com/sds).

**Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-sett**, 100 tester, kat. nr. PRD-03000 (1 assayeske, 1 kalibratorsett og 1 kontrollsett)

Flere kalibratore og kontroller kan bestilles separat. Se de aktuelle katalognumrene nedenfor.

**Eske med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay**  
(oppbevares ved 2 °C til 8 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
<b>A</b>	<b>qHIV-1 amplifikasjonsreagens</b> <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>	1 ampulle
<b>E</b>	<b>qHIV-1 enzymreagens</b> <i>Revers transkriptase og RNA-polymerase tørket i HEPES-bufret løsning.</i>	1 ampulle
<b>PRO</b>	<b>qHIV-1 promoterreagens</b> <i>Ikke-infeksiøse nukleinsyrer tørket i bufret løsning.</i>	1 ampulle
<b>AR</b>	<b>qHIV-1 amplifikasjonsrekonstitusjonsløsning</b> <i>Vandig løsning med glyserol og konserveringsmidler.</i>	1 x 7,2 ml
<b>ER</b>	<b>qHIV-1 enzymrekonstitusjonsløsning</b> <i>HEPES-bufret løsning som inneholder overflateaktivt stoff og glyserol.</i>	1 x 5,8 ml
<b>PROR</b>	<b>qHIV-1 promoterrekonstitusjonsløsning</b> <i>Vandig løsning med glyserol og konserveringsmidler.</i>	1 x 4,5 ml
<b>TCR</b>	<b>qHIV-1 målinnfangingsreagens</b> <i>Nukleinsyrer i bufret saltvannsløsning som inneholder ikke-infeksiøse, fastfase-nukleinsyrer og intern kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	<b>Rekonstitusjonskrager</b>	3
	<b>Strekcodeark for hovedparti</b>	1 ark

**Aptima HIV-1 Quant Dx-kalibratorsett** (kat. nr. PRD-03001)  
(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
<b>PCAL</b>	<b>qHIV-1 positiv kalibrator</b> <i>Transkript i bufret løsning.</i>	5 x 2,5 ml
	<b>Etikett med kalibratorstrekcode</b>	—

**Aptima HIV-1 Quant Dx-kontrollsett** (kat. nr. PRD-03002)  
(oppbevares ved -15 °C til -35 °C ved mottak)

Symbol	Komponent	Mengde
NC	<b>qHIV-1 negativ kontroll</b> <i>HIV-1-negativt, defibrinert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	<b>qHIV-1 lav positiv kontroll</b> <i>Ikke-infeksiøst, pansret HIV-1-RNA i defibrinert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	<b>qHIV-1 høy positiv kontroll</b> <i>Ikke-infeksiøst, pansret HIV-1-RNA i defibrinert humant plasma som inneholder gentamicin og 0,2 % natriumazid som konserveringsmidler.</i>	5 x 1,5 ml
	<b>Strekkodeetikett for kontroll</b>	—

### Materialer som er nødvendige, men leveres separat

**Merknad:** Materialer som er tilgjengelige fra Hologic, har katalognumre oppført med mindre noe annet er angitt.

Materiale	Katalognr.
Panther System	—
Pather System kjøresett til sanntidsassayer (kun til sanntidsassayer)	PRD-03455 (5000 tester)
<i>Aptima analysevæskesett (kalles også Universal Fluids-sett) inneholder Aptima vaskeløsning, Aptima buffer for deaktiveringsvæske og Aptima oljereagens</i>	303014 (1000 tester)
<i>Multi-rørnheter (Multi-Tube Units, MTUer)</i>	104772-02
<i>Panther avfallsposesett</i>	902731
<i>Panther deksel for avfallsbeholder</i>	504405
Eller, Pather System kjøresett <i>(når TMA-assayer som ikke kjøres i sanntid, kjøres parallelt med sanntids-TMA- assayer)</i> <i>inneholder MTUer, avfallsposer, deksel for avfallsbeholder, automatisk detektering og analysevæsker</i>	303096 (5000 tester)
Spisser, 1000 µl ledende, væskefølende	10612513 (Tecan)
Klormiddel, 5 % til 7 % (0,7 M til 1,0 M) natriumhypoklorittløsning	—
Pudderfrie engangshansker	—
Ekstra ugjennomtrengelige lokk	103036A
Ekstra reagenslokk <i>Reagenskonstitusjonsflasker med amplifikasjon, enzym og akselerator</i> <i>TCR-flaske</i>	CL0041 (100 lokk) CL0040 (100 lokk)
Laboratoriebenkeovertrekk med plastbakside	—
Lofrie kluter	—

Pipette	—
Spisser	—
Alternativer for primære prøverør (ACD, EDTA, PPT, SST, serum):	
13 mm x 100 mm	—
13 mm x 75 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Sentrifuge	—
Virvelblander	—

## Valgfrie materialer

Materiale	Katalognr.
Alternativer for sekundærrør:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
<i>Aptima alikvot prøverør (SAT-er(Specimen Aliquot Tubes)) (100 per pakke)</i>	503762
Transportrørlokk (100 per pakke)	504415
<i>lokk for SAT</i>	
Aptima prøvefortynningsløsning	PRD-03003
Aptima-prøvefortynnersett	PRD-03478
<i>inneholder prøvefortynner, 100 SAT-er og 100 hetter</i>	
Overføringspipetter	—
Kommersielt tilgjengelige paneler, for eksempel:	—
<i>HIV-1 fra Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) eller College of American Pathologists (CAP) HIV-undersøkelsespanel til virusbelastning eller SeraCare ACCURUN HIV-paneler</i>	
Prøvepensler med tupp av bomull (bomullspinne)	—
Rørvugge	—

## Testprosedyre for Panther System

**Merknad:** Se *Panther System Operator's Manual* (operatørhåndboken for Panther System) for ytterligere informasjon om prosedyrer.

### A. Klargjøring av arbeidsområdet

1. Rengjør arbeidsflater der reagenser skal prepareres. Tørk av arbeidsflater med 2,5 % til 3,5 % (0,35 M til 0,5 M) natriumhypoklorittløsning. La natriumhypoklorittløsningen være i kontakt med overflatene i minst 1 minutt, og skyll deretter med deionisert vann (DI). Pass på at ikke natriumhypoklorittløsningen tørker. Dekk benkeflaten der reagenser og prøver skal prepareres, med rene, absorberende laboratoriebenkeovertrekk med plastbakside.
2. Rengjør en egen arbeidsflate der prøver skal prepareres. Følg prosedyren som er beskrevet ovenfor (trinn A.1).
3. Rengjør eventuelle pipetter. Følg prosedyren som er beskrevet ovenfor (trinn A.1).

### B. Preparering av kalibrator og kontroller

La kalibratoren og kontrollene nå 15 °C til 30 °C før prosessering, på følgende måte:

1. Ta ut kalibratoren og kontrollene fra fryseren (-15 °C til -35 °C) og plasser dem i en temperatur på 15 °C til 30 °C. Vend hvert rør forsiktig gjennom hele tineprosessen, slik at innholdet blir skikkelig blandet. Påse at rørinholdet er helt tint før bruk.

**Alternativ.** Kalibrator- og kontrollrør kan plasseres på en rørvugge for å blande innholdet skikkelig. Påse at rørinholdet er helt tint før bruk.

**Merknad:** Sørg for at det ikke dannes for mye skum når kalibratoren og kontrollene vendes. Skum ødelegger nivåfølingen i Panther System.

2. Når rørets innhold er tint, tørkes utsiden av røret med en ren, tørr engangsklut.
3. For å hindre kontaminasjon skal rørene ikke åpnes på det nåværende tidspunkt.

### C. Reagensrekonstitusjon/preparering av et nytt sett

**Merknad:** Reagenser skal rekonstitueres før man begynner å arbeide med Panther System.

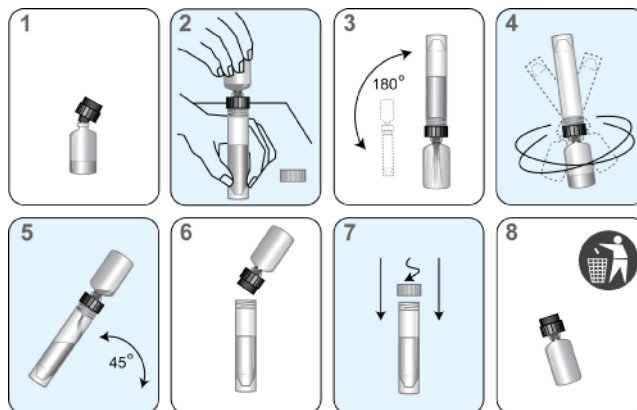
1. Preparer målinnfangingsreagens (TCR) på følgende måte:
  - a. Ta ut TCR fra kjøleskapet (2 °C til 8 °C). Sjekk partinummeret på TCR-flasken for å sikre at det samsvarer med partinummeret på strekkodearket for hovedpartiet.
  - b. Rist straks TCR-flasken kraftig ti ganger. La TCR-flasken stå ved 15 °C til 30 °C for å varmes opp i minst 45 minutter. I løpet av denne tiden skal TCR-flasken virvles og vendes minst hvert tiende minutt.

**Alternativ.** TCR-flasken kan prepareres på en rørvugge i samsvar med disse instruksjonene: Ta ut TCR fra kjøleskapet (2 °C til 8 °C) og rist den straks kraftig ti ganger. Plasser TCR-flasken i en rørvugge og la den stå ved 15 °C til 30 °C for å varmes opp i minst 45 minutter.

- c. Kontroller at all bunnfelling er oppløst og at magnetpartiklene er suspendert før bruk.

2. Gjør følgende for å rekonstituere amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser:
  - a. Ta ut lyofiliserte reagenser og tilsvarende rekonstitusjonsløsninger fra kjøleskapet (2 °C til 8 °C). Slå sammen hver rekonstitusjonsløsning med dens lyofiliserte reagens.
  - b. Kontroller at rekonstitusjonsløsningen og det lyofiliserte reagenset har samme farge på etikettene. Kontroller partinumrene på strekkodearket for hovedpartiet for å sikre at de riktige reagensene er slått sammen.
    - i. Åpne hetteglasset med lyofilisert reagens ved å fjerne metallforseglingen og gummikorken.
    - ii. Sett den skårete enden av rekonstitusjonskragen (svart) godt inn i hetteglassåpningen (figur 5, trinn 1).
    - iii. Åpne den samsvarende flasken med rekonstitusjonsløsning og plasser lokket på en ren, tildekket arbeidsflate.
    - iv. Plasser flasken med rekonstitusjonsløsning på et stabilt underlag (f.eks. en benk). Vend deretter hetteglasset med lyofilisert reagens over flasken med rekonstitusjonsløsning og fest kragen godt til flasken med rekonstitusjonsløsning (figur 5, trinn 2).
    - v. Vend sakte de sammensatte flaskene (hetteglass festet til flasken med løsning) for å la løsningen renne ned i hetteglasset (figur 5, trinn 3).
    - vi. Plukk opp de sammensatte flaskene, og virvle dem i minst ti sekunder (figur 5, trinn 4).
    - vii. Vent i minst 30 minutter til det lyofiliserte reagenset har rent ned i løsningen.
    - viii. Når det lyofiliserte reagenset har rent ned i løsningen, virvle de sammensatte flaskene i minst ti sekunder, og vipp hetteglasset med løsningen forsiktig frem og tilbake for å blande innholdet grundig.
  - c. Vipp sakte de sammensatte flaskene igjen for å la all løsning renne tilbake til flasken med rekonstitusjonsløsning (figur 5, trinn 5).
  - d. Fjern rekonstitusjonskragen og glassflasken forsiktig (figur 5, trinn 6).
  - e. Sett på igjen hetten på flasken. Noter ned initialene til operatøren og rekonstitusjonsdatoen på etiketten (figur 5, trinn 7).
  - f. Kast rekonstitusjonskragen og glassflasken forsiktig (figur 5, trinn 8).

**Advarsel:** Sørg for at det ikke dannes for mye skum ved rekonstitusjon av reagenser. Skum ødelegger nivåfølingen i Panther System.



**Figur 5. Prosess for rekonstitusjon av reagens**

## D. Preparering av tidligere preparerte reagenser

1. Ta ut de tidligere preparerte reagensene fra kjølelageringen (2 °C til 8 °C).
2. Tidligere tilberedt amplifikasjon, enzym, promoterreagenser og TCR skal nå 15 °C til 30 °C før analysen startes.
3. For tidligere preparert TCR må du utføre trinn C.1 ovenfor før de settes inn i systemet.
4. Virvle og vend om amplifikasjons-, enzym- og promoterreagenser slik at de blir grundig blandet før de settes inn i systemet. Sørg for at det ikke dannes for mye skum ved vending av reagenser.
5. Ikke etterfyll reagensflasker. Panther System vil gjenkjenne og avvise flasker som er etterfylt.

## E. Prøvehåndtering

1. Sørg for at behandlede prøver i primærrør eller ufortynnede prøver i sekundærrør er lagret korrekt i henhold til Prøvetaking og oppbevaring av prøver på side 7.
2. Sørg for at fryste prøver er skikkelig tint. Virvelbland tinte prøver i tre til fem sekunder for å blande dem grundig.
3. La prøvene nå 15 °C til 30 °C før prosessering. Se *Prøver i Panther System* for mer informasjon om prøver i systemet.
4. Sørg for at hvert primære oppsamlingsrør inneholder inntil 1200 µl prøve eller at hvert SAT inneholder minst 700 µl prøve. Se tabellen i *Prøvetaking* på side 7 for å finne krav til dødvolum for hver type primær- og sekundærrør. Hvis det er nødvendig å fortynne prøven, se trinn E.6 nedenfor for mer informasjon.
5. Like før du setter inn prøver i et prøvestativ, sentrifuger hver prøve ved 1000 til 3000g i ti minutter. Ikke ta av lokkene. Bobler i røret kan ødelegge Panther-systemets nivåføling.

Se *Klargjøring av systemet*, trinn F.2 nedenfor, for informasjon om innsetting av stativer og fjerning av lokk.

6. Fortynn en plasmaprøve 1:3 i et SAT eller 1:100 i et sekundærrør.

En plasmaprøve kan fortynnes i et sekundærrør for å teste i Panther-systemet.

- ⚠ Fortynning av plasmaprøver kan kun brukes for kvantitative resultater. Ikke fortynn plasmaprøver for diagnostiske resultater.

**Merknad:** Hvis en prøve er fortynnet, må den testes umiddelbart etter fortynning.

- a. Fortynne prøver med lite volum

Volumet til plasmaprøver kan økes til minimumsvolumet som kreves (700 µl), ved å bruke Aptima prøvefortynningsløsning. Prøver med minst 240 µl plasma kan fortynnes med to deler prøvefortynningsløsning (1:3) på følgende måte:

- i. Plasser 240 µl prøve i SAT.
- ii. Tilsett 480 µl Aptima-prøvefortynningsmiddel.
- iii. Sett lokk på røret.
- iv. Vend forsiktig fem ganger for å blande.

Prøver som er fortynnet til 1:3, kan testes ved å bruke 1:3-alternativet på Panther System (se *Panther System Operator's Manual* [operatørhåndboken for Panther System] for mer informasjon). Programvaren vil automatisk rapportere ufortynnet resultat ved å anvende fortynningsfaktoren. Slike prøver blir flagget som fortynnede prøver.



## b. Fortynne høye titeringsprøver

Hvis resultatet for en prøve er over den øvre grensen for kvantitering, kan prøven fortynnes med 99 deler Aptima prøvefortynningsløsning (1:100) på følgende måte:

- i. Legg 30 µl prøve i SAT eller et sekundærrør.
- ii. Tilsett 2970 µl Aptima-prøvefortynningsmiddel.
- iii. Sett lokk på røret.
- iv. Vend forsiktig fem ganger for å blande.

Prøver som er fortynnet 1:100, kan testes med 1:100 alternativet på Panther System (se *Operatørhåndboken for Panther System* for å finne ytterligere informasjon). Programvaren rapporterer automatisk nettoresultatet ved å bruk fortynningsfaktoren. Disse prøvene blir flagget som fortynnete prøver.

**Merknad:** Ved fortynnete prøver med rene konsentrasjoner som er større enn ULOQ, rapporteres resultatene ved bruk av vitenskapelig betegnelse.

## F. Klargjøring av systemet

1. Sett opp systemet i samsvar med instruksjonene i *Panther System Operator's Manual* (operatørhåndboken for Panther System) og *Prosedyremerknader*. Påse at det brukes reagensstativer og TCR-adaptore med riktig størrelse.
2. Sett inn prøver i prøvestativet. Utfør følgende trinn for hvert prøverør (prøve, og kalibrator og kontroller ved behov):

- a. Løsne lokket på et prøverør, men ikke ta av lokket ennå.

**Merknad:** Vær spesielt forsiktig for å unngå kontaminasjon ved spredning av aerosoler. Løsne forsiktig lokkene på prøvene.

- b. Sett inn prøverøret i prøvestativet.
- c. Gjenta trinn 2.a og 2.b for hver gjenværende prøve.
- d. Når prøvene er satt inn i prøvestativet, ta av lokkene fra prøverørene i ett prøvestativ og kast dem. Sørg for ikke å føre lokk over noen andre prøvestativer eller prøverør, for å unngå kontaminasjon.
- e. Om nødvendig brukes en ny overføringspipette til engangsbruk for å fjerne bobler eller skum.
- f. Når det siste lokket er fjernet, lastes prøvestativet inn i prøvebrønnen.

**Merknad:** Dersom andre assayer og prøvetyper kjøres samtidig, skal prøveholderen festes før prøvestativet settes inn i prøvebrønnen.

- g. Gjenta trinn 2.a til 2.f for det neste prøvestativet.

## Prosedyremerknader

### A. Kalibratorer og kontroller

1. qHIV-1 positiv kalibrator, qHIV-1 lav positiv kontroll, qHIV-1 høy positiv kontroll og qHIV-1 negative kontrollrør kan settes inn i en hvilken som helst posisjon i prøvestativet og i hvilken som helt prøveromsbane på Panther System. Prøvepipettering begynner når én av følgende to forhold er oppfylt:
  - a. Kalibratoren og kontrollene behandles av systemet i øyeblikket.
  - b. Gyldige resultater for kalibratoren og kontrollene er registrert på systemet.
2. Etter at kalibratoren og kontrollrørene er pipettert og behandles av Aptima HIV-1 Quant Dx-assayreagenssettet, kan prøvene testes med tilhørende, rekonstitutert sett i inntil 24 timer **med mindre**:
  - a. Kalibrator- eller kontrollresultatene er ugyldige.
  - b. Det tilhørende analysereagenssettet fjernes fra systemet.
  - c. Det tilhørende analysereagenssettet har overskredet stabilitetsgrensene.
3. Kalibratoren og hvert kontrollrør kan brukes én gang. Forsøk på å bruke røret mer enn én gang kan føre til behandlingsfeil.

### B. Hanskepudder

Som i alle reagenssystemer, kan for mye pudder på hanskene føre til kontaminering av åpne rør. Pudderfrie hansker anbefales.

## **Kvalitetskontroll**

Et kjørings- eller prøveresultat kan gjøres ugyldig av en operatør hvis det observeres tekniske problemer, operatørproblemer eller instrumentproblemer når assayet utføres, og hvis dette dokumenteres. I dette tilfellet må prøvene testes på nytt.

### **Assaykalibrering**

For å kunne generere gyldige resultater må det utføres en assaykalibrering. En enkel positiv kalibrator kjøres tredobbelt hver gang et reagenssett settes inn i Panther System. Etter at kalibreringen er fastslått gjelder den i inntil 24 timer. Programvaren i Panther System varsler operatøren når en kalibrering er påkrevd. Operatøren skanner en kalibreringskoeffisient fra hovedpartiets strekkodeark som følger med hvert reagenssett.

Under prosessering blir kriteriene for aksept av kalibratoren automatisk verifisert av programvaren i Panther System. Hvis færre enn to av kalibratorreplikatene er gyldige, ugyldiggjør programvaren kjøringen automatisk. Prøver i en ugyldig kjøring må testes på nytt med en nypreparert kalibrator og nypreparerte kontroller.

### **Negative og positive kontroller**

For å kunne generere gyldige resultater må et sett med assaykontroller testes. Ett replikat av den negative kontrollen, den lave positive kontrollen og den høye positive kontrollen må testes hver gang et reagenssett settes inn i Panther System. Etter at kontrollene er fastslått gjelder de i inntil 24 timer. Programvaren i Panther System varsler operatøren når kontroller er påkrevd.

Under prosessering blir kriteriene for aksept av kontrollene automatisk verifisert av programvaren i Panther System. For å generere gyldige resultater må den negative kontroll gi resultatet «Ikke detektert» og de positive kontrollene må gi resultater innen forhåndsdefinerte parametere. Hvis noen av kontrollene har et ugyldig resultat, ugyldiggjør programvaren kjøringen automatisk. Prøver i en ugyldig kjøring må testes på nytt med en nypreparert kalibrator og nypreparerte kontroller.

### **Intern kalibrator / intern kontroll**

Hver prøve inneholder en intern kalibrator / intern kontroll (IC). Under prosessering blir kriteriene for aksept av interne kontroller (IC) automatisk verifisert av programvaren i Panther System. Hvis et IC-resultat er ugyldig, blir prøveresultatet ugyldig. Hver prøve med et ugyldig resultat for interne kontroller (IC) må testes på nytt for å få et gyldig resultat.

Panther System-programvaren er utformet for å gi nøyaktige verifiseringsprosesser når prosedyrer utføres iht. instruksjonene som finnes i dette pakningsvedlegget og i *Panther System-operatørhåndboken*.

## Tolke resultatene

**Merknad:** Kvantitative resultater fra Aptima HIV-1 Quant Dx Assay er evaluert med plasma. Serum kan ikke brukes for å finne kvantitative resultater. Kvalitative resultater er evaluert med både plasma og serum.

Panther System bestemmer automatisk konsentrasjonen av HIV-1-RNA for prøver og kontroller ved å sammenligne resultatene med en kalibreringskurve. Konsentrasjonen av HIV-1-RNA rapporteres i kopier/ml og log<sub>10</sub> kopier/ml. Tolkning av resultatene finnes i tabell 1. Hvis en 1:3 eller 1:100 fortynning brukes til å fortynne prøvene, beregner Panther System automatisk HIV-1-konsentrasjonen til nettoprøven ved å multiplisere den fortynnede konsentrasjonen med fortynningsfaktoren, og de fortynnede prøvene flagges som fortynnet.

**Merknad:** Ved fortynnede prøver kan resultater som står oppført med «Ikke detektert» eller «<30 detektert» genereres ved å fortynne en prøve med en konsentrasjon ovenfor, men i nærheten av LOD (deteksjonsgrense) eller LLOQ (nedre kvantiteringsgrense). Det anbefales å ta og teste en annen ufortynnet prøve hvis man ikke får et kvantitativt resultat.

Panther System gir ikke et kvalitativt resultat (dvs. «Reaktivt» eller «Ikke-reaktivt») for diagnostisk bruk. Operatøren må tolke den rapporterte konsentrasjonen av HIV-1-RNA til et kvalitativt resultat (tabell 1). Prøver med resultater som vises som «Ikke detektert», er ikke-reaktive for HIV-1-RNA. Prøver med resultater som vises som «<30 detektert», eller prøver med resultater som vises innenfor det lineære området, tyder på at HIV-1-RNA ble detektert og at disse prøvene er reaktive for HIV-1-RNA.

Tabell 1: Tolkning av resultater

Rapportert Aptima HIV-1 Quant Dx-analyseresultat		Tolkning av konsentrasjon av HIV-1-RNA	Brukernes diagnostiske kvalitative tolkning <sup>c</sup>
Kopier/ml <sup>a</sup>	Log <sub>10</sub> -verdi <sup>b</sup>		
Ikke detektert	Ikke detektert	HIV-1-RNA ikke detektert.	Ikke-reaktivt for HIV-1-RNA
<30 detektert <sup>e</sup>	<1,47	HIV-1 RNA ble detektert, men på et nivå under LLOQ.	Reaktivt for HIV-1-RNA
30 til 10 000 000	1,47 til 7,00	Konsentrasjonen av HIV-1-RNA er innenfor det lineære området på 30 til 10 000 000 kopier/ml.	Reaktivt for HIV-1-RNA
>10 000 000	>7,00	Konsentrasjonen av HIV-1-RNA er over den øvre kvantiteringsgrensen (Upper Limit of Quantitation, ULOQ).	Reaktivt for HIV-1-RNA
Ugyldig <sup>d</sup>	Ugyldig <sup>d</sup>	Det oppsto en feil under generering av resultatet. Prøven må testes på nytt.	Ugyldig

<sup>a</sup> Konverteringsfaktoren for kopier til internasjonale enheter (International Unit, IU) for den tredje internasjonale standarden for HIV-1-RNA (10/152) er 0,35 kopier/IU.

<sup>b</sup> Verdien ble kortet ned til to desimaler.

<sup>c</sup> En diagnostisk tolkning kan utføres fra enten serum- eller plasmaprøver som ikke er fortynnet.

<sup>d</sup> Ugyldige resultater vises med blå skrift.

<sup>e</sup> Programvaren kan reagere på verdier ned til 30 kopier/ml. Høyeste LoD for assay er 17,5 kopier/ml for subtype G. Se tabell 3 for LoD-verdier for alle subtyper. LoD ved bruk av WHO's 3. internasjonale standard (subtype B) for HIV-1 RNA er 12,1 kopier/ml (se tabell 2).

**Begrensninger**

- A. Dette assayet kan bare brukes av personell som har fått opplæring i prosedyren. Dersom instruksjonene i dette pakningsvedlegget ikke følges, kan det føre til feil resultater.
- B. Pålitelige resultater er avhengig av adekvat prøvetaking, transport, oppbevaring og prosessering.
- C. Dette assayet er validert til bruk som et kvantitativt assay med kun human EDTA- og ACD-plasma.
- D. Dette assayet er validert til bruk som et kvalitativt assay med kun human EDTA- og ACD-plasma og serum.
- E. Selv om det er sjelden, kan mutasjoner innenfor de høyt konserverte regionene av virusgenomet som er dekket av primerne og/eller probene i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, føre til at det detekteres for få virus, eller manglende evne til å detektere viruset.

**Ytelse****Deteksjonsgrense (LOD) Bruke 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard**

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LOD) defineres som konsentrasjonen av HIV-1-RNA som detekteres med 95 % eller større sannsynlighet i samsvar med CLSI EP17-A2 (39). Deteksjonsgrensen (LOD) ble bestemt ved å teste paneler som besto av fortyninger av 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard (undertype B, NIBSC-kode: 10/152) i HIV-1-negativt plasma. 30 replikater av hver fortyning ble kjørt på tre Panther Systems ved bruk av tre reagenspartier på til sammen 90 replikater for hver fortyning. I henhold til CLSI EP17-A2 defineres resultatene fra reagenspartiet med høyest konsentrasjon for den forventede deteksjonsgrensen som LOD, og vises i tabell 2. Med Probit-analyse er deteksjonsgrensen (LOD) for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay 12 kopier/ml (35 IU/ml; 0,35 kopier = 1 IU).

Tabell 2: Deteksjonsgrensen for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved bruk av 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard

Forventet deteksjonsgrense	Konsentrasjon (kopier/ml)
10 %	1,2
20 %	1,6
30 %	2,0
40 %	2,5
50 %	3,1
60 %	3,8
70 %	4,8
80 %	6,2
90 %	9,0
95 %	12,1

**Deteksjonsgrense på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper**

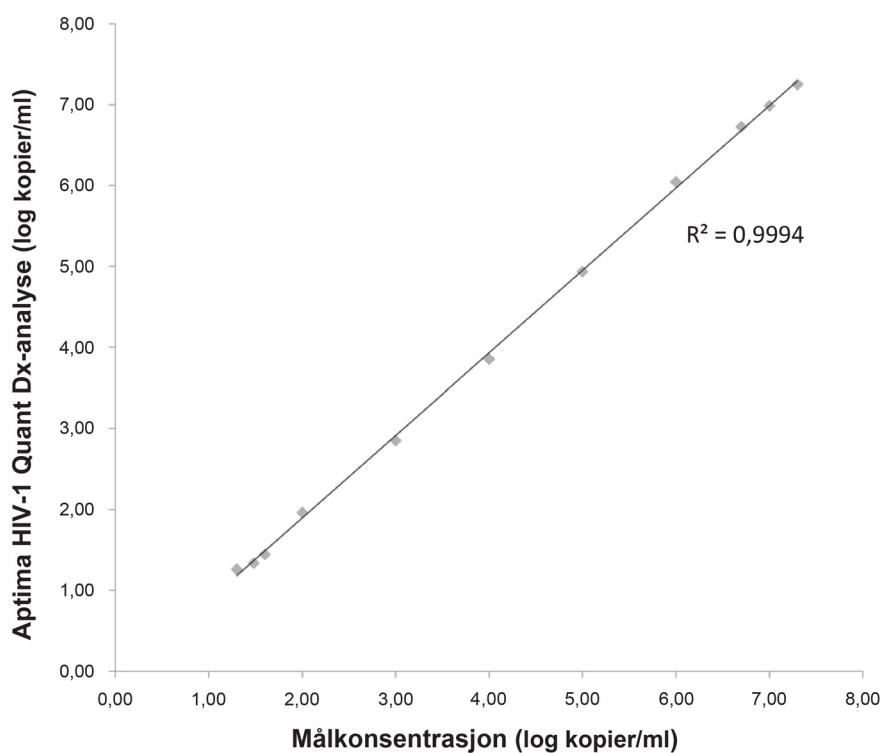
For HIV-1 gruppe M (subtype A, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) og gruppe N og O ble sju paneler opprettet ved å tilsette enten dyrkede HIV-1-virusprøver eller positive, kliniske prøver i HIV-1-negativt humant plasma (0 til 40 kopier/ml). Hver panelprøve ble testet i 30 replikater med to reagenspartier for til sammen 60 replikater per panelprøve. Konsentrasjonen for kliniske prøver eller dyrkede virusstammer ble fastslått ved å bruke et sammenligningsassay. Probit-analyse ble utført for å generere forventede deteksjonsgrenser på 50 % og 95 %. I henhold til CLSI EP17-A2 (39) defineres resultatene fra reagenspartiet med høyest konsentrasjon for den forventede deteksjonsgrensen som LOD, og vises i tabell 3.

Tabell 3: Deteksjonsgrense på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper

Subtype/gruppe	Forventet deteksjonsgrense	Konsentrasjon (kopier/ml)
<b>A</b>	50 %	3,0
	95 %	12,3
<b>CRF01_AE</b>	50 %	1,8
	95 %	6,2
<b>CRF02_AG</b>	50 %	3,4
	95 %	15,4
<b>C</b>	50 %	2,0
	95 %	10,7
<b>D</b>	50 %	3,7
	95 %	14,0
<b>F</b>	50 %	2,1
	95 %	8,3
<b>G</b>	50 %	3,1
	95 %	17,5
<b>N</b>	50 %	1,2
	95 %	7,8
<b>O</b>	50 %	1,8
	95 %	8,0

## Lineært område

Det lineære området for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ble fastslått ved å teste paneler som besto av dyrket HIV-1-virus subtype B fortynnet i HIV-1-negativt humant plasma i samsvar med CLSI EP06-A (40). Panelene hadde konsentrasjonsområder fra 1,30 til 7,30 log kopier/ml. Testingen ble utført på sju Panther Systems med to reagenspartier for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Som vist i figur 6, viste Aptima Quant Dx Assay linearitet over hele det testede området.

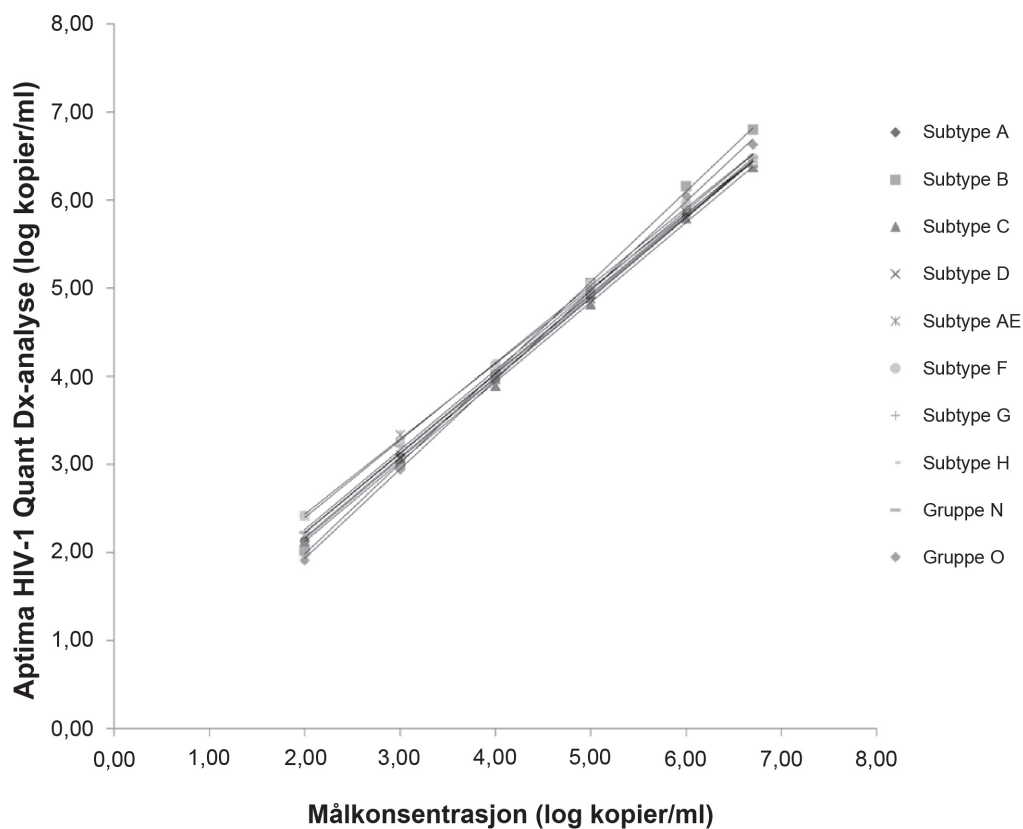


**Figur 6. Lineariteten for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay**



### Linearitet på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper

Den lineære responsen for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay i gruppe M (subtype A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) og gruppe N og O ble bekreftet ved å teste paneler som besto av HIV-1-transkript fortynnet i buffer i konsentrasjoner fra 2,00 til 6,70 log kopier/ml. Testingen ble utført med seks kjøringar på fire Panther Systems. Lineariteten ble demonstrert over hele det testede området (figur 7).



**Figur 7. Linearitet i gruppe M (subtype A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE) og gruppe N og O**

### Nedre kvantiteringsgrense Bruke 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard

Den nedre kvantiteringsgrensen (LLOQ) defineres som den laveste konsentrasjonen som gir pålitelig kvantitering av HIV-1-RNA innenfor en total feilmargen (total error, TE), i samsvar med CLSI EP17-A2 (39). TE ble beregnet ved bruk av Westgard-modellen ( $TE = |\text{bias}| + 2SD$ ). For å sikre målingenes nøyaktighet og presisjon, ble TE for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay satt til 1 log kopier/ml (dvs. at det ved LLOQ er en differanse mellom to målinger på mer enn 1 log kopier/ml statistisk signifikant).

LLOQ ble bestemt ved å teste paneler som besto av fortyninger av 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard (undertype B, NIBSC-kode: 10/152) i HIV-1-negativt plasma. I henhold til CLSI EP17-A2, ble paneler testet med tre reagenspartier i replikater på 30 for hvert parti fra 23 kjøring. Resultatene vises i tabell 4. Den høyeste LLoQ til de tre partiene som ble testet på Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved bruk av 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard, er 15 kopier/ml (1,17 log kopier/ml, 42,9 IU/ml) (tabell 5).

Tabell 4: Bestemmelse av LLOQ for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved bruk av 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard

Reagens-parti	Målkonsentrasjon (log kopier/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (log kopier/ml)	Standardavvik (SD) (log kopier/ml)	Bias  (log kopier/ml)	Beregnet TE (log kopier/ml)
1	1,15	1,05	0,37	0,10	0,84
	1,24	0,94	0,35	0,30	1,00
	1,42	1,37	0,33	0,05	0,71
	1,54	1,47	0,22	0,07	0,50
	1,94	1,98	0,13	0,04	0,30
	2,42	2,45	0,07	0,03	0,17
2	1,15	0,50	0,33	0,65	1,31
	1,24	0,80	0,44	0,45	1,33
	1,42	0,93	0,37	0,49	1,24
	1,54	1,17	0,31	0,38	0,99
	1,94	1,75	0,21	0,19	0,62
	2,42	2,28	0,21	0,14	0,55
3	1,15	0,88	0,41	0,26	1,09
	1,24	0,98	0,35	0,27	0,97
	1,42	1,15	0,34	0,27	0,96
	1,54	1,35	0,37	0,20	0,93
	1,94	1,84	0,17	0,11	0,44
	2,42	2,37	0,11	0,05	0,27

SD = standard avvik

Tabell 5: Sammendrag av LLOQ ved bruk av 3<sup>rd</sup> HIV-1 WHO International Standard (tre reagenspartier)

Reagensparti	LLOQ (log kopier/ml)	LLOQ (kopier/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

### Verifisering av LLOQ på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper

LLOQ på tvers av HIV-1-subtyper og -grupper ble verifisert i henhold til CLSI EP17-A2 (39). Panelene ble fremstilt for hver HIV-1-gruppe M (subtype A, B, C, D, F, G, CRF01\_AE, CRF02\_AG) og gruppe N og O ved å tilsette enten naturlig infiserte kliniske prøver eller kliniske isolater i sammenslått HIV-1-negativt humant plasma. Testingen besto av til sammen 30 replikater per panelprøve. Dataene i tabell 6 viser den laveste konsentrasjonen for hver subtype eller gruppe der TE var mindre enn 1 log kopier/ml. Den høyeste LLOQ for alle subtyper og grupper som ble testet, var 30 kopier/ml. Denne høyere verdien ble derfor valgt som LLOQ for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay.

Tabell 6: Verifisering av LLOQ etter HIV-1-subtype eller -gruppe

Panel	LLOQ (kopier/ml)
Subtype A	30
Subtype CRF01_AE	10
Subtype CRF02_AG	30
Subtype B	10
Subtype C	30
Subtype D	15
Subtype F	15
Subtype G	30
Gruppe N	10
Gruppe O	15

## Presisjon

Presisjonen for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ble vurdert ved å teste et panel som var fremstilt ved å tilsette dyrket HIV-1-virus subtype B i HIV-1-negativt plasma, av tre operatører som brukte tre reagenspartier på tre Panther Systems i løpet av 20 dager (tabell 7). Panelet besto av én HIV-1-negativ panelprøve og åtte HIV-1-positive panelprøver. Konsentrasjonen for kliniske prøver eller dyrkede virusstammer ble fastslått ved å bruke et sammenligningsassay.

Tabell 7: Presisjonen til Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Antall gyldige replikater	Gjennomsnittskonsentrasjon (log kopier/ml)	Inter-instrument		Inter-operatør		Inter-parti		Inter-kjøring		Intra-kjøring		Totalt	
		SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)	SD	CV (%)
137	1,80	0,00	0,00	0,03	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	0,16	8,93	0,16	9,10
157	2,37	0,00	0,00	0,05	2,08	0,01	0,36	0,08	3,33	0,15	6,19	0,17	7,34
160	2,47 <sup>a</sup>	0,00	0,00	0,03	1,37	0,03	1,35	0,07	2,97	0,12	5,03	0,15	6,15
162	2,95	0,00	0,00	0,08	2,57	0,02	0,61	0,10	3,29	0,09	3,04	0,15	5,20
162	3,80	0,01	0,32	0,03	0,80	0,02	0,48	0,06	1,49	0,07	1,80	0,10	2,53
159	4,93	0,00	0,00	0,02	0,37	0,04	0,77	0,05	1,10	0,04	0,71	0,08	1,56
162	5,69	0,00	0,00	0,02	0,27	0,04	0,66	0,03	0,58	0,07	1,29	0,09	1,58
162	6,71	0,00	0,00	0,01	0,22	0,04	0,52	0,04	0,60	0,05	0,78	0,08	1,13

CV = variasjonskoeffisient, SD = standardavvik

<sup>a</sup> Dette panelmedlemmet ble fortynt 1:3 med prøvfortynner og testet for å evaluere presisjonen til den fortynte prøven.

**Merk:** Variabiliteten fra enkelte faktorer kan være numerisk negativ, noe som kan skje hvis variabiliteten er svært liten på grunn av disse faktorene. Når dette skjer er SD = 0 og CV = 0 %. Totalt antall replikater som ble testet, var 162 for hvert panel. Kun replikater med en tallverdi ble analysert.

## Potensielt interfererende substanser

Aptima HIV-1 Quant Dx Assays følsomhet overfor interferens fra forhøyede nivåer av endogene substanser og medikamenter som ofte forskrives til HIV-1-smittede personer, ble evaluert. HIV-1 negative humane plasmaprøver og prøver tilsatt en konsentrasjon på 3 log kopier/ml HIV-1 RNA ble testet.

Det ble ikke observert noen interferens i ytelsen til Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved nærvær av albumin (90 mg/ml), hemoglobin (5 mg/ml), triglycider (30 mg/ml) eller ikke-konjugert bilirubin (0,2 mg/ml).

Det ble ikke observert noen interferens i ytelsen til Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved nærvær av de eksogene substansene som vises i tabell 8 i konsentrasjoner på minst tre ganger  $C_{max}$  (humant plasma).

Tabell 8: Eksogene substanser

Sammenslåtte eksogene substanser	Eksogene substanser som ble testet
1	Lopinavir, indinavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir mesylat, darunavir, amprenavir, atazanavir
2	Nevirapin, efavirenz, rilpivirin, klaritromycin, amfotericin B
3	Tenofovirdisoproksilfumarat, adefovir dipivoxil, ribavirin, enfuvirtid, maraviroc, raltegravir, dolutegravir
4	Abakavirsulfat, didanosin, zidovudin, lamivudin, stavudin, entecavir, telbivudin, emtricitabin
5	Paroxetin HCl, fluoxetin, sertralin
6	Ganciclovir, valacyclovir, acyclovir, rifampin/rifampicin, etambutol
7	Ciprofloxacin, azithromycin, amoksicillin, cefalexin, ampicillin, trimetoprim
8	Valganciclovir-hydroklorid, boceprevir, telaprevir, simeprevir, sofosbuvir
9	Pegylert interferonalfa -2b, interferonalfa -2a, interferonalfa -2b
10	Heparin, EDTA, natriumcitrat
11	Tipranavir
12	Isoniazid

Kliniske plasmaprøver som er oppført i tabell 9, fra pasienter med forhøyede nivåer av definerte substanser eller fra pasienter med sykdommene som er oppført, ble testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay både med og uten tilstedeværelse av 3 log kopier av HIV-1-RNA. Det ble ikke observert noen interferens med ytelsen.

Tabell 9: Typer kliniske prøver som ble testet

Typer kliniske prøver	
1	Revmatoid faktor (RF)
2	Antinukleært antistoff (ANA)
3	Anti-Jo-1-antistoff (JO-1)
4	Systemisk lupuserytematosus (SLE)
5	Revmatoid artritt (RA)
6	Multippel sklerose (MS)
7	Hyperglobulinemi
8	Forhøyede nivåer av alaninaminotransferase (ALT)
9	Alkoholisk cirrhose (AC)
10	Multiple myelomer (MM)
11	Lipemiske (forhøyede lipidverdier)
12	Ikteriske (forhøyede nivåer av bilirubin)
13	Hemolyserte (forhøyede nivåer av hemoglobin)
14	Forhøyede nivåer av proteinalbumin
15	HCV-antistoffer
16	HBV-antistoffer
17	HIV-2-antistoffer

## Spesifisitet

Spesifisiteten for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ble bestemt ved å bruke 120 ferske og 510 fryste HIV-1-negative plasmaprøver, og ved å bruke 120 ferske og 510 fryste HIV-1-negative serumprøver. Alle resultater var ikke-reaktive (spesifisitet på 100 %; 95 % konfidensintervall (KI): 99,4-100 %).

Tabell 10: Spesifisitet i plasma- og serumprøver

	Fersk plasma	Fryst plasma	Plasma totalt	Ferskt serum	Fryst serum	Serum totalt
Gyldige replikater (n)	120	510	630	120	510	630
Ikke-reaktivt	120	510	630	120	510	630
Spesifisitet (95 % KI)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)	100 % (97,0-100)	100 % (99,3-100)	100 % (99,4-100)

CI = konfidensintervall

## Analytisk spesifisitet

Potensiell kryssreaktivitet overfor patogener (tabell 11) ble evaluert i Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ved nærvær eller fravær av 3 log kopier/ml HIV-1-RNA i HIV-1-negativt plasma. Det ble ikke observert noen interferens i assayets ytelse ved nærvær av patogener.

Tabell 11: Patogener som ble testet for analytisk spesifisitet

Patogen	Konsentrasjon
Hepatitt A virus	100 000 PFU/ml <sup>a</sup>
Hepatitt B virus	100 000 IU/ml <sup>b</sup>
Hepatitt C virus	100 000 IU/ml
Hepatitt G virus	100 000 kopier/ml
Herpes Simplex Virus 1 (HSV-1)	100 000 PFU/ml
Herpes Simplex Virus 2 (HSV-2)	75 000 PFU/ml
Humant herpesvirus 6	100 000 kopier/ml
Humant herpesvirus 8	42 000 PFU/ml
HIV-2	5 500 PFU/ml
Humant T-celle lymfotropisk virus (HTLV)	100 000 vp/ml <sup>c</sup>
West Nile-virus	100 000 kopier/ml
Parvovirus B19	100 000 IU/ml
Cytomegalovirus	100 000 kopier/ml
Epstein-Barr-virus	100 000 kopier/ml
Adenovirus type 5	100 000 PFU/ml
Dengue virus	100 000 kopier/ml
Influenza A virus	100 000 PFU/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 000 000 CFU/ml <sup>d</sup>
<i>Propionibacterium acnes</i>	1 000 000 CFU/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 000 000 CFU/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 000 000 CFU/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300 000 IFU/ml <sup>e</sup>
<i>Candida albicans</i>	1 000 000 CFU/ml

<sup>a</sup> PFU/ml = plakkdannende enheter per ml.

<sup>b</sup> IU/ml = internasjonale enheter per ml.

<sup>c</sup> vp/ml = viruspartikler per ml.

<sup>d</sup> CFU/ml = kolonidannende enheter per ml.

<sup>e</sup> IFU/ml = inklusjonsdannende enheter per ml.

**Repeterbarhet for kliniske prøver**

Ti kliniske plasmaprøver ble testet i tre replikater ved bruk av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Gjennomsnittskonsentrasjonen og standardavviket vises i tabell 12.

Tabell 12: Repeterbarhet for kliniske prøver

Prøve	Gjennomsnittskonsentrasjon (log kopier/ml)	SD
1	2,57	0,06
2	3,20	0,03
3	3,24	0,06
4	3,97	0,02
5	4,20	0,05
6	4,85	0,01
7	5,17	0,04
8	5,51	0,06
9	5,84	0,02
10	6,64	0,00



## Prøvefortynning ved bruk av prøvefortynningsløsning

For å vurdere prøvefortynning, ble et panel som besto av 11 prøver med konsentrasjoner over hele det lineære området for Aptima HIV-1 Quant Dx Assay, og som besto av to prøver over den øvre kvantiteringsgrensen for assayet, testet ufortynnet og fortynnet (i forholdet 1:3 eller 1:100 i prøvefortynningsløsning) i triplikat (tabell 13).

Tabell 13: Prøvefortynning

Fortynning	Gjennomsnittlig ufortynnet konsentrasjon (log kopier/ml)	Gjennomsnittlig rapportert konsentrasjon <sup>a</sup> (log kopier/ml)	Differanse
1:3	2,57	2,72	0,15
	3,20	3,33	0,13
	3,24	3,55	0,30
	3,97	4,05	0,07
	4,20	4,24	0,04
	4,85	4,81	-0,04
	5,17	5,08	-0,08
	5,51	5,32	-0,19
	5,84	5,94	0,10
	6,64	6,66	0,02
	2,46 <sup>b</sup>	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 <sup>c</sup> )	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 <sup>c</sup> ) <sup>b</sup>	7,39	-0,01

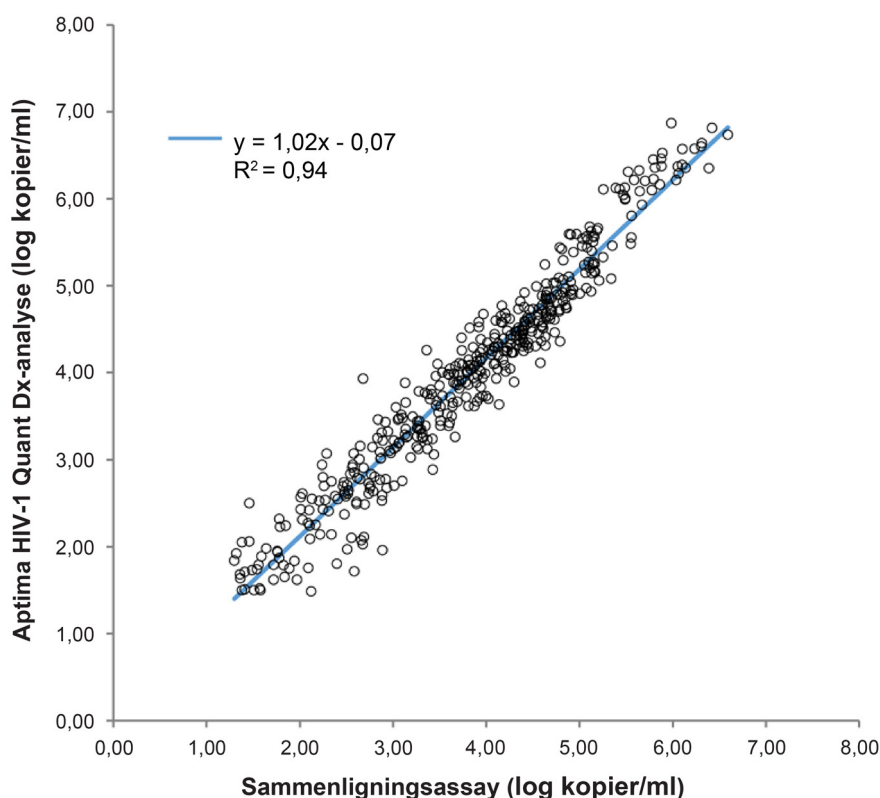
<sup>a</sup> Rapportert konsentrasjon er verdien som rapporteres av Panther-systemet etter at fortynningsfaktoren er brukt.

<sup>b</sup> Spikede prøver.

<sup>c</sup> Alle resultater >7,00 log kopier/ml ble estimert ved å bruke tilleggsanalyser.

## Metodekorrelasjon

Aptima HIV-1 Quant Dx Assays ytelse ble vurdert i forhold til et CE-merket sammenligningsassay ved å teste uforynnede kliniske plasmaprøver fra HIV-1-infiserte pasienter på fire Panther Systems med to reagenspartier. Totalt 342 fryste og 108 ferske plasmaprøver med kvantifiserbare resultater i både Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og sammenligningsassayet ble brukt til den lineære regresjonen (figur 8). Prøvene inkluderte HIV-1 gruppe M (subtype A, B, C, D, F, G, H, CRF01\_AE, CRF02\_AG).



Figur 8. Korrelasjon mellom Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og sammenligningsassayet

## Diagnostisk samsvar

For å vurdere det diagnostiske samsvaret, ble prøver fra HIV-1-positive personer testet ved bruk av Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og et CE-merket kvalitativt HIV-1 sammenligningsassay: 414 prøver viste gyldige resultater (tabell 14). Resultatene fra begge assayene ble kategorisert på følgende måte: Eventuelle resultater som gav et kvantifiserbart eller detekterbart resultat, ble kategorisert som «Detektert». Eventuelle resultater der målet ikke ble detektert, ble kategorisert som «Mål ikke detektert».

Tabell 14: Diagnostisk samsvar mellom Aptima HIV-1 Quant Dx Assay og sammenligningsassayet

		Aptima HIV-1 Quant Dx Assay	
		Detektert	Mål ikke detektert
Sammenligningsassay	Detektert	214	0
	Mål ikke detektert	0	200

## Overdragning

For å fastslå at Panther System minimerer risikoen for falskt positive resultater på grunn av overdragning, ble det utført en analytisk studie med flere kjøringar med spikede paneler på to Panther Systems. Overføringen ble vurdert med høy titer HIV-1 tilsatt prøver (7 log kopier/ml) innsatt mellom HIV-1 negative prøver i et sjakkbrettmønster. Testingen ble utført over fem kjøringar. Den samlede overdragningsraten var 0 % (n = 469).

## Serokonversjonspanel

Nitten HIV-1-serokonversjonspanelsett som besto av 204 prøver, ble testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Deteksjon av HIV-1-RNA ble sammenlignet med deteksjon med p24-antigentester og med HIV-1/2-antistofftester. Antall dager til det første reaktive resultatet ved bruk av p24-antigentester, anti-HIV 1/2-antistofftester og Aptima HIV-1 Quant Dx Assay vises i tabell 15. Aptima HIV-1 Quant Dx Assay detekterte HIV-1 RNA i gjennomsnittlig 5,58 og 11,16 dager før p24 antigen og anti-HIV 1/2 antistofftester.

Tabell 15: Datasammendrag for serokonversjonspanel

Panel-ID	Antall testede panelprøver	Antall reaktive panelprøver			Dager til første reaktive resultat			Differanse i dager før første reaktive resultat (basert på prøvetakingsdato)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti-HIV 1/2-antistoff	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV p24-antigen	Anti-HIV 1/2-antistoff	Antall dager tidligere deteksjon enn HIV p24-antigen	Antall dager tidligere deteksjon enn Anti-HIV 1/2-antistoff
6248	7	3	2	1	14	18	25	4	11
6243	10	6	3	2	18	25	32	7	14
6247	9	4	4	1	21	21	30	0	9
9016	10	3	2	0	27	30	34 <sup>a</sup>	3	7
9018	11	5	3	2	21	28	32	7	11
9020	22	5	4	1	83	87	97	4	14
9021	17	5	4	1	43	47	57	4	14
9022	9	3	2	1	23	25	32	2	9
9023	22	5	3	0	71	78	85 <sup>a</sup>	7	14
9030	16	5	3	1	40	47	54	7	14
9034	13	4	3	1	41	46	53	5	12
9089	6	5	3	2	7	16	20	9	13
12008	13	7	4	4	21	28	33	7	12
PRB962	6	4	2	0	7	14	17 <sup>a</sup>	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 <sup>a</sup>	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 <sup>b</sup>	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 <sup>b</sup>	5	3	1	0	7	14	14 <sup>a</sup>	7	7
PRB978 <sup>b</sup>	7	3	1	0	26	33	33 <sup>a</sup>	7	7
<b>Totalt</b>	<b>204</b>	<b>82</b>	<b>51</b>	<b>20</b>	<b>Gjennomsnitt</b>			<b>5,58</b>	<b>11,16</b>
					<b>Median</b>			<b>7</b>	<b>12</b>

<sup>a</sup> Alle prøver i dette panelet var ikke-reaktive for Anti-HIV 1/2-antistoff. Den siste prøvetakingsdagen ble brukt som utgangspunkt for «dager før første reaktive resultat».

Anti-HIV-1/2-antistofftesting ble utført med Abbott Anti-HIV 1/2, med følgende unntak:

<sup>b</sup> Panelene PRB974, PRB975 og PRB978 ble testet med Siemens Anti-HIV 1/2-test.

HIV-1 p24-antigentesten ble utført med Coulter HIV-1 p24 Ag, med følgende unntak:

<sup>b</sup> Panelene PRB974, PRB975 og PRB978 ble testet med BioMerieux p24 Ag-testen.

## Ekvivalensstudie med serum og plasma

For å vurdere ekvivalensen, ble matchende sett med serum- og plasmaprøver (25 HIV-1-positive og 25 HIV-1-negative), og 40 prøver som var tilsatt dyrket HIV-1 (50-1 000 000 kopier/ml i HIV-1-negativt plasma og serum) testet med Aptima HIV-1 Quant Dx Assay. Det negative samsvaret var 100,0 % (95 % KI: 97,0 %-100,0 %). Det positive samsvaret var 98,4 % (95 % KI: 95,4 %-99,5 %).

**Bibliografi**

1. **Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Dauguet, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouziuz, W. Rozenbaum, and L. Montagnier.** 1983. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* **220**:868–871.
2. **Popovic, M., M. G. Sarngadharan, E. Read, and R. C. Gallo.** 1984. Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* **224**:497–500.
3. **Gallo R. C., S. Z. Salahuddin, M. Popovic, G. M. Streater, M. Kaplan, D. F. Haynas, T. J. Palker, R. Redfield, J. Oleske, B. Safai, G. White, P. Foster, and P. D. Markham.** 1984. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* **224**:500–503.
4. **Piot, P., F. A. Plummer, F. S. Mhalu, J-L. Lamboray, J. Chin, and J. M. Mann.** 1988. AIDS: An international perspective. *Science* **239**:573–579.
5. **Sarngadharan, J. G., M. Popovic, L. Broch, J. Scupbach, and R. C. Gallo.** 1984. Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* **224**:506–508.
6. **Gallo, D., J. S. Kimpton, and P. J. Dailey.** 1987. Comparative studies on use of fresh and frozen peripheral blood lymphocyte specimens for isolation of human immunodeficiency virus and effects of cell lysis on isolation efficiency. *J. Clin. Microbiol.* **25**:1291–1294.
7. **Clavel, F., D. Guetard, F. Brun-Vezinet, S. Chamaret, M. Rey, M. O. Santos-Ferraira, A. G. Laurent, C. Dauguet, C. Katlama, C. Rouzioux, D. Klatzmann, J. L. Champalimaud, and L. Montagnier.** 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* **233**:343–346.
8. **Curran, J. W., H. W. Jaffe, A. M. Hardy, W. M. Morgan, R. M. Selik, and T. J. Dondero.** 1988. Epidemiology of HIV Infection and AIDS in the United States. *Science* **239**:610–616.
9. **Gaines, H., M. A. von Sydow, and L. V. von Stedingk.** 1990. Immunological changes in primary HIV-1 infection. *AIDS* **4**:995–999.
10. **Tindall, B., and D. A. Cooper.** 1991. Primary HIV-1 infection: host responses and intervention strategies. *AIDS* **5**:1–14.
11. **Daar, E. S., T. Moudgil, R. D. Meyer, and D. D. Ho.** 1991. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **324**:961–964.
12. **Clark, S. J., M. S. Saag, and W. D. Decker.** 1991. High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Medicine* **324**:954–960.
13. **Albert J., B. Abrahamsson, K. Nagy, E. Aurelius, H. Gaines, G. Nystrom, and E. M. Fenyo.** 1990. Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS* **4**:107–112.
14. **Horsburgh, C. R. Jr., C. Y. Ou, J. Jason, S. D. Holmberg, I. M. Longini Jr., C. Schable, K. H. Mayer, A. R. Lifson, G. Schochetman, J. W. Ward, et al.** 1989. Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet* **16**:637–640.
15. **Schnittman, S. M., M. C. Psallidopoulos, H. C. Lane, L. Thompson, M. Baseler, F. Massari, C. H. Fox, N. P. Salzman, and A. S. Fauci.** 1989. The reservoir for HIV-1 in human peripheral blood is a T cell that maintains expression of CD4. *Science* **245**:305–308. Erratum in: *Science* 1989 **245**, preceding 694.
16. **Schnittman, S. M., J. J. Greenhouse, M. C. Psallidopoulos, M. Baseler, N. P. Salzman, A. S. Fauci, and H. C. Lane.** 1990. Increasing viral burden in CD4+ T cells from patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection reflects rapidly progressive immunosuppression and clinical disease. *Ann. Intern. Med.* **113**:438–443.
17. **Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci.** 1993. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus (HIV) infection. *N. Engl. J. Med.* **328**:327–335.
18. **Piatak, M. Jr., M. S. Saag, L. C. Yang, S. J. Clark, J. C. Kappes, K. C. Luk, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and J. D. Lifson.** 1993. High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* **259**:1749–1754.
19. **Fauci, A. S., S. M. Schnittman, G. Poli, S. Koenig, and G. Pantaleo.** 1991. NIH conference: immunopathogenic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann. Intern. Med.* **114**:678–693.
20. **Coffin, J. M.** 1995. HIV-1 population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* **267**:483–489.
21. **Ho, D. D., A. U. Neumann, A. S. Perelson, W. Chen, J. M. Leonard, and M. Markowitz.** 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* **373**:123–126.
22. **Wei, X., S. K. Ghosh, M. E. Taylor, V. A. Johnson, E. A. Emini, P. Deutsch, J. D. Lifson, S. Bonhoeffer, M. A. Nowak, B. H. Hahn et al.** 1995. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* **373**:117–122.
23. **O'Brien, W. A., P. M. Hartigan, D. Martin, J. Esinhart, A. Hill, S. Benoit, M. Rubin, M. S. Simberkoff, and J. D. Hamilton.** 1996. Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4 lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. Veterans Affairs Cooperative Study Group on AIDS. *N. Engl. J. Med.* **334**:426–431.
24. **Welles, S. L., J. B. Jackson, B. Yen-Lieberman, L. Demeter, A. J. Japour, L. M. Smeaton, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, R. T. D'Aquila, P. A. Reichelderfer, D. D. Richman, R. Reichman, M. Fischl, R. Dolin, R. W. Coombs, J. O. Kahn, C. McLaren, J. Todd, S. Kwok, and C. S. Crumpacker.** 1996. Prognostic value of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I (HIV-1) RNA levels in patients with advanced HIV-1 disease and with little or no zidovudine therapy. AIDS Clinical Trials Group Protocol 116A/116B/117 Team. *J. Infect. Dis.* **174**:696–703.

25. **Coombs, R. W., S. L. Welles, C. Hooper, P. S. Reichelderfer, R. T. D'Aquila, A. J. Japour, V. A. Johnson, D. R. Kuritzkes, D. D. Richman, S. Kwok, J. Todd, J. B. Jackson, V. DeGruttola, C. S. Crumpacker, and J. Kahn.** 1996. Association of plasma Human Immunodeficiency Virus Type I RNA level with risk of clinical progression in patients with advanced infection. AIDS Clinical Trials Group (ACTG) 116B/117 Study Team. ACTG Virology Committee Resistance and HIV-1 RNA Working Groups. *J. Infect. Dis.* **174**:704–712.
26. **Hammer, S., C. Crumpacker, R. D'Aquila, B. Jackson, J. Lathey, D. Livnat, and P. Reichelderfer.** 1993. Use of virologic assays for detection of human immunodeficiency virus in clinical trials: Recommendations of the AIDS Clinical Trials Group Virology Committee. *J. Clin. Microbiol.* **31**:2557–2564.
27. **Schochetman, G., and J. R. George,** ed. 1994. *AIDS Testing: A Comprehensive Guide To Technical, Medical, Social, Legal and Management Issues*, 2<sup>nd</sup> ed. Springer-Verlag, New York.
28. **Mulder, J., N. McKinney, C. Christopherson, J. Sninsky, L. Greenfield, and S. Kwok.** 1994. Rapid and simple PCR assay for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma: application to acute retroviral infection. *J. Clin. Microbiol.* **32**:292–300.
29. **Dewar, R. L., H. C. Highbarger, M. D. Sarmiento, J. A. Todd, M. B. Vasudevachari, R. T. Davey, Jr., J. A. Kovacs, N. P. Salzman, H. C. Lane, and M. S. Urdea.** 1994. Application of branched DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J. Infect. Dis.* **170**:1172–1179.
30. **van Gemen, B., T. Kievits, R. Schukkink, D. van Strijp, L. T. Malek, R. Sooknanan, H. G. Huisman, and P. Lens.** 1993. Quantification of HIV-1 RNA in plasma using NASBA during HIV-1 primary infection. *J. Virol. Methods* **43**:177–187.
31. **Centers for Disease Control and Association of Public Health Laboratories.** 2014. Laboratory testing for the diagnosis of HIV infection: Updated recommendations.
32. **Pandori, M. W., J. Hackett Jr., B. Louie, A. Vallari, T. Dowling, S. Liska, and J. D. Klausner.** 2009. Assessment of the ability of a fourth-generation immunoassay for human immunodeficiency virus (HIV) antibody and p24 antigen to detect both acute and recent HIV infections in a high-risk setting. *J. Clin. Microbiol.* **47**:2639-2642.
33. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224-43.
34. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445-455.
35. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2005. *Collection, Transport, Preparation, and Storage of Specimens for Molecular Methods; Approved Guideline.* CLSI Document MM13-A. Wayne, PA.
36. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; current version.
37. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); current version.*
38. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
39. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2012. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
40. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2003. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.



Hologic, Inc.  
10210 Genetic Center Drive  
San Diego, CA 92121 USA

Kundestøtte: +1 800 442 9892  
customersupport@hologic.com  
Teknisk støtte: +1 888 484 4747  
molecularsupport@hologic.com

Gå til [www.hologic.com](http://www.hologic.com) for å finne mer kontaktinformasjon.



**Hologic BV**  
Da Vinci laan 5  
1930 Zaventem  
Belgium

Hologic, Aptima, Panther, og tilknyttede logoer er varemerker og/eller registrerte varemerker for Hologic, Inc. og/eller dattereselskaper i USA og/eller andre land.

Armored RNA er et varemerke for Asuragen, Inc.

Alle andre varemerker som kan finnes i dette pakningsvedlegget, eies av sine respektive eiere.

Dette produktet kan være dekket av ett eller flere patenter i USA, som identifiseres på [www.hologic.com/patents](http://www.hologic.com/patents).

© 2014-2020 Hologic, Inc. Med enerett.  
AW-11853-1801 Rev. 008  
2020-11