

Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay

Gebrauchsanweisung
Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum
Nur für US-Export

Allgemeine Informationen	3
Verwendungszweck	3
Zusammenfassung und Testerklärung	3
Verfahrensprinzipien	4
Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung	5
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	5
Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien	9
Probenentnahme und -lagerung	11
Proben im Panther System	14
Transport von Patientenproben	14
Panther System	15
Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien	15
Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien	17
Optionale Materialien	18
Testverfahren mit dem Panther System	18
Verfahrenshinweise	23
Qualitätskontrolle	24
Assay-Kalibrierung	24
Negativ- und Positivkontrollen	24
Interner Kalibrator/Interne Kontrolle	24
Interpretation der Ergebnisse	25
Einschränkungen	27
Analytische Leistung	28
Nachweisgrenze bei Verwendung des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1	28
Nachweisgrenze bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen	29
Linearer Bereich	30
Linearität bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen	31
Ermittlung der unteren Quantifizierungsgrenze mit dem 3. internationalen WHO-Standard für HIV-1	32
Verifizierung der LLoQ bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen	33
Präzision	34
Endogene und Exogene Stoffe mit möglicher beeinträchtigender Wirkung	35
Leistung mit HIV-1-negativen Patientenproben	37
Mikrobielle Kontaminanten mit möglicher beeinträchtigender Wirkung	37
Wiederholbarkeit bei klinischen Patientenproben	39
Probenverdünnung mit Probenverdünner	40
Verschleppung	40
Serokonversionspanel	41
Studie zur Serum- und Plasma-Äquivalenz	42
Reproduzierbarkeitsstudien	42

Klinische Leistungsdaten	45
Validierung der Viruslast-Quantifizierung	45
Studien zur klinischen Spezifität	46
Studien zur klinischen Sensitivität	46
Positivität bei serodiskordanten Proben	47
Literatur	48
Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll	50

Allgemeine Informationen

Verwendungszweck

Der Aptima® HIV-1 Quant Dx Assay ist ein In-vitro-Nukleinsäure-Amplifikationstest für den Nachweis und die Quantifizierung der RNA-Gruppen M, N und O des humanen Immundefizienz-Virus Typ 1 (HIV-1) auf dem vollautomatischen Panther™ System. Er ist bei Patienten zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnose einer HIV-1-Infektion zur Bestätigung dieser Infektion und als Hilfsmittel beim klinischen Management von Patienten mit HIV-1-Infektion bestimmt.

Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kann als Hilfsmittel bei der Diagnose einer HIV-1-Infektion verwendet werden, einschließlich akuter oder primärer Infektionen. Eine akute oder primäre HIV-1-Infektion ist durch die Gegenwart von HIV-1-RNA im Plasma oder Serum von Patienten ohne Antikörper gegen HIV-1 gekennzeichnet. Liefern zugelassene HIV-Immunoassays bei einer Probe wiederholt reaktive Ergebnisse, kann der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay als ergänzender Test verwendet werden. Ist das Ergebnis des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays reaktiv, gilt die HIV-1-Infektion als bestätigt.

Bei Personen mit HIV-1-Infektion kann der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay außerdem im Zusammenhang mit anderen Labormarkern und dem klinischen Bild zur Beurteilung der Erkrankungsprogression dienen. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay kann die Überwachung der Wirkung einer antiretroviralen Therapie unterstützen. Dazu werden die Änderungen der HIV-1-RNA-Konzentration im Plasma gemessen.

Soll der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay die Diagnose einer HIV-1-Infektion unterstützen, dienen Plasma- und Serumproben der Ermittlung qualitativer Ergebnisse.* Soll der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay die Überwachung einer antiretroviralen Therapie unterstützen, kommen nur Plasmaproben zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen in Frage. Serumproben dürfen nicht zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen verwendet werden.

Dieser Assay ist nicht für das Screening von Blut- oder Plasmaspendern vorgesehen.

** Mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay können auch Trockenblutproben (DBS) durchgeführt werden. Eine vollständige Beschreibung des vorgesehenen Verwendungszwecks und Angaben zu Trockenblutproben finden Sie in der DBS-Zusatzinformation zur Packungsbeilage des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays.*

Zusammenfassung und Testerklärung

In epidemiologischen Studien wurde festgestellt, dass das Humane Immundefizienz-Virus Typ 1 (HIV-1) der ätiologische Erreger des erworbenen Immundefekt-Syndroms (AIDS) ist (1-7). HIV kann durch Sexualkontakt, den Kontakt mit infiziertem Blut oder Blutprodukten oder über die Mutter-Kind-Übertragung übertragen werden (8). Infizierte Personen entwickeln gewöhnlich innerhalb von 3 bis 6 Wochen nach der HIV-Exposition ein kurzes, akutes Syndrom, das durch grippeähnliche Symptome gekennzeichnet ist und mit einer hohen Virämie im peripheren Blut in Verbindung steht (9-12). Bei den meisten infizierten Personen folgt nach dieser Phase, gewöhnlich innerhalb von 4 bis 6 Wochen nach Einsetzen der Symptome, eine HIV-spezifische Immunreaktion und eine Abnahme der Virämie im Plasma (13-14). Nach der Serokonversion gehen infizierte Personen typischerweise in eine klinisch stabile, asymptomatische Phase über, die über Jahre anhalten kann (15-17). Die asymptomatische Phase ist gekennzeichnet durch eine anhaltend niedrige Virämie im Plasma (18) und eine graduelle Depletion der CD4+ T-Lymphozyten. Diese Depletion führt zu einer schweren Immundefizienz, mehreren opportunistischen Infektionen, Malignomen und zum Tod (19). Obwohl die Konzentration der Viren im peripheren Blut während der asymptomatischen Phase der Infektion verhältnismäßig niedrig ist, scheinen die Virusvermehrung

und -beseitigung dynamische Prozesse zu sein, bei denen hohe Raten der Virusproduktion und Infektion von CD4+ Zellen durch ebenso hohe Raten der Virusbeseitigung, des Absterbens infizierter Zellen und des Nachschubs an CD4+ Zellen ausgeglichen werden, was zu einer relativ stabilen Konzentration der Virämie im Plasma sowie der CD4+ Zellen führt (20-22).

Quantitative HIV-Messungen im peripheren Blut haben gezeigt, dass höhere Viruskonzentrationen mit einem erhöhten Risiko für eine klinische Progression HIV-bedingter Erkrankungen in Verbindung gebracht werden können, und dass Abnahmen der Viruskonzentrationen im Plasma mit einem verringerten Risiko für eine klinische Progression in Verbindung gebracht werden können (23-25). Die Quantifizierung der Viruskonzentrationen im peripheren Blut kann durch die Messung des HIV-p24-Antigens im Serum, die Quantifizierung einer HIV-Kultur aus Plasma oder die direkte Messung viraler RNA im Plasma mittels Nukleinsäure- oder Signal-Amplifikationstechnologien quantifiziert werden (26-30).

Molekulare Techniken wie die transkriptionsvermittelte Amplifikation (TMA) werden häufig zur Amplifikation von Nukleinsäuren eingesetzt (31). Die TMA nutzt das spezifische Target-Capture und die isotherme Amplifikation zur Bestimmung von Nukleinsäuren bei vielen Infektionskrankheiten, einschließlich CT, NG, HPV, TV und HIV/HCV/HBV für das Testen von Blutspendern (32).

Mithilfe der TMA nutzt der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay mehrere lange Primer, die auf verschiedene Regionen des HIV-1-Genoms abzielen, um die hohe Mutationsrate von HIV-1 zu kompensieren. Der Assay umfasst Amplifikations- und Detektionssysteme für zwei Targets, die unabhängig auf zwei Regionen des HIV-1-Genoms abzielen (pol und LTR). Die Signale aus den beiden Systemen werden von der Assay-Software nicht gemittelt.

Das Aptima System für zwei Targets ist darauf ausgelegt, die Wahrscheinlichkeit für präzise Nachweise und Quantifizierungen von Proben zu erhöhen.

Verfahrensprinzipien

Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay umfasst drei Hauptschritte, die alle in einem einzigen Röhrchen auf dem Panther System stattfinden: Target Capture, Target-Amplifikation durch transkriptionsvermittelte Amplifikation (TMA) und Detektion der Amplifikationsprodukte (Amplikons) mithilfe von fluoreszenzmarkierten Sonden (Torches).

Beim Target-Capture werden virale Nukleinsäuren von den Proben isoliert. Die Patientenprobe wird mit einem Detergens behandelt, um die Virushülle zu solubilisieren, Proteine zu denaturieren und die genomische Virus-RNA freizusetzen. Capture-Oligonukleotide hybridisieren an hoch konservierte Regionen des ggf. in der Testprobe vorhandenen HIV-1-Genoms. Das hybridisierte Target wird anschließend an magnetische Mikropartikel gebunden, die dann in einem Magnetfeld von der Patientenprobe getrennt werden. Irrelevante Bestandteile werden durch Waschschriffe aus dem Reaktionsröhrchen entfernt.

Die Target-Amplifikation findet durch TMA statt, eine transkriptionsvermittelte Nukleinsäureamplifikationsmethode, bei der zwei Enzyme, die reverse Transkriptase des MMLV (Moloney murines Leukämievirus) und die T7-RNA-Polymerase zum Einsatz kommen. Die reverse Transkriptase erzeugt eine DNA-Kopie (mit einer Promotorsequenz für die T7-RNA-Polymerase) der Targetsequenz. T7-RNA-Polymerase produziert mehrere Kopien des RNA-Amplikons vom Template der DNA-Kopie. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay verwendet die TMA-Methode zur Amplifikation von zwei Regionen in der HIV-1-RNA (pol und LTR). Durch die Amplifikation jeder Region mithilfe spezieller Primer, die auf die Amplifikation der HIV-1-Gruppen M, N und O ausgelegt sind, wird ein unabhängiges Signal generiert.

Die Detektion wird erreicht, indem einzelsträngige Nukleinsäure-Sonden verwendet werden, die während der Amplifikation jedes Targets vorhanden sind und spezifisch und in Echtzeit an die Amplikons hybridisieren. Jede Sonde hat ein Fluorophor und einen Quencher. Wenn die Sonde nicht mit dem Amplikon hybridisiert, befindet sich der Quencher nahe bei dem Fluorophor und unterdrückt die Fluoreszenz. Bindet die Sonde jedoch an das Amplikon, ist der Abstand zwischen Quencher und Fluorophor größer, sodass dieses bei Anregung mit einer Lichtquelle ein Signal mit einer bestimmten Wellenlänge abgibt. Je mehr Fackeln an Amplikons hybridisieren, desto stärker ist das erzeugte Fluoreszenzsignal. Der Zeitraum, der verstreicht, bis das Fluoreszenzsignal jedes Targets einen bestimmten Schwellenwert („tTime“) erreicht hat, ist zur HIV-1-Ausgangskonzentration proportional. Jede Reaktion hat einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (Internal Control, IC) zur Überprüfung auf potenzielle Schwankungen bei der Probenbearbeitung, Amplifikation und Detektion. Anschließend wird die Konzentration einer Probe mit den tTimes-Werten für die pol- und LTR-Amplifikation von der Panther System Software berechnet. Die Panther System Software gibt durch ihren Algorithmus und den Vergleich mit gespeicherten Kalibrierungsdaten für jede Probe ein einziges, klinisch validiertes Ergebnis aus.


Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung

Die SSP (Zusammenfassung von Sicherheit und Leistung, Summary of Safety and Performance) ist in der Europäischen Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) verfügbar und dort mit den Gerätekennungen (Basis UDI-DI) verknüpft. Die SSP für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay finden sie unter der grundlegenden eindeutigen Gerätekennung (Basic Unique Device Identifier, BUDI): 54200455DIAGAPTHIV1XB

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- A. Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum.
- B. Für den professionellen Einsatz.
- C. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ist nicht für die Verwendung als Screening-Test auf das Vorhandensein von HIV-1 im Blut von Spendern bestimmt.
- D. Zur Verringerung des Risikos ungültiger Ergebnisse müssen Packungsbeilage und *Panther/Panther Fusion™ System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) vollständig durchgelesen werden, bevor dieser Assay durchgeführt wird.

Laborbezogen

- E.  **ACHTUNG:** Die Kontrollen für diesen Assay enthalten Humanplasma. In von der US-amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) zugelassenen Verfahren ist das Plasma negativ getestet auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Antikörper gegen HCV, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2 und HIV-Antigen. Das Plasma ist außerdem bei Testung mit zugelassenen Nukleinsäuretests von Probenpools nicht-reaktiv auf HCV-RNA und HIV-1-RNA. Alle aus Humanblut stammenden Materialien sind als potenziell infektiös zu betrachten und mit den allgemeinen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln (33-35).
- F. Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays und in der Handhabung potenziell infektiösen Materials entsprechend geschult sind. Bei Materialverschüttung sind die betroffenen Flächen unter Einhaltung entsprechender vor Ort gültiger Verfahren sofort zu desinfizieren.
- G. Nur die im Lieferumfang enthaltenen oder angegebenen Einweg-Laborprodukte verwenden.

- H. Die normalen Vorsichtsmaßnahmen im Labor ergreifen. Nicht mit dem Mund pipettieren. In den ausgewiesenen Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen. Ungepuderte Einweghandschuhe, Augenschutz und Laborkittel beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien tragen. Nach der Handhabung von Proben und Kitreagenzien die Hände gründlich waschen.
- I. Arbeitsflächen, Pipetten und andere Geräte müssen regelmäßig mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung dekontaminiert werden.
- J. Material, das in Kontakt mit Patientenproben und Reagenzien gelangt ist, nach den regionalen Vorschriften entsorgen (33-36). Alle Arbeitsflächen gründlich reinigen und desinfizieren.
- K. Die Kontrollen enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Für den Reagenzientransfer keine Metallröhrchen verwenden. Wenn Lösungen mit Natriumazidverbindungen in ein Rohrsystem entsorgt werden, sind sie zu verdünnen und mit reichlich fließendem Leitungswasser hinunterzuspülen. Diese Vorsichtsmaßnahmen werden empfohlen, um Ablagerungen in Metall-Abflussrohren zu vermeiden, die eine Explosionsgefahr bilden können.
- L. Zu der guten Standardpraxis für Molekularbiologie-Laboratorien gehört auch die Überwachung der Laborumgebung. Zur Überwachung der Laborumgebung wird folgende Vorgehensweise empfohlen.
 - 1. Einen Tupfer mit Wattespitze und ein Aptima® Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tube, SAT) bereitlegen.
 - 2. Jedes SAT entsprechend beschriften.
 - 3. Jedes SAT mit 1 ml Aptima® Probenverdünner füllen.
 - 4. Zur Erfassung der Oberflächenproben einen Tupfer leicht mit nukleasefreiem entionisiertem Wasser befeuchten.
 - 5. Den Probenentnahmetupfer auf der betreffenden Oberfläche in einer vertikalen Bewegung von oben nach unten führen. Während der Probengewinnung den Probenentnahmetupfer etwa eine halbe Drehung drehen.
 - 6. Die Tupferprobe sofort in das Röhrchen geben und im Verdünner vorsichtig schwenken, um möglicherweise auf dem Tupfer vorhandenes Material zu extrahieren. Den Tupfer an der Seite des Transportröhrchens ausdrücken, um so viel Flüssigkeit wie möglich zu extrahieren. Den Tupfer entsorgen und das Röhrchen mit der Kappe verschließen.
 - 7. Die Schritte mit den verbleibenden Tupferproben wiederholen.
 - 8. Die Tupferprobe mit dem molekularen Assay testen.

Probenbezogen

- M. Patientenproben können infektiös sein. Bei der Durchführung dieses Assay sind die allgemein gültigen Vorsichtsmaßnahmen (33-35) zu befolgen. Entsprechend den vor Ort geltenden Bestimmungen sind angemessene Handhabungs- und Entsorgungsmethoden festzulegen (36). Dieses Verfahren sollte nur von Personen durchgeführt werden, die in der Anwendung des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays und in der Handhabung infektiösen Materials entsprechend geschult sind.
- N. Um die Probenintegrität zu wahren, müssen während des Probenversands die ordnungsgemäßen Lagerungsbedingungen aufrechterhalten werden. Die Probenstabilität unter anderen Versandbedingungen als den hier empfohlenen wurde nicht untersucht.




- O. Kreuzkontamination während der Probenhandhabungsschritte vermeiden. Insbesondere ist darauf zu achten, beim Lösen oder Entfernen von Kappen von Patientenproben eine Kontamination durch Verbreitung von Aerosolen zu vermeiden. Die Proben können sehr hohe Konzentrationen von Organismen aufweisen. Es ist sicherzustellen, dass die Probenbehälter nicht miteinander in Berührung kommen. Benutzte Materialien dürfen nicht über offene Behälter hinweg entsorgt werden. Die Handschuhe wechseln, wenn diese mit Proben in Kontakt kommen.

Assaybezogen

- P. Die quantitativen Ergebnisse des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurden mit Plasma evaluiert. Serum darf nicht zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen verwendet werden. Qualitative Ergebnisse wurden mit Plasma und Serum evaluiert. Die Verwendung dieses Test-Kits mit anderen Patientenproben als den für die Verwendung mit diesem Test spezifisch empfohlenen Patientenproben kann zu ungenauen Testergebnissen führen.
- Q. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay wurde mit dem Algorithmus der Panther System Software klinisch validiert. Das zu meldende validierte Ergebnis wird von der Panther System Software auf dem Bildschirm „Ergebnisse“ und im Ergebnisbericht bereitgestellt.
- R. Das Reagenzien-Kit, den Kalibrator oder die Kontrollen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- S. Assay-Reagenzien aus Kits mit verschiedenen Hauptchargennummern nicht austauschen, vermischen oder kombinieren. Assay-Flüssigkeiten dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen. Kontrollen und Kalibratoren dürfen verschiedene Chargennummern aufweisen.
- T. Eine Kontamination der Reagenzien mit Mikroben oder Nuklease ist zu vermeiden.
- U. Alle Assay-Reagenzien verschließen und bei den angegebenen Temperaturen lagern. Die Assay-Leistung kann durch Verwendung von falsch gelagerten Assay-Reagenzien beeinträchtigt werden. Siehe *Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien* und *Optionale Materialien* für weitere Informationen.
- V. Assay-Reagenzien oder Flüssigkeiten nur auf ausdrückliche Anweisung miteinander kombinieren. Reagenzien und Flüssigkeiten nicht nachfüllen. Das Panther System überprüft die Reagenzien-Füllstände.
- W. Einige Reagenzien in diesem Kit sind mit Gefahrenhinweisen versehen.

Hinweis: Die Gefahrenkommunikation spiegelt die Einstufung der EU Sicherheitsdatenblätter (SDS) wider. Informationen zu spezifischen Gefahrenhinweisen für Ihre Region sind im regionsspezifischen SDS in der Sicherheitsdatenblatt-Sammlung unter www.hologicsds.com zu finden. Weitere Informationen zu anderen Symbolen finden Sie in der Symbollegende auf www.hologic.com/package-inserts.

Gefahreninformationen für Europa	
—	Amplification Reagent Magnesiumchlorid 60–65 % — H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

—	Enzyme Reagent HEPES 1–5 % Triton X-100 1–5 % — H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
—	Enzyme Reconstitution Reagent Glycerin 20–25 % Triton X-100 5–10 % HEPES 1–5 % — H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
—	Promoter Reagent Magnesiumchlorid 60–65 % — H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
—	Target Capture Reagent HEPES 15–20 % Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10 % Lithiumhydroxid-Monohydrat 1–5 % Bernsteinsäure 1–5 % — H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.
  	HIV VL Kit Controls Humanserum/Humanplasma 95–100 % Natriumazid <1 % GEFAHR H300 - Lebensgefahr bei Verschlucken. H410 - Sehr giftig für Wasserorganismen mit langfristiger Wirkung. P264 - Nach Gebrauch Gesicht, Hände und exponierte Haut gründlich waschen. P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P301 + P310 - BEI VERSCHLUCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. P321 - Besondere Behandlung (siehe ergänzende Anweisungen zur Ersten Hilfe auf diesem Kennzeichnungsetikett). P330 - Mund ausspülen. P391 - Verschüttete Mengen aufnehmen.

HIV VL Kit Calibrators**4-(2-Hydroxyethyl)piprazin-1-ylethansulfonsäure 15–20 %****Lauryl Sulfate Lithium Salt 5–10 %****Lithiumhydroxid-Monohydrat 1–5 %****Bernsteinsäure 1–5 %**

H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.

P273 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden.


P501 - Inhalt/Behälter einer zugelassenen Einrichtung zur Abfallentsorgung zuführen.

Lagerungs- und Handhabungsbedingungen für Reagenzien

- A. Die folgende Tabelle zeigt die Lagerungsbedingungen und die Stabilität der Reagenzien, der Kontrollen und des Kalibrators.

Reagenz	Lagerung im ungeöffneten Zustand	Offenes Kit (rekonstituiert)	
		Lagerung	Stabilität
qHIV-1-Amplifikationsreagenz	2 °C bis 8 °C		
qHIV-1-Amplifikationsrekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qHIV-1-Enzymreagenz	2 °C bis 8 °C		
qHIV-1-Enzymrekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qHIV-1-Promotorreagenz	2 °C bis 8 °C		
qHIV-1-Promotorrekonstitutionslösung	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qHIV-1-Target Capture-Reagenz	2 °C bis 8 °C	2 °C bis 8 °C	30 Tage ^a
qHIV-1 NC CONTROL – (Negative Kontrolle)	–15 °C bis –35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 20 Stunden verwenden
qHIV-1 LPC CONTROL + (Schwach positive Kontrolle)	–15 °C bis –35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 20 Stunden verwenden
qHIV-1 HPC CONTROL + (Stark positive Kontrolle)	–15 °C bis –35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 20 Stunden verwenden
qHIV-1-PCAL (Positivkalibrator)	–15 °C bis –35 °C	15 °C bis 30 °C	Fläschchen für den Einmalgebrauch Innerhalb von 20 Stunden verwenden

^a Wenn Reagenzien aus dem Panther System genommen werden, sind sie sofort wieder bei ihren jeweiligen Lagerungstemperaturen aufzubewahren.

- B. Alle unbenutzten rekonstituierten Reagenzien und das Target Capture-Reagenz (Target Capture Reagent, TCR) nach 30 Tagen oder nach Ablauf des Verfallsdatums der Hauptcharge (das frühere Datum ist ausschlaggebend) entsorgen.
- C. Im Panther System gelagerte Reagenzien sind im Gerät 72 Stunden stabil. Reagenzien können bis zu 8 Mal auf das Panther System geladen werden. Das Laden von Reagenzien wird jedes Mal im Panther System-Protokoll vermerkt.
- D. Nach dem Auftauen des Kalibrators muss die Lösung klar sein, d. h., keine Trübungen oder Präzipitate aufweisen.
- E.  Das Promotorreagenz und das rekonstituierte Promotorreagenz sind lichtempfindlich. Diese Reagenzien sind lichtgeschützt zu lagern und für die Anwendung vorzubereiten.

Probenentnahme und -lagerung

Hinweis: Alle Patientenproben sind als potenziell infektiös zu handhaben. Es sind allgemeine Vorsichtsmaßnahmen zu treffen.

Hinweis: Achten Sie bei den Schritten, die eine Handhabung von Proben erfordern, darauf, eine Kreuzkontamination zu vermeiden. Benutztes Material ist beispielsweise so zu entsorgen, dass es nicht über geöffnete Röhrchen geführt wird.

Hinweis: Nur sekundäre Röhrchen aus Plastik werden für die Lagerung empfohlen.

Es können in die folgenden Glas- oder Kunststoffröhrchen entnommene Vollblutproben verwendet werden:

Für quantitative Messungen:

- Röhrchen, die EDTA oder Acid-Citrate-Dextrose (ACD)-Antikoagulanzen enthalten, oder
- Plasmapräparationsröhrchen (PPTs).

Für die qualitative Bestimmung:

- Röhrchen mit EDTA oder ACD-Antikoagulanzen oder
- PPTs oder
- Serumröhrchen oder
- Serumentrennröhrchen (SSTs).

Bei Serum ist vor der Weiterverarbeitung die Koagelbildung abzuwarten.

A. Probenentnahme

Vollblut kann bei 2 °C bis 30 °C gelagert werden und ist innerhalb von 24 Stunden nach der Probenentnahme zu zentrifugieren. Plasma oder Serum unter Einhaltung der Herstelleranweisungen für das jeweils verwendete Röhrchen vom Erythrozytenpellet trennen. Plasma oder Serum kann in einem primären Röhrchen auf dem Panther System getestet oder in ein sekundäres Röhrchen überführt werden. Um 500 µl Reaktionsvolumen zu erhalten, beträgt das Serum- oder Plasmamindestvolumen für primäre Entnahmeröhrchen bis zu 1200 µl; für sekundäre Röhrchen beträgt das Mindestvolumen 700 µl. In der folgenden Tabelle sind die Anforderungen an das Totvolumen für jeden primären und sekundären Röhrchentyp angegeben:

Röhrchen (Größe und Typ)	Totvolumen auf dem Panther System
Aptima Probenaliquotröhrchen (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 mit Gel	0,3 ml
16 x 100 mm mit Gel	0,7 ml

Wird der Test nicht sofort durchgeführt, können Plasma und Serum gemäß den nachstehenden Spezifikationen gelagert werden. In ein sekundäres Röhrchen überführtes Plasma kann bei -20 °C oder -70 °C eingefroren werden. Serum kann bei -20 °C eingefroren werden. Die Proben sollten höchstens dreimal eingefroren und wieder aufgetaut werden, um eine Beeinträchtigung des Ergebnisses zu vermeiden. Patientenproben nicht in Edetinsäure-, ACD- oder primären Serumentnahmeröhrchen einfrieren.

B. Bedingungen für die Lagerung von Patientenproben

1. Edetinsäure- und ACD-Plasmaproben

Die primären Entnahmeröhrchen mit zentrifugiertem Plasma können nach der Probenentnahme für bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 30 °C aufbewahrt werden (Abbildung 1, oberer Kasten). Nach 24 Stunden kann Plasma unter einer der folgenden Bedingungen für einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden (Abbildung 1, untere Kästen):

- Im primären Entnahmeröhrchen bis zu 3 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C,
- im sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- im sekundären Röhrchen bis zu 90 Tage lang bei -20 °C oder -70 °C.

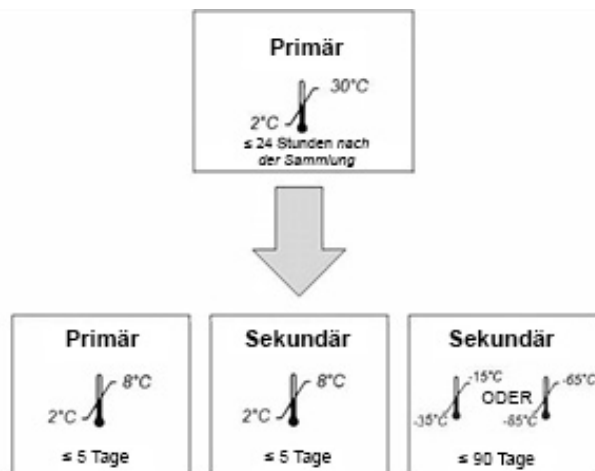


Abb. 1. Bedingungen für die Lagerung von Edetinsäure-/ACD-Röhrchen

2. PPT-Patientenproben

PPTs mit zentrifugiertem Plasma können nach der Probenentnahme für bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 30 °C aufbewahrt werden (Abbildung 2, oberer Kasten). Nach 24 Stunden kann Plasma unter einer der folgenden Bedingungen für einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden (Abbildung 2, untere Kästen):

- Im PPT bis zu 3 Tage lang bei 2 °C bis 8°C,
- im sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- im PPT oder sekundären Röhrchen bis zu 90 Tage lang bei -20 °C bis -70 °C.

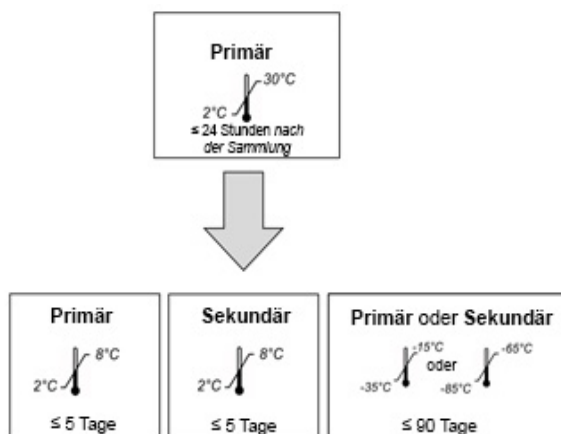


Abb. 2. Bedingungen für die Lagerung von PPTs

3. Patientenproben in Serumröhrchen

Die Serumröhrchen mit zentrifugiertem Serum können nach der Probenentnahme für bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 30 °C aufbewahrt werden (Abbildung 3, oberer Kasten). Nach 24 Stunden kann Serum unter einer der folgenden Bedingungen für einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden (Abbildung 3, untere Kästen):

- Im Serumröhrchen bis zu 5 Tage bei -2 °C bis -8 °C,
- im sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- im sekundären Röhrchen bis zu 90 Tage lang bei -20 °C.

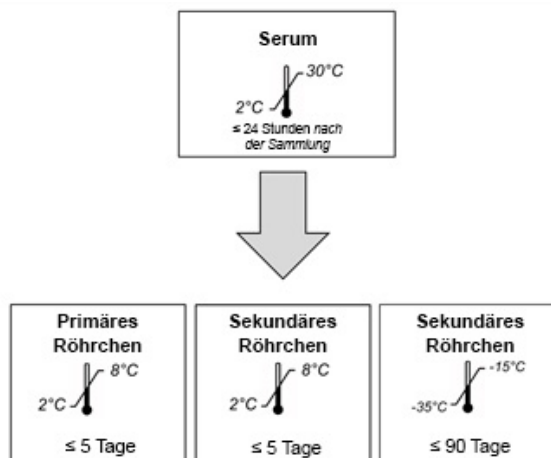


Abb. 3. Bedingungen für die Lagerung von Serumröhrchen

4. SST-Patientenproben

Die SSTs mit zentrifugiertem Serum können nach der Probenentnahme für bis zu 24 Stunden bei 2 °C bis 30 °C aufbewahrt werden (Abbildung 4, oberer Kasten). Nach 24 Stunden kann Serum unter einer der folgenden Bedingungen für einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden (Abbildung 4, untere Kästen):

- Im SST bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- im sekundären Röhrchen bis zu 5 Tage lang bei 2 °C bis 8 °C oder
- im sekundären Röhrchen bis zu 90 Tage lang bei -20 °C.

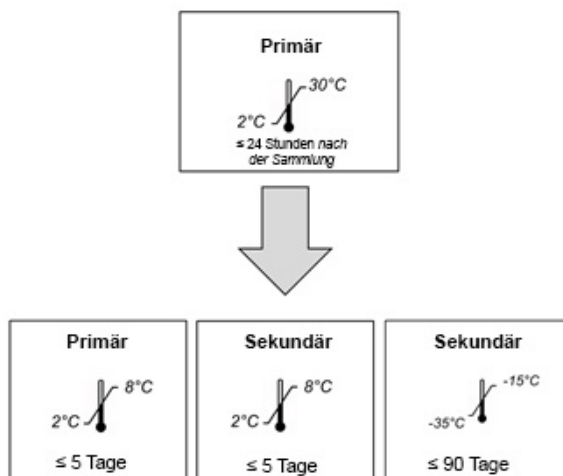


Abb. 4. Bedingungen für die Lagerung von SSTs

C. Verdünnung von Plasmaproben

Hinweis: Eine Plasmaprobe kann für die Analyse auf dem Panther System im SAT oder sekundären Röhrchen verdünnt werden. Für weitere Informationen siehe Testverfahren mit dem Panther System, Schritt E.4.

Hinweis: Wenn eine Patientenprobe verdünnt wird, sollte sie sofort nach der Verdünnung analysiert werden. Eine verdünnte Patientenprobe nicht einfrieren.



Hinweis: Eine Verdünnung von Plasmaproben darf nur für quantitative Ergebnisse angewendet werden. Für diagnostische Ergebnisse dürfen Plasmaproben nicht verdünnt werden.

Proben im Panther System

Proben können bis zu 8 Stunden lang unverschlossen im Panther System aufbewahrt werden. Solange die Gesamtverweildauer auf dem System vor dem Pipettieren der Probe durch das Panther System 8 Stunden nicht übersteigt, können die Proben wieder aus dem Panther System genommen und getestet werden.

Transport von Patientenproben

Die unter *Probenentnahme und -lagerung* beschriebenen Lagerbedingungen für Proben müssen eingehalten werden.

Hinweis: Ein Versand der Patientenproben muss in Übereinstimmung mit geltenden nationalen, internationalen und regionalen Frachtbestimmungen erfolgen.

Panther System

Nachstehend sind die Reagenzien für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay für das Panther System gelistet. Die Symbole zur Identifikation der Reagenzien sind neben dem Reagenznamen angegeben.

Im Lieferumfang enthaltene Reagenzien und Materialien

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-Kit

100 Tests (1 Assay-Kit, 1 Kalibrator-Kit und 1 Kontrollen-Kit) (Kat. Nr. PRD-03000)

Weitere Kalibratoren und Kontrollen können separat bestellt werden. Siehe die entsprechenden Katalognummern unten.

Aptima HIV-1 Quant Dx Assay-Kit

(Lagerung bei 2 °C bis 8 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
A	qHIV-1-Amplifikationsreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in gepufferter Lösung.</i>	1 Fläschchen
E	qHIV-1-Enzymreagenz <i>Reverse Transkriptase und RNA-Polymerase, getrocknet, in HEPES-gepufferter Lösung.</i>	1 Fläschchen
PRO	qHIV-1-Promotorreagenz <i>Nicht-infektiöse Nukleinsäuren, getrocknet, in gepufferter Lösung.</i>	1 Fläschchen
AR	qHIV-1-Amplifikationsrekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Glycerin und Konservierungsmitteln.</i>	1 x 7,2 ml
ER	qHIV-1-Enzymrekonstitutionslösung <i>HEPES-gepufferte Lösung mit oberflächenaktiver Substanz und Glycerin.</i>	1 x 5,8 ml
PROR	qHIV-1-Promotorrekonstitutionslösung <i>Wässrige Lösung mit Glycerin und Konservierungsmitteln.</i>	1 x 4,5 ml
TCR	qHIV-1-Target-Capture-Reagenz <i>Nukleinsäuren in einer gepufferten Salzlösung mit nicht-infektiösen Nukleinsäuren in der Festphase und einem internen Kalibrator.</i>	1 x 72,0 ml
	Rekonstitutionsverbindungsstücke	3
	Barcode-Blatt für Hauptcharge	1 Blatt

Aptima HIV-1 Quant Dx-Kalibrator-Kit (Kat. Nr. PRD-03001)

(Lagerung bei –15 °C bis –35 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
PCAL	qHIV-1-Positivkalibrator <i>Transkript in gepufferter Lösung.</i>	5 x 2,5 ml
	Barcode-Etikett des Kalibrators	—

Aptima HIV-1 Quant Dx-Kontrollen-Kit (Kat. Nr. PRD-03002)

(Lagerung bei –15 °C bis –35 °C nach Empfang)

Symbol	Komponente	Menge
NC	qHIV-1-Negativkontrolle <i>HIV-1-negatives defibriniertes Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.</i>	5 x 1,5 ml
LPC	qHIV-1 Schwach positive Kontrolle <i>Nicht-infektiöse HIV-1-Armored RNA in defibriniertem Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.</i>	5 x 1,5 ml
HPC	qHIV-1 Stark positive Kontrolle <i>Nicht-infektiöse HIV-1-Armored RNA in defibriniertem Humanplasma mit Gentamicin und 0,2 % Natriumazid als Konservierungsmittel.</i>	5 x 1,5 ml
	Barcode-Etikett der Kontrolle	—

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Hinweis: Die von Hologic erhältlichen Materialien sind mit der Katalognummer aufgeführt, sofern nicht anders angegeben.

Material	Kat. Nr.
Panther System	303095
Panther Fusion System	PRD-04172
Panther System Continuous Fluids and Waste (Panther Plus)	PRD-06067
Aptima® HIV-1 Quant Dx Kalibrator-Kit	PRD-03001
Aptima® HIV-1 Quant Dx Kontrollen-Kit	PRD-03002
Panther™ Durchlaufkit für Echtzeitassays (nur für Echtzeitassays)	PRD-03455 (5000 Tests)
Aptima® Assay-Flüssigkeitskit (auch als Universalflüssigkeitskit bezeichnet) <i>enthält Aptima® Waschlösung, Aptima® Puffer für Deaktivierungsflüssigkeit und Aptima® Ölreagenz</i>	303014 (1000 Tests)
<i>Multi-Röhrchen-Einheiten (MTU)</i>	104772-02
<i>Panther™ Entsorgungsbeutel-Kit</i>	902731
<i>Panther™ Abfallabdeckung</i>	504405
Oder Panther™ System-Durchlaufkit <i>(wenn Nicht-Echtzeit-TMA-Assays parallel zu Echtzeit-TMA-Assays durchgeführt werden) enthält MTUs, Abfallbeutel, Abfallbehälterabdeckungen, Auto-Detektions- und Assay-Flüssigkeiten</i>	303096 (5000 Tests)
Spitzen, 1000 µl, gefiltert, leitfähig, zur Flüssigkeitsstandmessung und Einwegmaterial <i>Nicht alle Produkte sind in allen Regionen verfügbar. Wenden Sie sich an Ihren Vertreter, um regionsspezifische Informationen zu erhalten</i>	901121 (10612513 Tecan) 903031 (10612513 Tecan) MME-04134 (30180117 Tecan) MME-04128
Chlorbleiche, 5% bis 8,25% (0,7 M bis 1,16 M) Natriumhypochloritlösung	—
Ungepuderte Einweghandschuhe	—
Ersatzkappen für Reagenzien <i>Rekonstitutionsflaschen für Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenz TCR-Flasche</i>	CL0041 (100 Kappen) CL0040 (100 Kappen)
Labortischunterlagen mit Kunststoffrückseite	—
Fusselfreie Tücher	—
Pipette	—
Spitzen	—
Optionen für primäre Entnahmeröhrchen (EDTA, ACD, PPT, SST, Serum): 13 mm x 100 mm 13 mm x 75 mm 16 mm x 100 mm	— — —
Zentrifuge	—
Vortexmischer	—

Optionale Materialien

Material	Kat. Nr.
Optionen für sekundäre Röhrchen:	
12 mm x 75 mm	—
13 mm x 100 mm	—
16 mm x 100 mm	—
Aptima Probenaliquotröhrchen (Specimen Aliquot Tubes, SAT) (100 St.)	FAB-18184
Kappe für Transportröhrchen (100 St.)	504415
Kappe für SAT	
Aptima Probenverdünner	PRD-03003
Aptima Probenverdünner-Kit	PRD-03478
enthält Probenverdünner, 100 SATs und 100 Kappen	
Transferpipetten	—
Handelsübliche Panels, z. B:	—
HIV-1 von Quality Control for Molecular Diagnostics (QCMD) oder	
Panel des College of American Pathologists (CAP) zur Erhebung	
der HIV-Viruslast oder	
SeraCare ACCURUN HIV-Panels	
Wattestäbchen	—
Wippschüttler für Röhrchen	PRD-03488

Testverfahren mit dem Panther System

Hinweis: Nähere Verfahrensinformationen finden Sie im Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System).

A. Vorbereitung des Arbeitsbereichs

1. Die Arbeitsflächen reinigen, auf denen die Reagenzien vorbereitet werden.
Wischen Sie die Arbeitsflächen mit einer 2,5%igen bis 3,5%igen (0,35 M bis 0,5 M) Natriumhypochloritlösung ab. Die Natriumhypochloritlösung mindestens 1 Minute auf den Flächen einwirken lassen und diese Flächen anschließend mit entionisiertem Wasser abspülen. Die Natriumhypochloritlösung darf nicht antrocknen. Decken Sie die Arbeitsfläche, auf der die Reagenzien und Proben vorbereitet werden, mit sauberen, absorbierenden Labortischunterlagen mit Kunststoffunterschicht ab.
2. Eine separate Arbeitsfläche, auf der die Proben vorbereitet werden, reinigen.
Wie vorstehend (Schritt A.1) beschrieben vorgehen.
3. Alle Pipetten reinigen. Wie vorstehend (Schritt A.1) beschrieben vorgehen.

B. Vorbereitung von Kalibrator und Kontrollen

Lassen Sie den Kalibrator und die Kontrollen vor der Verarbeitung eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C annehmen, indem Sie folgenderweise vorgehen:

1. Nehmen Sie den Kalibrator und die Kontrollen aus der Lagerung (-15 °C bis -35 °C) und bringen Sie sie auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C. Drehen Sie jedes Röhrchen während des gesamten Auftauprozesses behutsam um, um den Inhalt gründlich zu mischen. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Option. Die Röhrchen mit dem Kalibrator und den Kontrollen können auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung platziert werden, um ihren Inhalt gründlich zu mischen. Darauf achten, dass der Röhrcheninhalt vor dem Gebrauch vollständig aufgetaut ist.

Hinweis: Beim Umdrehen des Kalibrators und der Kontrollen ist starke Schaumbildung zu vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

2. Wenn der Röhrcheninhalt aufgetaut ist, trocknen Sie das Röhrchen außen mit einem sauberen, trockenen Einwegtuch ab.
3. Zur Verhinderung einer Kontamination sollten Sie die Röhrchen zu diesem Zeitpunkt nicht öffnen.

C. Reagenzrekonstitution/Vorbereitung eines neuen Kits

Hinweis: Die Reagenzrekonstitution sollte vor Beginn von Arbeiten mit dem Panther System durchgeführt werden.

1. Für die Vorbereitung von Target Capture-Reagenz (TCR) wie folgt vorgehen:
 - a. Nehmen Sie das TCR aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Überprüfen Sie die Chargennummer auf der TCR-Flasche, um sicherzustellen, dass sie mit der Chargennummer auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt übereinstimmt.
 - b. Schütteln Sie die TCR-Flasche sofort kräftig 10 Mal. Lassen Sie die TCR-Flasche mindestens 45 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen. Während dieser Zeit sollten Sie das TCR-Fläschchen mindestens alle 10 Minuten schwenken und umdrehen.

Option. Das TCR-Fläschchen kann auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung folgenderweise vorbereitet werden: Nehmen Sie das TCR aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C) und schütteln Sie es sofort kräftig 10 Mal. Platzieren Sie die TCR-Flasche auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung und lassen Sie sie mindestens 45 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen.

- c. Vergewissern Sie sich vor dem Gebrauch, dass alle Präzipitate gelöst und die Magnetpartikel suspendiert sind.
2. Zum Rekonstituieren von Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenzien gehen Sie folgenderweise vor:
 - a. Nehmen Sie die gefriergetrockneten Reagenzien und die entsprechenden Rekonstitutionslösungen aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Paaren Sie jede Rekonstitutionslösung mit ihrem gefriergetrockneten Reagenz.
 - b. Vergewissern Sie sich, dass das Etikett der Rekonstitutionslösung und das des gefriergetrockneten Reagenzes dieselbe Farbe aufweisen. Die Chargennummern auf dem Hauptchargen-Barcodeblatt kontrollieren, um sicherzustellen, dass die richtigen Reagenzien miteinander gepaart werden.

- i. Zum Öffnen des Fläschchens mit dem gefriergetrockneten Reagenz die Metallversiegelung und den Gummistopfen entfernen.
- ii. Führen Sie das gekerbte Ende des Rekonstitutionsverbindungsstücks (schwarz) fest in das Fläschchen ein (Abbildung 5, Schritt 1).
- iii. Öffnen Sie die Flasche mit der entsprechenden Rekonstitutionslösung und legen Sie den Verschluss auf eine saubere, abgedeckte Arbeitsfläche.
- iv. Die Flasche mit der Rekonstitutionslösung auf eine stabile Fläche stellen (z. B. den Labortisch). Drehen Sie dann das Fläschchen mit dem gefriergetrockneten Reagenz über dem Fläschchen mit der Rekonstitutionslösung um und befestigen Sie das Verbindungsstück an dem Fläschchen mit Rekonstitutionslösung (Abbildung 5, Schritt 2).
- v. Drehen Sie die zusammengefügt Flaschen (Fläschchen verbunden mit Lösungsmittelfläschchen) langsam um, damit die Lösung in das Glasfläschchen fließen kann (Abbildung 5, Schritt 3).
- vi. Schwenken Sie die zusammengefügt Flaschen mindestens 10 Sekunden lang (Abbildung 5, Schritt 4).
- vii. Warten Sie mindestens 30 Minuten, damit das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung gehen kann.
- viii. Nachdem das gefriergetrocknete Reagenz in Lösung gegangen ist, die zusammengefügt Flaschen mindestens 10 Sekunden lang schwenken und anschließend die Lösung gründlich mischen, indem das Glasfläschchen leicht nach vorne und hinten gekippt wird.
- c. Drehen Sie die zusammengefügt Flaschen dann wieder langsam um, damit die Lösung wieder komplett zurück in die Flasche mit der Rekonstitutionslösung fließen kann (Abbildung 5, Schritt 5).
- d. Entfernen Sie vorsichtig das Rekonstitutionsverbindungsstück und Glasfläschchen (Abbildung 5, Schritt 6).
- e. Verschließen Sie die Flasche wieder. Schreiben Sie die Initialen des Anwenders und das Rekonstitutionsdatum auf das Etikett (Abbildung 5, Schritt 7).
- f. Entsorgen Sie das Rekonstitutionsverbindungsstück und Glasfläschchen (Abbildung 5, Schritt 8).

Warnung: Bei der Rekonstitution von Reagenzien übermäßige Schaumbildung vermeiden. Schaum beeinträchtigt die Füllstandsmessung im Panther System.

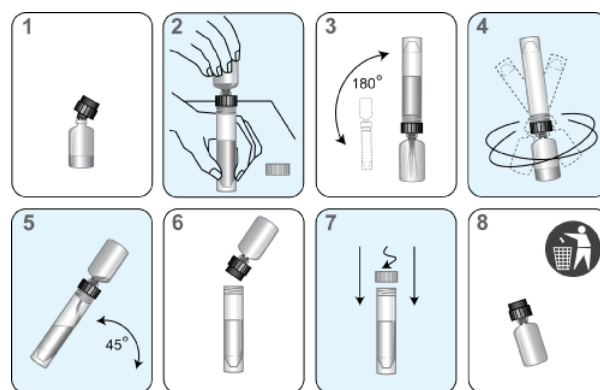


Abb. 5. Rekonstitution von Reagenzien

D. Reagenzienvorbereitung für bereits angesetzte Reagenzien

1. Nehmen Sie die bereits angesetzten Reagenzien aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C).
2. Bereits vorbereitete Amplifikations-, Enzym-, Promotor- und TC-Reagenzien müssen vor Beginn des Assays auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C gebracht werden.
3. Bei bereits angesetztem TCR führen Sie vor dem Laden auf das System den Schritt C.1 oben durch.
4. Vor dem Laden auf das System müssen Amplifikations-, Enzym- und Promotorreagenzien zum gründlichen Mischen geschwenkt und umgedreht werden. Beim Umdrehen von Reagenzien übermäßige Schaumbildung vermeiden.

Option: Die bereits vorbereiteten Reagenzien können auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung folgenderweise vorbereitet werden: Nehmen Sie die Reagenzien aus der Lagerung (2 °C bis 8 °C). Platzieren Sie die Reagenzien auf einer geeigneten Schwenkvorrichtung und lassen Sie sie mindestens 30 Minuten bei 15 °C bis 30 °C erwärmen.

5. Reagenzflaschen nicht nachfüllen. Das Panther System erkennt Flaschen, die nachgefüllt wurden, und nimmt sie nicht an.

E. Probenhandhabung

1. Es ist sicherzustellen, dass verarbeitete Proben in primären Röhrchen oder unverdünnte Proben in sekundären Röhrchen gemäß *Probenentnahme und -lagerung* ordnungsgemäß gelagert wurden.
2. Vergewissern Sie sich, dass gefrorene Patientenproben ganz aufgetaut sind. Mischen Sie die aufgetauten Patientenproben gründlich 3 bis 5 Sekunden auf dem Vortexer.
3. Bringen Sie die Patientenproben vor der Verarbeitung auf eine Temperatur von 15 °C bis 30 °C. Siehe *Proben im Panther System* für zusätzliche Informationen zu im System gelagerten Proben.
4. Stellen Sie sicher, dass alle primären Entnahmeröhrchen bis zu 1200 µl Probe oder alle SAT mindestens 700 µl Probe enthalten. In der unter *Probenentnahme und -lagerung* aufgeführten Tabelle sind die Anforderungen an das Totvolumen für jeden Typ Primär- und Sekundärröhrchen zu finden. Falls eine Verdünnung der Patientenprobe erforderlich ist, siehe Schritt E.5 unten für zusätzliche Informationen.
5. Verdünnen Sie eine Plasmaprobe 1:3 im SAT oder 1:100 in einem sekundären Röhrchen. Eine Plasmaprobe kann für die Analyse auf dem Panther System in einem sekundären Röhrchen verdünnt werden.



Hinweis: Eine Verdünnung von Plasmaproben darf nur für quantitative Ergebnisse angewendet werden. Für diagnostische Ergebnisse dürfen Plasmaproben nicht verdünnt werden.

Hinweis: Wenn eine Patientenprobe verdünnt wird, muss sie sofort nach der Verdünnung analysiert werden.

- a. Verdünnung von Proben, die in kleinen Volumen vorliegen

Das Volumen von Plasmaproben kann mit dem Aptima Probenverdünner auf das erforderliche Mindestvolumen (700 µl) erhöht werden. Patientenproben mit mindestens 240 µl Plasma können mit zwei Teilen Probenverdünner (1:3) folgenderweise verdünnt werden:

- i. Geben Sie 240 µl Patientenprobe in das SAT.
- ii. Geben Sie 480 µl Aptima Probenverdünner hinzu.
- iii. Verschließen Sie das Röhrchen.
- iv. Zum Mischen des Inhalts das Röhrchen vorsichtig fünfmal invertieren.

Patientenproben, die 1:3 verdünnt worden sind, können mit der 1:3-Option auf dem Panther System getestet werden (weitere Informationen finden Sie in *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* [Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System]). Die Software gibt automatisch das Ergebnis für die unverdünnte Probe ab, indem sie den Verdünnungsfaktor anwendet. Solche Patientenproben werden als verdünnte Patientenproben gekennzeichnet.

b. Verdünnung von Hochtiter-Proben

Liegt das Ergebnis einer Patientenprobe über der oberen Quantifizierungsgrenze, kann sie mit 99 Teilen des Aptima Probenverdünners (1:100) folgenderweise verdünnt werden:

- i. Geben Sie 30 µl der Patientenprobe in das SAT oder ein sekundäres Röhrchen.
- ii. Geben Sie 2970 µl Aptima Probenverdünner hinzu.
- iii. Verschließen Sie das Röhrchen.
- iv. Zum Mischen des Inhalts das Röhrchen vorsichtig fünfmal invertieren.

Patientenproben, die 1:100 verdünnt worden sind, können mit der 1:100-Option auf dem Panther System getestet werden (weitere Informationen finden Sie in *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* [Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System]). Die Software gibt automatisch das Ergebnis für die unverdünnte Probe ab, indem sie den Verdünnungsfaktor anwendet. Solche Patientenproben werden als verdünnte Patientenproben gekennzeichnet.

Hinweis: Die Ergebnisse für verdünnte Proben mit unverdünnten Konzentrationen oberhalb der ULoQ werden in wissenschaftlicher Notation angegeben.

6. Zentrifugieren Sie jede Patientenprobe unmittelbar vor dem Laden in einen Probenständer 10 Minuten bei 1000 bis 3000 g. Die Kappen nicht abnehmen. Luftblasen im Röhrchen können die Füllstandsmessung des Panther Systems stören.

Siehe *Vorbereitung des Systems* Schritt F.2 unten für Informationen zum Laden des Ständers und zum Abnehmen der Deckel.

F. Vorbereitung des Systems

1. Richten Sie das System entsprechend den Anweisungen in der *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) und den *Verfahrenshinweise* ein. Achten Sie darauf, dass Reagenzienständer und TCR-Adapter geeigneter Größe verwendet werden.
2. Die Proben in den Probenständer laden. Führen Sie für jedes Probenröhrchen (Patientenproben und ggf. Kalibrator und Kontrollen) die folgenden Schritte durch:

- a. Die Kappe eines Probenröhrchens lösen, aber noch nicht abnehmen.

Hinweis: Besonders darauf achten, eine Kontamination durch Aerosolausbreitung zu vermeiden. Die Kappen der Proben vorsichtig lösen.

- b. Das Probenröhrchen in den Probenständer laden.
- c. Wiederholen Sie die Schritte a und b für jede verbleibende Probe.
- d. Wenn die Proben in den Probenständer geladen sind, nehmen Sie die Kappe von jedem Probenröhrchen ab und entsorgen Sie sie in einen Probenständer. Zur Vermeidung von Kontamination die Kappen nicht über einen Probenständer oder über Probenröhrchen führen.

- e. Verwenden Sie ggf. eine neue Einwegtransferpipette, um etwaige Luft- oder Schaumbläschen zu entfernen.
- f. Wenn die letzte Kappe entfernt wurde, den Probenständer in ein Probenfach laden.
***Hinweis:** Sichern Sie bei gleichzeitiger Analyse anderer Assays und Probentypen den Probenhalter, bevor Sie den Probenständer in ein Probenfach laden.*
- g. Wiederholen Sie die Schritte a bis f für den nächsten Probenständer.

Verfahrenshinweise

A. Kalibrator und Kontrollen

1. Der qHIV-1-Positivkalibrator sowie die Röhrchen mit der schwach positiven, der stark positiven und der negativen qHIV-1-Kontrolle können in jede Position im Probenständer und in jede Probenfach-Bahn auf dem Panther System geladen werden. Die Pipettierung der Proben beginnt, wenn eine der folgenden beiden Bedingungen erfüllt ist:
 - a. Der Kalibrator und die Kontrollen werden derzeit vom System verarbeitet.
 - b. Gültige Ergebnisse für die Kalibratoren und Kontrollen werden auf dem System registriert.
2. Sobald die Kalibrator- und alle Kontrollenröhrchen pipettiert worden sind und mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assayreagenzien-Kit verarbeitet werden, können bis zu 24 Stunden lang Patientenproben mit dem zugehörigen rekonstituierten Kit getestet werden, **es sei denn:**
 - a. Die Kalibrator- oder Kontrollenergebnisse sind ungültig.
 - b. Das zugehörige Assay-Reagenzien-Kit aus dem System genommen wird.
 - c. Die Haltbarkeit des zugehörigen Assayreagenzienkits überschritten ist.
3. Das Kalibrator- und alle Kontrollenröhrchen können einmal verwendet werden. Wenn versucht wird, mehr als einmal aus dem Röhrchen zu pipettieren, kann es zu Verarbeitungsfehlern kommen.

B. Handschuhpuder

Wie in jedem Reagenzsystem kann übermäßiger Puder auf manchen Handschuhen eine Kontamination geöffneter Röhrchen verursachen. Es werden ungepuderte Handschuhe empfohlen.

Qualitätskontrolle

Ein Lauf- oder Patientenprobenergebnis kann von einem Anwender für ungültig erklärt werden, wenn während der Durchführung des Assays technische, anwender- oder gerätebezogene Probleme aufgetreten sind und dokumentiert wurden. In diesem Fall müssen die Proben erneut getestet werden.

Assay-Kalibrierung

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss eine Assay-Kalibrierung durchgeführt worden sein. Ein einzelner Positivkalibrator wird jedes Mal, wenn ein Reagenzien-Kit auf das Panther System geladen wird, dreimal analysiert. Sobald festgelegt, ist die Kalibrierung bis zu 24 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Software auf dem Panther System darauf aufmerksam gemacht, wenn eine Kalibrierung erforderlich ist. Der Anwender scannt einen Kalibrierungskoeffizienten, der auf dem jedem Reagenzien-Kit beiliegenden Master-Lot-Barcodeblatt angegeben ist.

Während der Verarbeitung werden die Annahmekriterien für den Kalibrator von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Wenn weniger als zwei Kalibratorreplikate gültig sind, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch vorbereiteten Kalibrator und frisch vorbereiteten Kontrollen erneut zu testen.

Negativ- und Positivkontrollen

Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss ein Satz von Assay-Kontrollen getestet werden. Ein Replikat der Negativkontrolle, der schwach positiven Kontrolle und der stark positiven Kontrolle muss jedes Mal, wenn ein Reagenzien-Kit auf das Panther System geladen wird, getestet werden. Sobald festgelegt, sind die Kontrollen bis zu 24 Stunden gültig. Der Anwender wird von der Software auf dem Panther System darauf aufmerksam gemacht, wenn Kontrollen erforderlich sind.

Während der Verarbeitung werden Kriterien für die Annahme der Kontrollen von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Zur Erzeugung gültiger Ergebnisse muss die Negativkontrolle ein Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ liefern und die Ergebnisse der Positivkontrollen müssen innerhalb vordefinierter Parameter liegen (LPC-Ziel: $\sim 3 \text{ Log}_{10}$ Kopien/ml, HPC-Ziel: $\sim 5 \text{ Log}_{10}$ Kopien/ml). Wenn das Ergebnis für eine der Kontrollen ungültig ist, erklärt die Software den Lauf automatisch für ungültig. Proben eines für ungültig erklärten Laufs sind mit einem frisch vorbereiteten Kalibrator und frisch vorbereiteten Kontrollen erneut zu testen.

Interner Kalibrator/Interne Kontrolle

Jede Probe enthält einen internen Kalibrator/eine interne Kontrolle (IC). Während der Verarbeitung werden IC-Annahmekriterien von der Software auf dem Panther System automatisch verifiziert. Wenn ein IC-Ergebnis ungültig ist, wird das Probenergebnis für ungültig erklärt. Jede Probe mit ungültigem IC-Ergebnis muss erneut getestet werden, um ein gültiges Ergebnis zu erhalten. Die Panther System Software verifiziert alle Prozesse genau, wenn gemäß den Anweisungen in dieser Packungsbeilage und in der *Panther/Panther Fusion System Operator's Manual* (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) verfahren wird.

Interpretation der Ergebnisse

Hinweis: Die quantitativen Ergebnisse des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurden mit Plasma evaluiert. Serum darf nicht zur Ermittlung von quantitativen Ergebnissen verwendet werden. Qualitative Ergebnisse wurden mit Plasma und Serum evaluiert.

Das Panther System bestimmt die Konzentration der HIV-1-RNA in Patientenproben und Kontrollen automatisch, indem es die Ergebnisse mit einer Kalibrierungskurve vergleicht. HIV-1-RNA-Konzentrationen werden in Kopien/ml und \log_{10} Kopien/ml angegeben. Die Ergebnisauswertung wird in Tabelle 1 bereitgestellt. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay umfasst Amplifikations- und Detektionssysteme für zwei Targets, die unabhängig auf pol und LTR abzielen. Das vom System gemeldete Ergebnis basiert auf dem primären System pol, sofern pol nicht amplifiziert wird. In diesen Fällen meldet das System das Ergebnis über das sekundäre System, LTR.

Wenn eine 1:3- oder 1:100-Verdünnung für verdünnte Patientenproben verwendet wurde, berechnet das Panther System automatisch die HIV-1-Konzentration für die unverdünnte Patientenprobe, indem die verdünnte Konzentration mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert wird. Verdünnte Proben werden entsprechend gekennzeichnet.

Hinweis: Bei verdünnten Patientenproben können Ergebnisse wie „Nicht nachgewiesen“ oder „<30 nachgewiesen“ erhalten werden, indem eine Patientenprobe mit einer Konzentration über, aber nahe der LoD (Limit of Detection, Nachweisgrenze) bzw. der LLoQ (Lower Limit of Quantitation, untere Qualifizierungsgrenze) verdünnt wird. Es wird empfohlen, eine andere unverdünnte Patientenprobe zu entnehmen und zu testen, wenn kein quantitatives Ergebnis erhalten wird.

Das Panther System liefert kein qualitatives Ergebnis (d. h. „Reaktiv“ oder „Nicht-reaktiv“) für die diagnostische Anwendung. Der Anwender muss die angegebene HIV-1-RNA-Konzentration selbst qualitativ interpretieren (Tabelle 1). Bei Patientenproben mit dem Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ kann keine HIV-1-RNA nachgewiesen werden. Ist das Ergebnis einer Patientenprobe „<30 nachgewiesen“ oder liegt es im linearen Bereich oder darüber, wurde HIV-1-RNA nachgewiesen und die betroffenen Proben sind HIV-1-RNA-reaktiv.

Tabelle 1: Ergebnisinterpretation

Ausgegebenes Ergebnis des Aptima HIV-1 Quant DX Assays		HIV-1-RNA-Konzentration Auswertung	Diagnostische qualitative Auswertung des Anwenders ^c
Kopien/ml ^a	Log ₁₀ Wert ^b		
Nicht nachgewiesen	Nicht nachgewiesen	Keine HIV-1-RNA festgestellt.	Bezüglich HIV-1-RNA nicht-reaktiv
<30 nachgewiesen	<1,47	Es wird HIV-1-RNA nachgewiesen, aber unterhalb der unteren Quantifizierungsgrenze (Lower Limit of Quantitation, LLoQ).	HIV-1-RNA-reaktiv
30 bis 10.000.000	1,47 bis 7,00	Die HIV-1-RNA-Konzentration liegt im linearen Bereich von 30 bis 10.000.000 Kopien/ml.	HIV-1-RNA-reaktiv
>10.000.000	>7,00	Die HIV-1-RNA-Konzentration liegt über der oberen Quantifizierungsgrenze (ULoQ, Upper Limit of Quantification).	HIV-1-RNA-reaktiv
Ungültig ^d	Ungültig ^d	Bei der Bestimmung ist ein Fehler aufgetreten. Die Patientenprobe sollte noch einmal getestet werden.	Ungültig ^d

^a Der Umrechnungsfaktor für Kopien in Internationale Einheiten (IE) für den 3. internationalen Standard für HIV-1-RNA (10/152) ist 0,35 Kopien/IE.

^b Wert ist auf zwei Dezimalstellen gekürzt.

^c Eine diagnostische Auswertung sollte nicht ausgehend von einem „nicht-reaktiv“-Ergebnis für Patientenproben erfolgen, die verdünnt wurden. Eine neue, unverdünnte Probe nehmen und erneut testen.

^d Ungültige Ergebnisse werden in blauer Schrift angezeigt.

Sobald die Ergebnisse auf dem Bildschirm „Ergebnisse“ verfügbar sind, kann der Quantifizierungswert für jedes Target mithilfe der Probenkurvenberichtsfunktion in der Panther System Software beurteilt werden. Wählen Sie zum Anzeigen der Werte und Amplifikationskurven auf dem Bildschirm „Ergebnisse“ der Panther System Software die Proben-ID für die Probe aus. Wählen Sie anschließend die Schaltfläche „Kurvendaten“ aus. Es wird ein Fenster mit dem Probenkurvenbericht geöffnet, das Fluoreszenzprofile und Quantifizierungswerte für die Probe enthält.

Hinweis: Die aus dem Probenkurvenbericht entnommenen Daten werden nur zu Informationszwecken bereitgestellt (z. B. Fehlersuche und Verifizierung von Kurven). Das zu meldende validierte Ergebnis für die Probe wird von der Panther System Software auf dem Bildschirm „Ergebnisse“ und im Ergebnisbericht bereitgestellt.

Hinweis: Im Panther/Panther Fusion System Operator's Manual (Bedienungsanleitung für das Panther/Panther Fusion System) finden Sie zusätzliche Anweisungen zur Bedienung des Panther Systems.

Die Annahmekriterien für jede der Aptima HIV-1 Quant Dx Assaykontrollen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Hinweis: Der unten aufgeführte Rückgewinnungsbereich verschiebt sich je nach dem zugewiesenen Wert der jeweiligen Charge. Siehe die zugewiesene Konzentration auf dem Barcode-Blatt der Kontrolle, das jeder Kontrollen-Verpackung beigelegt ist.

Tabelle 2: Annahmekriterien für den Rückgewinnungsbereich für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay

Komponente	Rückgewinnungsbereich für gültige Läufe
Negativkontrolle	K.A.
Schwach positive Kontrolle	+/- 0,5 log ₁₀ Kopien/ml
Stark positive Kontrolle	+/- 0,5 log ₁₀ Kopien/ml

Einschränkungen

- A. Dieser Assay darf nur von geschulten Mitarbeitern durchgeführt werden, die im Verfahren unterwiesen wurden. Eine Nichtbefolgung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage kann fehlerhafte Ergebnisse zur Folge haben.
- B. Zuverlässige Ergebnisse hängen von der korrekten Entnahme, dem Transport, der Lagerung und der Verarbeitung der Patientenproben ab.
- C. Dieser Assay wurde für die Verwendung als quantitativer Assay ausschließlich mit EDTA- und ACD-Humanplasma beurteilt.
- D. Dieser Assay wurde für die Verwendung als qualitativer Assay mit EDTA- und ACD-Humanplasma und -serum beurteilt.
- E. Es besteht die seltene Möglichkeit, dass Mutationen in den hoch konservierten Regionen des Virusgenoms, in denen die Primer und/oder Sonden im Aptima HIV-1 Quant Assay binden, dafür sorgen, dass das Virus zu gering quantifiziert oder überhaupt nicht nachgewiesen wird.
- F. Dieser Assay wurde nicht für die Verwendung bei Patienten beurteilt, die sich lentiviralen vektorbasierten Therapien, wie der CAR-T-Zelltherapie, unterziehen. Potenziell überlappende Regionen des Virusgenoms, in denen die Primer und/oder Sonden im Aptima HIV-1 Quant Assay binden, können zu Amplifikation von lentiviralen Vektoren führen, die in lentiviralen vektorbasierten Therapien verwendet werden.

Analytische Leistung

Nachweisgrenze bei Verwendung des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1

Die Nachweisgrenze (LoD, Limit of Detection) ist definiert als die HIV-1-RNA-Konzentration, die gemäß CLSI EP17-A2 (37) mit einer Wahrscheinlichkeit von mindestens 95 % nachgewiesen wird. Die LoD wurde durch Testen einer Reihe von Verdünnungspanels des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1 (Subtyp B, NIBSC-Code: 10/152) in HIV-1-negativem EDTA-Plasma und -serum bestimmt. Es wurden 30 Replikate jeder Verdünnung in drei Panther Systemen mit drei Reagenzchargen analysiert, d. h. für jede Verdünnung insgesamt 90 Replikate. Gemäß CLSI EP17-A2 wurden die LoDs anhand der Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration für die vorhergesagte Nachweisgrenze festgelegt und sind in Tabelle 3 dargestellt. Die Probit-Analyse für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ergab eine 95-%ige vorhergesagte Nachweisgrenze für die LoD von 12 Kopien/ml (35 IE/ml) in Plasma und 8,9 Kopien/ml (25 IE/ml) in Serum (0,35 Kopien=1 IE).

Tabelle 3: Nachweisgrenze des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays mit dem 3. internationalen WHO-Standard für HIV-1

Vorhergesagte Nachweisgrenze	Plasma		Serum	
	Konzentration (Kopien/ml)	Konzentration (IE/ml)	Konzentration (Kopien/ml)	Konzentration (IE/ml)
10 %	1,2	3,3	0,8	2,2
20 %	1,6	4,6	1,1	3,1
30 %	2,0	5,7	1,4	4,0
40 %	2,5	7,2	1,7	4,9
50 %	3,1	8,8	2,1	5,9
60 %	3,8	11	2,5	7,2
70 %	4,8	14	3,1	8,9
80 %	6,2	18	4,0	11
90 %	9,0	26	5,8	17
95 %	12,1	35	8,9	26

Nachweisgrenze bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen

Für die HIV-1-Gruppe M (Subtypen A, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) und die Gruppen N und O wurden sechs positive Panel und ein negatives Panel erstellt, indem HIV-1-negatives EDTA-Humanplasma und Serum mit kultiviertem HIV-1-Virus oder positiven klinischen Patientenproben versetzt wurden (0 bis 40 Kopien/ml). Jede Panelprobe wurde in 30 Replikaten mit zwei Reagenzchargen für insgesamt 60 Replikate pro Panelprobe getestet. Die Bestimmung der Konzentration von klinischen Patientenproben oder kultivierten Virusstämmen wurde über einen Vergleichsassay bestimmt. Zur Aufstellung der vorhergesagten 50%- und 95%-Nachweisgrenzen wurde eine Probit-Analyse durchgeführt. Gemäß CLSI EP17-A2 (37) wurden die LoDs anhand der Ergebnisse der Reagenzcharge mit der höchsten Konzentration für die vorhergesagte Nachweisgrenze festgelegt, die als LoD definiert ist (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Nachweisgrenze bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen

Subtyp/Gruppe	Vorhergesagte Nachweisgrenze	Plasma	Serum
		Konzentration (Kopien/ml)	Konzentration (Kopien/ml)
A	50 %	3,0	4,0
	95 %	11,5	14,5
CRF01_AE	50 %	1,5	4,5
	95 %	4,5	15,7
CRF02_AG	50 %	3,8	4,3
	95 %	15,1	14,3
C	50 %	2,0	4,1
	95 %	9,8	16,7
D	50 %	4,2	3,7
	95 %	13,8	15,2
F	50 %	2,4	4,9
	95 %	8,9	15,0
G	50 %	3,5	2,5
	95 %	15,7	6,5
N	50 %	1,4	2,1
	95 %	6,1	5,9
O	50 %	1,9	6,5
	95 %	6,5	27,2

Linearer Bereich

Der lineare Bereich des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurde gemäß CLSI EP06-A anhand einer Reihe von Testpanels ermittelt. Dazu wurde kultiviertes HIV-1-Virus (Subtyp B) in HIV-1-negativem EDTA-Humanplasma verdünnt (38). Die Konzentration der Panels lag im Bereich von 1,30 bis 7,30 \log_{10} Kopien/ml. Die Tests erfolgten auf sieben Panther Systemen mit zwei Reagenzchargen. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ergab im gesamten getesteten Bereich lineare Ergebnisse (siehe Abbildung 6).

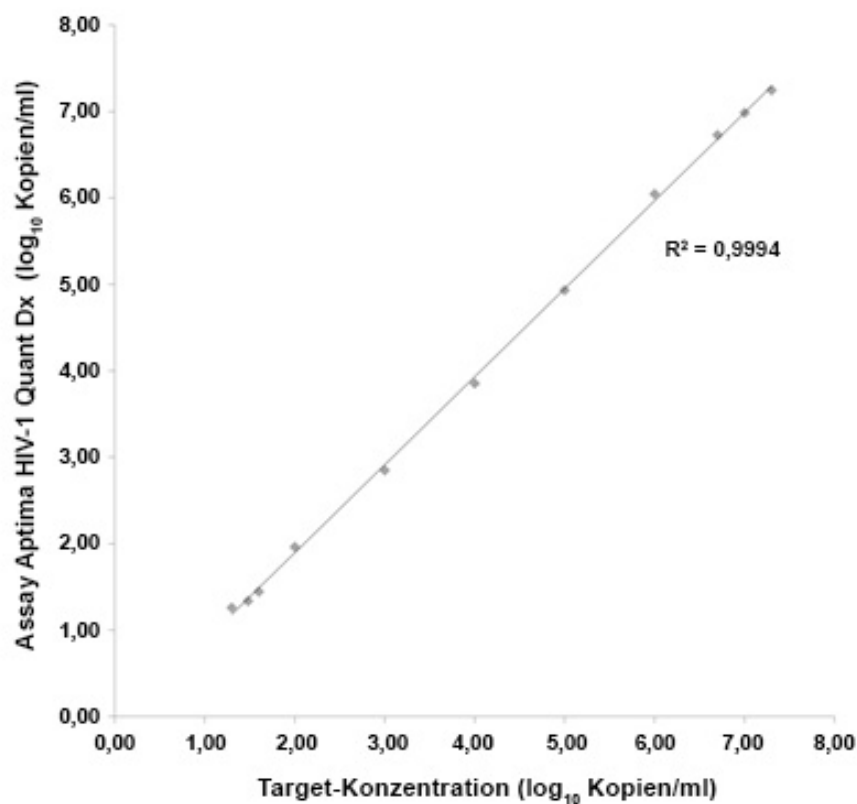


Abb. 6. Linearität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays

Linearität bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen

Das lineare Ansprechen des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays in Gruppe M (Subtypen A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) und in Gruppe N und O wurde durch das Testen von Panels bestätigt, die aus HIV-1-Transkript bestanden, das in Pufferkonzentrationen von 2,00 bis 6,70 \log_{10} Kopien/ml verdünnt wurde. Die Tests erfolgten auf vier Panther Systemen und über sechs Läufe. Im gesamten getesteten Bereich wurde Linearität nachgewiesen (Abbildung 7).

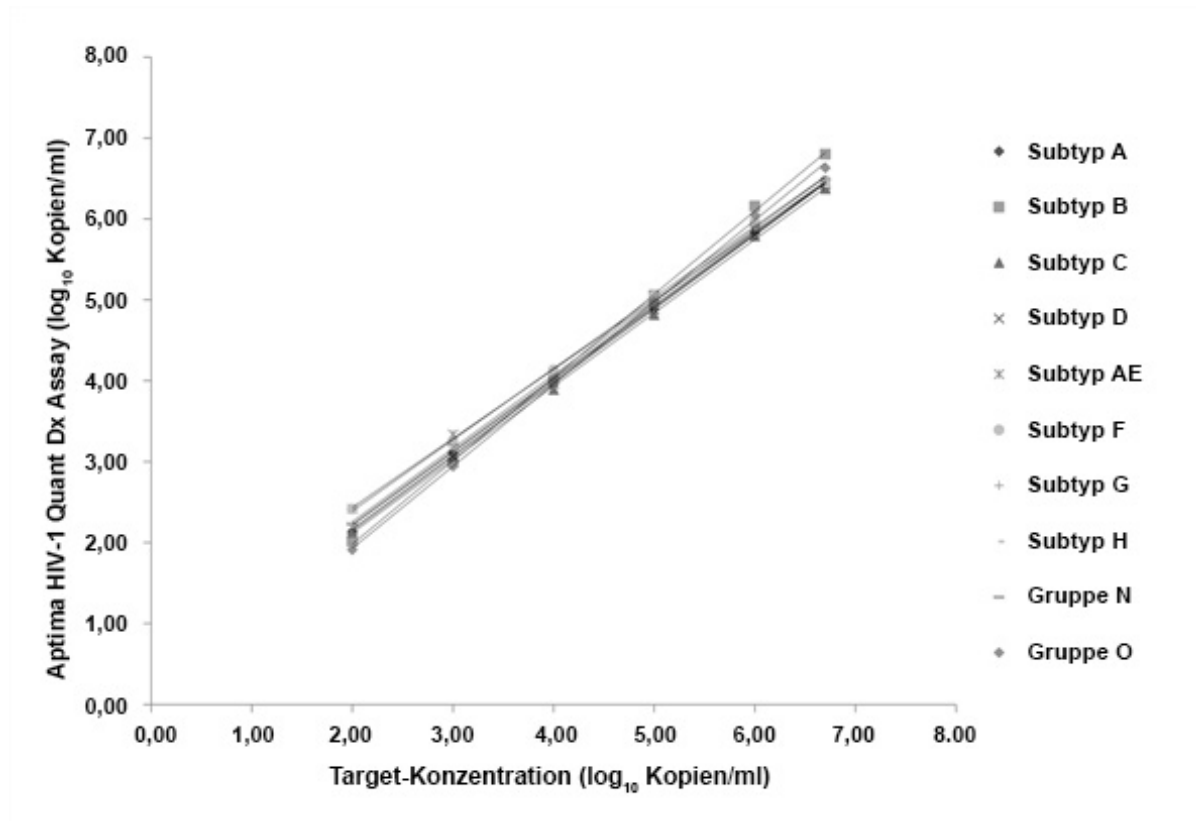


Abb. 7. Linearität in Gruppe M (Subtypen A, B, C, D, F, G, H, CRF01_AE) und Gruppen N und O

Ermittlung der unteren Quantifizierungsgrenze mit dem 3. internationalen WHO-Standard für HIV-1

Die untere Quantifizierungsgrenze (LLoQ) ist definiert als die niedrigste Konzentration, bei der HIV-1-RNA innerhalb eines Gesamtfehlers zuverlässig gemäß CLSI EP17-A2 quantifiziert werden kann (37). Der Gesamtfehler wurde unter Verwendung des Westgard-Modells berechnet (Gesamtfehler = |Bias| + 2 SD). Zur Gewährleistung der Genauigkeit und Präzision der Messungen wurde für den Gesamtfehler des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays $1 \log_{10}$ Kopien/ml festgelegt (d. h. an der LLoQ ist der Unterschied zwischen zwei Messungen von mehr als $1 \log_{10}$ Kopien/ml statistisch signifikant).

Die LLoQ wurde durch Testen einer Reihe von Verdünnungspanels des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1 (Subtyp B, NIBSC-Code: 10/152) in HIV-1-negativem EDTA-Plasma bestimmt. Gemäß CLSI EP17-A2 wurden die Panels mit drei Reagenzchargen in 30 Replikaten für jede Charge aus 23 Läufen getestet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt. Die höchste LLoQ für die drei auf dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay mit dem 3. internationalen WHO-Standard für HIV-1 getesteten Chargen beträgt 15 Kopien/ml ($1,17 \log_{10}$ Kopien/ml) (Tabelle 6).

Tabelle 5: Ermittlung der LLoQ des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays mit dem 3. internationalen WHO-Standard für HIV-1

Reagenz charge	Target-Konzentration (\log_{10} Kopien/ml)	Aptima HIV-1 Quant Dx (\log_{10} Kopien/ml)	SD (\log_{10} Kopien/ml)	[Bias] (\log_{10} Kopien/ml)	Berechneter TE (\log_{10} Kopien/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=Standardabweichung TE=Gesamtfehler.

Tabelle 6: Zusammenfassung der LLoQ unter Verwendung des 3. internationalen WHO-Standards für HIV-1 (3 Reagenzchargen)

Reagenzcharge	LLoQ (log ₁₀ Kopien/ml)	LLoQ (Kopien/ml)
1	0,94	8,7
2	1,17	15
3	0,98	9,5

Verifizierung der LLoQ bei HIV-1-Subtypen und -Gruppen

Die LLoQ bei HIV-1-Subtypen und Gruppen wurde gemäß CLSI EP17-A2 überprüft (37). Es wurden Panels für jede HIV-1-Gruppe M (Subtypen A, B, C, D, F, G, CRF01_AE, CRF02_AG) und Gruppe N und O hergestellt, indem gepooltes HIV-1-negatives EDTA-Humanplasma mit natürlich infizierten klinischen Proben oder mit klinischen Isolaten versetzt wurde. Die Tests bestanden aus insgesamt 30 Replikaten pro Panelprobe. Die Daten in Tabelle 7 zeigen die niedrigste Konzentration für jeden Subtyp oder jede Gruppe, für den bzw. die der Gesamtfehler weniger als 1 log₁₀ Kopien/ml betrug. Die höchste LLoQ für alle getesteten Subtypen und Gruppen war 30 Kopien/ml; daher wurde dieser höhere Wert als LLoQ für den Aptima HIV-1 Quant Dx Assay ausgewählt (Tabelle 7).

Tabelle 7: Verifizierung der LLoQ nach HIV-1-Subtyp oder -Gruppe

Panel-	LLoQ (Kopien/ml)
Subtyp A	30
Subtyp CRF01_AE	10
Subtyp CRF02_AG	30
Subtyp B	10
Subtyp C	30
Subtyp D	15
Subtyp F	15
Subtyp G	30
Gruppe N	10
Gruppe O	15

Präzision

Zur Beurteilung der Präzision des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurde ein Panel, das durch Versetzen von HIV-1-negativem EDTA-Plasma mit HIV-1-Subtyp B-Virus erstellt wurde, von drei Anwendern mit drei Reagenzchargen auf drei Panther Systemen über 20 Tage getestet (Tabelle 8). Das Panel umfasste eine HIV-1-negative und acht HIV-1-positive Panelproben. Die Bestimmung der Konzentration von klinischen Patientenproben oder kultivierten Virusstämmen wurde über einen Vergleichsassay bestimmt.

Tabelle 8: Präzision des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays

Anzahl der gültigen Replikate	Mittlere Konzentration (log ₁₀ Kopien/ml)	Vergleich Geräte		Vergleich Anwender		Vergleich Chargen		Vergleich Läufe		Vergleich innerhalb eines Laufs		Gesamt	
		SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)	SD	VK (%)
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 ^a	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

VK=Variationskoeffizient, SD=Standardabweichung.

^a Diese Panelprobe wurde 1:3 mit Probenverdünner verdünnt und zur Evaluierung der Präzision mit der verdünnten Probe getestet.

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist. In diesem Fall gilt SD = 0 und VK = 0 %. Die Gesamtanzahl der getesteten Replikate betrug 162 für jedes Panel; es wurden nur Replikate mit einem numerischen Wert analysiert.

Endogene und Exogene Stoffe mit möglicher beeinträchtigender Wirkung

Es wurde die Anfälligkeit des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays gegenüber Interferenzen durch erhöhte Konzentrationen endogener Stoffe und von Wirkstoffen, die HIV-1-Infizierten häufig verordnet werden, evaluiert. Es wurden HIV-1-negative EDTA-Humanplasmaproben und Proben, die mit HIV-1 bis zu einer Konzentration von $3 \log_{10}$ Kopien/ml HIV-1-RNA versetzt wurden, getestet.

Bei Vorhandensein von Albumin (90 mg/ml), Hämoglobin (5 mg/ml), Triglyzeriden (30 mg/ml) oder unkonjugiertem Bilirubin (0,2 mg/ml) wurde keine Beeinträchtigung der Leistung des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays festgestellt.

Bei Vorhandensein der in Tabelle 9 gelisteten exogenen Stoffe in Konzentrationen vom mindestens Dreifachen der C_{\max} (Humanplasma) wurde keine Beeinträchtigung der Leistung des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays festgestellt.

Tabelle 9: Exogene Stoffe

Pool von exogenen Stoffen	Getestete exogene Stoffe
1	Lopinavir, Indinavir, Saquinavir, Ritonavir, Nelfinavirmesylat, Darunavir, Amprenavir, Atazanavir
2	Nevirapin, Efavirenz, Rilpivirin, Clarithromycin, Amphotericin B
3	Tenofoviridisoproxilfumarat, Adefovirdipivoxil, Ribavirin, Enfuvirtid, Maraviroc, Raltegravir, Dolutegravir
4	Abacavirsulfat, Didanosin, Zidovudin, Lamivudin, Stavudin, Entecavir, Telbivudin, Emtricitabin
5	Paroxetin-HCl, Fluoxetin, Sertralin
6	Ganciclovir, Valacyclovir, Acyclovir, Rifampin/Rifampicin, Ethambutol
7	Ciprofloxacin, Azithromycin, Amoxicillin, Cephalexin, Ampicillin, Trimethoprim
8	Valganciclovir (als HCl), Boceprevir, Telaprevir, Simeprevir, Sofosbuvir
9	Pegyliertes Interferon alpha-2b, Interferon alpha-2a, Interferon alpha-2b
10	Heparin, EDTA, Natriumcitrat
11	Tipranavir
12	Isoniazid

Es wurden die in Tabelle 10 gelisteten klinischen EDTA-Plasmaproben von Patienten mit erhöhten Konzentrationen definierter Stoffe oder von Patienten mit den gelisteten Krankheiten mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay mit und ohne Vorhandensein von 3 log₁₀ Kopien HIV-1-RNA getestet. Es wurde keine Beeinträchtigung der Leistung beobachtet.

Tabelle 10: Getestete Typen klinischer Patientenproben

Typen klinischer Patientenproben	
1	Rheumafaktor (RF)
2	Antinukleäre Antikörper (ANA)
3	Anti-Jo-1-Antikörper (JO-1)
4	Systemischer Lupus erythematoses (SLE)
5	Rheumatische Arthritis (RA)
6	Multiple Sklerose (MS)
7	Hyperglobulinämie
8	Erhöhte Alaninaminotransferase (ALT)
9	Alkoholbedingte Zirrhose (AC)
10	Multiples Myelom (MM)
11	Lipämisch (erhöhte Lipide)
12	Ikterisch (erhöhtes Bilirubin)
13	Hämolysiert (erhöhtes Hämoglobin)
14	Erhöhtes Proteinalbumin
15	HCV-Antikörper
16	HBV-Antikörper
17	HIV-2-Antikörper

Leistung mit HIV-1-negativen Patientenproben

Die Spezifität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays wurde unter Verwendung von 120 frischen und 510 gefrorenen HIV-1-negativen EDTA-Plasmaproben ermittelt. In keiner der 630 Proben wurde HIV-1-RNA nachgewiesen (Spezifität von 100 %; (95-%-KI) 99,4–100 %) (Tabelle 11).

Tabelle 11: Spezifität in Plasmaproben

	Frishes Plasma	Gefrorenes Plasma	Alle
Gültige Replikate (n)	120	510	630
Nicht-reaktiv	120	510	630
Spezifität (95 %-KI)	100 % (97,0–100)	100 % (99,3–100)	100 % (99,4–100)

KI=Konfidenzintervall

Mikrobielle Kontaminanten mit möglicher beeinträchtigender Wirkung

Die mögliche Kreuzreaktivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays mit Erregern (Tabelle 12) wurde bei Vorhandensein oder Abwesenheit von 3 log₁₀ Kopien/ml HIV-1-RNA in HIV-1-negativem EDTA-Humanplasma beurteilt. Es wurde keine Beeinträchtigung der Assay-Leistung bei Vorhandensein der Erreger beobachtet.

Tabelle 12: Auf Kreuzreaktivität getestete Erreger

Erreger	Konzentration
Hepatitis-A-Virus	100.000 PBE/ml ^a
Hepatitis-B-Virus	100.000 IE/ml ^b
Hepatitis-C-Virus	100.000 IE/ml
Hepatitis-G-Virus	100.000 Kopien/ml
Herpes-simplex-Virus Typ 1 (HSV-1)	100.000 PBE/ml
Herpes-simplex-Virus Typ 2 (HSV-2)	75.000 PBE/ml
Humanes Herpesvirus 6	100.000 Kopien/ml
Humanes Herpesvirus 8	42.000 PBE/ml
HIV-2	5.500 PBE/ml
Humanes T-Zell-lymphotropes Virus (HTLV)	100.000 vp/ml ^c
West-Nil-Virus	100.000 Kopien/ml
Parvovirus B19	100.000 IE/ml
Cytomegalovirus	100.000 Kopien/ml
Epstein-Barr-Virus	100.000 Kopien/ml
Adenovirus Typ 5	100.000 PBE/ml
Dengue-Virus	100.000 Kopien/ml
Influenza-A-Virus	100.000 PBE/ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.000.000 KBE/ml ^d
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.000.000 KBE/ml
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.000.000 KBE/ml
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1.000.000 KBE/ml
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300.000 IFU/ml ^e
<i>Candida albicans</i>	1.000.000 KBE/ml

^a PBE/ml = Plaque-bildende Einheiten pro ml.^b IE/ml = Internationale Einheiten pro ml.^c vp/ml = Viruspartikel pro ml.^d KBE/ml = Kolonie-bildende Einheiten pro ml.^e IFU/ml = Einschlusskörper-bildende Einheiten pro ml.

Wiederholbarkeit bei klinischen Patientenproben

Es wurden 10 klinische EDTA-Plasmaproben und 10 Serumproben in drei Replikaten mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Die Durchschnittskonzentration und Standardabweichung (SD) sind in Tabelle 13 und Tabelle 14 dargestellt.

Tabelle 13: Wiederholbarkeit bei klinischen Plasmaproben

Patientenprobe	Plasma	
	Durchschnittskonzentration (log ₁₀ Kopien/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

SD = Standardabweichung

Tabelle 14: Wiederholbarkeit bei klinischen Serumproben

Patientenprobe	Serum	
	Durchschnittskonzentration (log ₁₀ Kopien/ml)	SD
1	1,68	0,10
2	2,44	0,19
3	3,08	0,03
4	3,37	0,06
5	4,05	0,04
6	4,55	0,06
7	5,06	0,04
8	5,49	0,05
9	6,28	0,02
10	6,79	0,04

SD = Standardabweichung

Probenverdünnung mit Probenverdünner

Zur Evaluierung der Probenverdünnung wurde ein Panel, das aus 11 Proben mit Konzentrationen im linearen Bereich des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bestand und das zwei Proben oberhalb der ULoQ des Assays umfasste, dreifach in unverdünnter und verdünnter (1:3 oder 1:100 in Probenverdünner) Form getestet (Tabelle 15).

Tabelle 15: Probenverdünnung

Verdünnung	Mittlere unverdünnte Konzentration (log ₁₀ Kopien/ml)	Mittlere angegebene Konzentration ^a (log ₁₀ Kopien/ml)	Differenz
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 ^b	2,19	-0,27
1:100	>7,00 (7,16 ^c)	7,48	0,32
1:100	>7,00 (7,40 ^c) ^b	7,39	-0,01

^a Die angegebene Konzentration ist der nach Anwendung des Verdünnungsfaktors vom Panther System angegebene Wert.

^b Versetzte Patientenprobe.

^c Alle Ergebnisse >7,00 log₁₀ Kopien/ml wurden in einer weiteren Analyse geschätzt.

Verschleppung

Um nachzuweisen, dass das Panther System das Risiko falsch positiver Ergebnisse infolge von Kontamination durch Verschleppung auf ein Mindestmaß beschränkt, wurde eine Analysestudie über mehrere Läufe mit gespickten Panels auf zwei Panther Systemen durchgeführt. Die Beurteilung der Verschleppung erfolgte anhand von hochtitrigen, mit HIV-1 versetzten Proben (7 log₁₀ Kopien/ml), die im Schachbrettmuster zwischen HIV-1-negativen Proben verteilt waren. Zur Testung wurden fünf Läufe durchgeführt. Die Gesamtverschleppungsrate betrug 0 % (n=469).

Serokonversionspanel

Es wurden 19 HIV-1-Serokonversionspanels bestehend aus 204 Proben mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Der Nachweis von HIV-1-RNA wurde mit dem Nachweis mit p24-Antigentests und mit HIV-1/2-Antikörpertests verglichen. Die Anzahl der Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis mit p24-Antigentests, Anti-HIV-1/2-Antikörpertests und dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay sind in Tabelle 16 gelistet. Der Aptima HIV-1 Quant Dx Assay wies HIV-1-RNA durchschnittlich 5,58 Tage vor dem p24-Antigentest bzw. 11,16 Tage vor dem Anti-HIV-1/2-Antikörpertest nach.

Tabelle 16: Zusammenfassung der Daten mit Serokonversionspanel

Panel-ID	Anzahl der getesteten Panelproben	Anzahl der reaktiven Panelproben			Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis			Unterschied bzgl. der Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis (ausgehend vom Datum der Blutentnahme)	
		Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV-p24-Antigen	Anti-HIV-1/2-Antikörper	Aptima HIV-1 Quant Dx	HIV-p24-Antigen	Anti-HIV-1/2-Antikörper	Früherer Nachweis als HIV-p24-Antigen in Tagen	Früherer Nachweis als Anti-HIV-1/2-Antikörper in Tagen
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 ^a	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 ^a	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 ^a	7	10
PRB963	7	4	2	0	9	17	21 ^a	8	12
PRB966	10	5	3	2	35	44	48	9	13
PRB974 ^b	4	3	2	1	7	9	16	2	9
PRB975 ^b	5	3	1	0	7	14	14 ^a	7	7
PRB978 ^b	7	3	1	0	26	33	33 ^a	7	7
Gesamt	204	82	51	20			Mittelwert Median	5,58 7	11,16 12

^a Alle Blutproben in diesem Panel waren nicht-reaktiv für den Anti-HIV-1/2-Antikörper. Als Basis für die „Tage bis zum ersten reaktiven Ergebnis“ wurde der letzte Blutentnahmetag verwendet.

Der Anti-HIV-1/2-Antikörpertest wurde durchgeführt mit Abbot Anti-HIV 1/2, mit folgenden Ausnahmen:

^b Die Panels PRB974, PRB975 und PRB978 wurden mit dem Siemens Anti-HIV-1/2-Test getestet.

Der HIV-1 p24-Antigentest wurde durchgeführt mit Coulter HIV-1 p24 Ag, mit den folgenden Ausnahmen:

^b Die Panels PRB974, PRB975 und PRB978 wurden mit dem BioMerieux p24 Ag Test getestet.

Studie zur Serum- und Plasma-Äquivalenz

Zur Beurteilung der Äquivalenz wurden zusammengehörige Serum und Plasmasätze (25 HIV-1-positive und 25 HIV-1-negative) und 40 Proben, die mit kultiviertem HIV-1 versetzt waren (50 bis 1.000.000 Kopien/ml in HIV-1-negativem Plasma und Serum), mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Die negative Übereinstimmung betrug 100,0 % (95 %-KI: 97,0 %–100,0 %). Die positive Übereinstimmung betrug 98,4 % (95 %-KI: 95,4%–99,5%).

Reproduzierbarkeitsstudien

Reproduzierbarkeit in Plasmaproben

Die Reproduzierbarkeit des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays in Plasmaproben wurde an drei externen Standorten beurteilt. Zwei Anwender führten den Test an jedem Standort durch. Jeder Anwender führte drei Tage lang zwei Läufe pro Tag unter Verwendung von drei Reagenzchargen im Testverlauf durch. Für jeden Lauf gab es 3 Replikate jeder Panelprobe.

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Panelproben getestet, die aus HIV-1-negativem EDTA-Plasma bestanden. Die positiven Panelproben wurden erstellt, indem das negative Plasma mit kultiviertem Virus (HIV-1-Subtyp B) in Konzentrationen im linearen Bereich des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays versetzt wurde.

Tabelle 17 zeigt die Reproduzierbarkeit und Präzision der Assayergebnisse für jede positive Panelprobe zwischen Standorten, zwischen Anwendern, zwischen Chargen, zwischen Tagen, zwischen Läufen, innerhalb von Läufen und insgesamt. Unter Einbezug von ausschließlich Proben mit Ergebnissen oberhalb der unteren Quantifizierungsgrenze (LLoQ) (Proben mit Ergebnissen unterhalb der LLoQ wurden ausgeschlossen) betrug die Gesamt-SD $\leq 0,2 \log_{10}$ Kopien/ml für alle Panelproben. Unter Einbezug aller Proben mit nachweisbarer HIV-1-RNA blieben die Gesamt-SD-Werte unverändert mit Ausnahme von Panelprobe 1, die eine Gesamt-SD von $0,3 \log_{10}$ Kopien/ml aufwies.

Die Übereinstimmungswerte lagen für alle HIV-1-positiven Panelproben bei 100 %. Für die HIV-1-negative Panelprobe wurden 108 Replikate getestet und in allen 108 Replikaten wurde keine HIV-1-RNA nachgewiesen (negative Übereinstimmung = 100 %, 95 % Score-KI: 96,6 % bis 100 %).

Tabelle 17: Reproduzierbarkeit und Präzision des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays auf dem Panther System in positiven Plasma-Panelproben

Panel-	N ^a	Mittelwert Log ₁₀ Kopien/ml	Zwischen Standorten		Zwischen Anwendern		Zwischen Chargen		Zwischen Tagen		Zwischen Läufen		Innerhalb eines Laufes		Gesamt	
			SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK
1	107	1,71 ^b	0,05	2,66	0,07	4,10	0,07	4,09	0,00	0,00	0,17	9,90	0,25	14,62	0,32	18,77
	85 ^c	1,84	0,07	3,51	0,00	0,00	0,02	0,97	0,00	0,00	0,06	3,07	0,17	8,98	0,19	10,17
2	108	2,94	0,08	2,74	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	1,49	0,00	0,00	0,11	3,69	0,14	4,83
3	108	3,84	0,07	1,75	0,00	0,00	0,00	0,00	0,04	0,95	0,04	0,98	0,06	1,62	0,11	2,75
4	108	4,94	0,08	1,52	0,00	0,00	0,03	0,57	0,03	0,50	0,05	1,01	0,06	1,18	0,11	2,30
5	108	5,71	0,07	1,26	0,00	0,00	0,01	0,22	0,05	0,85	0,04	0,77	0,07	1,23	0,12	2,11
6	108 ^d	6,71	0,05	0,80	0,00	0,00	0,02	0,32	0,03	0,43	0,07	1,03	0,06	0,85	0,11	1,65

VK=Variationskoeffizient, SD=Standardabweichung

^a Anzahl der gültigen Testergebnisse mit nachweisbarer HIV-1-RNA.

^b Umfasst 22 Replikate, die als <1,47 log₁₀ Kopien/ml gemeldet wurden. Diese Probe hat einen zugewiesenen Wert von 1,176 log₁₀ Kopien/ml.

^c Anzahl der gültigen Ergebnisse innerhalb des linearen Bereichs des Assays.

^d Umfasst ein Replikat, das als >7 log₁₀ Kopien/ml gemeldet wurde. Diese Probe hat einen zugewiesenen Wert von 7,18 log₁₀ Kopien/ml.

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Das kann auftreten, wenn die durch diese Faktoren bedingte Variabilität sehr klein ist (weniger als 0,01). In diesen Fällen gelten SD und VK gleich 0.

Reproduzierbarkeit in Serumproben

Die Reproduzierbarkeit des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays in Serumproben wurde an drei externen Standorten beurteilt. Zwei Anwender führten den Test an jedem Standort durch. Jeder Anwender führte im Rahmen des Tests 5 Tage lang 1 Lauf pro Tag mit 1 Reagenzcharge aus. Für jeden Lauf gab es 3 Replikate jeder Panelprobe.

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Panelproben getestet, die mit HIV-1-negativem Serum vorbereitet wurden. Es wurden zwei positive Panelproben erstellt, indem die negative Serum-Matrix mit drei- bis fünffachen und zehnfachen LoD-Konzentrationen des kultivierten Virus (HIV-1-Subtyp B) versetzt wurde.

Tabelle 18 zeigt die Reproduzierbarkeit und Präzision der Assayergebnisse für jede positive Panelprobe zwischen Standorten, zwischen Anwendern, zwischen Tagen, zwischen Läufen, innerhalb von Läufen und insgesamt.

Die Übereinstimmungswerte lagen für alle HIV-1-positiven Panelproben bei 100 %. Für die HIV-1-negative Panelprobe wurden 90 Replikate getestet und in allen 89/90 Replikaten wurde keine HIV-1-RNA nachgewiesen (negative Übereinstimmung = 98,9 %, 95 % Score-KI: 94,0 % bis 99,8 %).

Tabelle 18: Reproduzierbarkeit und Präzision des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays auf dem Panther System in positiven Serum-Panelproben

Panel-	N	Log ₁₀ Kopien/ ml im Durchschnitt	Zwischen Standorten		Zwischen Anwendern		Zwischen Tagen		Zwischen Läufen		Innerhalb eines Laufes		Gesamt	
			SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK	SD	% VK
1	90	1,34	0,07	5,41	0,00	0,00	0,04	2,63	0,00	0,00	0,22	16,26	0,23	17,34
2	89	1,95	0,05	2,41	0,02	0,97	0,00	0,00	0,00	0,00	0,19	9,67	0,20	10,01

VK=log-normaler Variationskoeffizient, SD=Standardabweichung (log₁₀ Kopien/ml).

Hinweis: Die Variabilität von einigen Faktoren kann numerisch negativ sein. Dies kann auftreten, wenn die Variabilität aufgrund solcher Faktoren sehr gering ist. In diesen Fällen gelten SD und VK gleich 0,00.

Klinische Leistungsdaten

Validierung der Viruslast-Quantifizierung

Die Quantifizierung von HIV-1-RNA wurde zwischen dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay und einem Vergleichsassay verglichen. Die Studie umfasste Tests von klinischen EDTA-Plasmaproben (frisch oder gefroren gelagert) und künstlichen Proben (mit kultiviertem Virus versetzte, negative klinische Plasmaproben). Jede Probe wurde zweimal mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay und dem Vergleichsassay getestet. Die Tests mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay wurden an drei externen Standorten durchgeführt und an jedem Standort wurden drei Reagenzien-Kit-Chargen verwendet; die Tests mit dem Vergleichsassay wurden in einem externen Labor durchgeführt.

Es wurden 628 zusammengehörige Probensets (innerhalb des linearen Bereichs beider Assays) mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay und dem Vergleichsassay getestet, die aus den Proben von 484 aufgenommenen Probanden und 144 künstlichen Proben erstellt wurden. Abb. 8 zeigt die Ergebnisse der Deming-Regression ($y = -0,03 + 1,04x$).

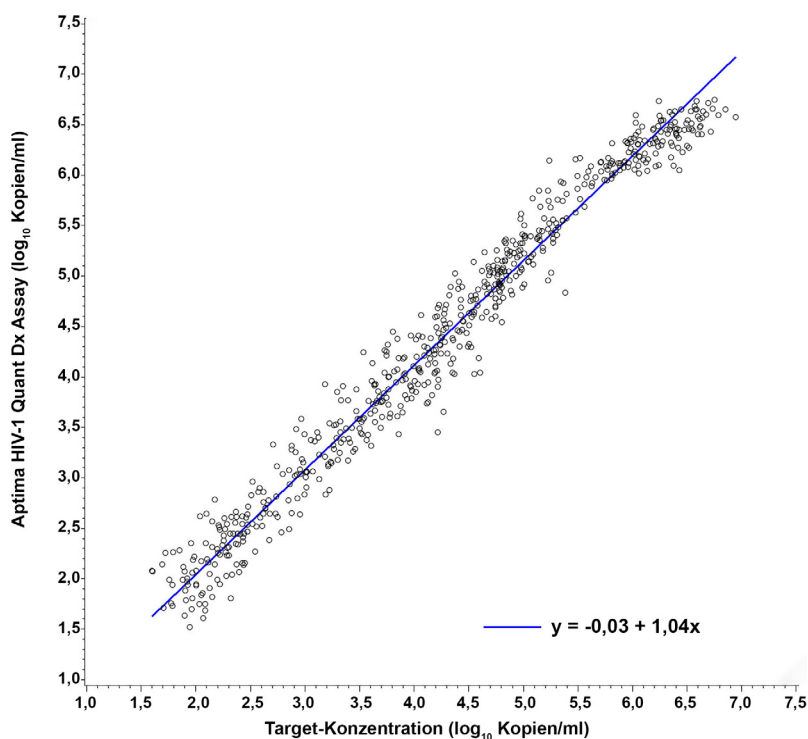


Abb. 8. Korrelation zwischen dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay und einem Vergleichsassay

Studien zur klinischen Spezifität

Klinische Spezifität bei HIV-1-negativen Proben

Zuvor eingefrorene HIV-1-negative EDTA-Plasmaproben, die freiwilligen Vollblutspendern entnommen wurden, wurden mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Die Tests wurden mit drei Reagenzien-Kit-Chargen an drei externen Standorten durchgeführt. Die klinische Spezifität wurde als Prozentsatz der HIV-1-negativen Proben mit einem Ergebnis „Nicht nachgewiesen“ berechnet. Sechshundert (600) HIV-1-negative Plasmaproben wurden getestet und bei keiner der 600 Proben wurde HIV-1-RNA nachgewiesen. Die Spezifität in negativen Plasmaproben betrug 100 % (600/600, 95%-Score-KI: 99,4 % bis 100 %).

Klinische Spezifität bei einer Population mit niedrigem Risiko

Es wurden zuvor eingefrorene Proben von erstmaligen Blutspendern und Nicht-Blutspendern mit niedrigem Risiko für eine HIV-1-Infektion mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Die Tests wurden mit einer Reagenzien-Kit-Charge an einem externen Standort durchgeführt. Die klinische Spezifität wurde durch den Vergleich der Ergebnisse des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays mit NAT-Assayergebnissen berechnet.

Tabelle 19 zeigt die Spezifität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei einer Population mit niedrigem Risiko nach Probentyp.

Tabelle 19: Klinische Spezifität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei einer Population mit niedrigem Risiko nach Probentyp

Probentyp	n	TP	FP	TN	FN	Spezifität in % (95 %-KI) ^a
Alle	911	4	3	902	2	99,7 (99,0, 99,9)
Serum	304	1	2 ^b	300	1	99,3 (97,6, 99,9)
Plasma	607	3	1	602	1	99,8 (99,1, 100)

KI = Konfidenzintervall, FN = falsch negativ, FP = falsch positiv, TN = echt negativ, TP = echt positiv.

^a Clopper-Pearson-KI.

^b 1 von 2 Serumproben mit falsch-positiven Ergebnissen war beim Test mit einem HIV-1/HIV-2-Antigen/Antikörper-Kombinations-Immunassay der 4. Generation positiv.

Studien zur klinischen Sensitivität

Klinische Sensitivität bei HIV-1-positiven Proben

Es wurden zuvor eingefrorene HIV-1-positive Proben mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Die Tests wurden mit zwei Reagenzien-Kit-Chargen an drei Standorten einschließlich zwei externen Standorten durchgeführt.

Tabelle 20 zeigt die Sensitivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei positiven Proben nach Probentyp.

Tabelle 20: Klinische Sensitivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei HIV-1-positiven Proben nach Probentyp

Probentyp	n	TP	FN	Sensitivität in % (95 %-KI) ^a
Alle	1572	1565	7	99,6 (99,1, 99,8)
Serum	524	520	4	99,2 (98,1, 99,8)
Plasma	1048	1045	3	99,7 (99,2, 99,9)

KI=Konfidenzintervall, FN= falsch negativ, TP= echt positiv.

^a Clopper-Pearson-KI.

Klinische Sensitivität bei einer Population mit hohem Risiko

Es wurden prospektiv entnommene Proben von Personen mit hohem Risiko für eine HIV-1-Infektion mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Die Tests wurden mit einer Reagenzien-Kit-Charge an drei Standorten einschließlich zwei externen Standorten durchgeführt. Die klinische Sensitivität wurde durch den Vergleich der Ergebnisse des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays mit NAT-Assayergebnissen berechnet.

Von den 498 beurteilbaren Proben waren 332 Plasmaproben und 166 waren Serumproben. Die klinische Sensitivität betrug 100 % (1/1, 95 %-KI: 20,7 % bis 100 %) in Serumproben. Die Sensitivität konnte nicht mit Plasmaproben beurteilt werden, da keine Proben mit positiven oder falsch-negativen Assayergebnissen beobachtet wurden.

Positivität bei serodiskordanten Proben

Es wurden zuvor eingefrorene serodiskordante Proben (d. h. wiederholt reaktiv in einem ersten HIV-Immunassay und unbestimmt oder negativ in einem ergänzenden Immunassay), die Blutspendern und Nicht-Blutspendern entnommen wurden, mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet. Von den 473 beurteilbaren Proben wurden 76 aus Serokonversionspanels ausgewählt. Die Tests wurden mit zwei Reagenzien-Kit-Chargen an einem internen Standort durchgeführt. Die Positivität wurde für serodiskordante Proben berechnet, die mit dem Aptima HIV-1 Quant Dx Assay getestet wurden.

Tabelle 21 zeigt die Positivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays bei serodiskordanten Proben nach Probengruppe, ergänzendem HIV-Testtyp und dem Ergebnis des ergänzenden HIV-Tests.

Tabelle 21: Positivität des Aptima HIV-1 Quant Dx Assays in serodiskordanten Proben

Ergänzend Testtyp	Ergänzend Testergebnis	Positivität in % (n/N) 95 %-KI ^a		
		Nicht Serokonversion Panelgruppe		Serokonversion Panelgruppe
		3. Gen	4. Gen	4. Gen
HIV-1/2-immunchromatographisch	Negativ	K.A.	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (6/6) 61,0–100
HIV-1/2-immunchromatographisch	Unbestimmt	K.A.	100 (1/1) 20,7–100	100 (1/1) 20,7–100
HIV-1/2 schnell	Negativ	K.A.	0,0 (0/11) 0,0–25,9	100 (24/24) 86,2–100
HIV-1/2 schnell	Unbestimmt	K.A.	0,0 (0/2) 0,0–65,8	K.A.
HIV-1 WB oder IFA	Negativ	0,4 (1/239) 0,1–2,3	100 (4/4) 51,0–100	100 (35/35) 90,1–100
HIV-1 WB oder IFA	Unbestimmt	0,0 (0/128) 0,0–2,9	100 (1/1) 20,7–100	100 (10/10) 72,2–100

3. Gen=Immunassay der dritten Generation, 4. Gen=Immunassay der vierten Generation, KI=Konfidenzintervall, IFA=Indirekter Immunofluoreszenz-Assay, K.A.=keine Angabe, WB=Western blot.

^a Score-KI.

Literatur

1. Barre-Sinoussi, F., J. C. Chermann, F. Rey, M. T. Nugeyre, S. Chamaret, J. Gruest, C. Daugey, C. Axler-Blin, F. Vezinet-Brun, C. Rouzioux, 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. Daugey, 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. DeCock, K.M., Jaffe, H.W., Curran, J.W. The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS*, 2012.
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*, 2nd 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. **Gill, P. and Ghaemi, A.** 2008. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* **27**(3):224–43.
32. **Hill, C.** 2001. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. *Expert Reve. Mol. Diagn.* **1**(4): 445–455.
33. **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.
34. **29 CFR Part 1910.1030.** Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens; aktuell gültige Fassung.
35. **Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health.** Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL); aktuell gültige Fassung.
36. **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** 2002. *Clinical Laboratory Waste Management.* CLSI Document GP5-A2. Villanova, PA.
37. **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.
38. **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.

Kontaktinformationen und Änderungsprotokoll



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



Hologic BV
Da Vincilaan 5
1930 Zaventem
Belgium

Australischer Sponsor
Hologic (Australia &
New Zealand) Pty Ltd.
Macquarie Park NSW 2113

Die E-Mail-Adresse und Telefonnummer des länderspezifischen technischen Supports und Kundendienstes finden Sie unter www.hologic.com/support.

Schwerwiegende Vorkommnisse im Zusammenhang mit dem Produkt in der Europäischen Union sollten dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Hologic, Aptima, Panther, Panther Fusion und die zugehörigen Logos sind Marken oder eingetragene Marken von Hologic, Inc. und/oder seinen Tochterunternehmen in den USA und/oder anderen Ländern.

Armored RNA ist eine Marke der Asuragen, Inc.

Alle anderen Marken, die möglicherweise in dieser Packungsbeilage erwähnt werden, gehören dem jeweiligen Eigentümer.

Dieses Produkt kann unter einem oder mehreren US-Patent(en) geschützt sein, zu finden unter www.hologic.com/patents.

© 2020–2025 Hologic, Inc. Alle Rechte vorbehalten.

AW-28214-801 Rev. 002

2025-10

Änderungsprotokoll	Datum	Beschreibung
AW-28214-801 Rev. 001	April 2025	• Erstveröffentlichung zur Erfüllung der IVDR-Anforderungen.
AW-28214-801 Rev. 002	Oktober 2025	• Diese Version stimmt mit AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003 überein (This version aligns with AW-28214-001 Rev. 002 & Rev. 003)